ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

katedra

Studium faktorů ovlivňujících minerální složení kozího a ovčího mléka

.....

doktorská disertační práce

Autor: **Mgr. Lenka Rozenská**

Školitel: **doc. Ing. Alena Hejtmánková, CSc.**

Praha 2 0 1 3

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem dizertační práci na téma „Studium faktorů ovlivňujících minerální složení kozího a ovčího mléka“ vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

V Praze dne 27. 5. 2013

Poděkování:

Děkuji paní doc. Ing. Aleně Hejtmánkové CSc. za odborné vedení při zpracování dizertační práce, paní Ing. Daniele Miholové, CSc. a paní Ing. Daně Kolihové, CSc. za pomoc při měření a za informace o technické stránce výzkumu a všem členům katedry chemie za příjemné prostředí.

Také bych chtěla poděkovat svému manželovi Antonimu za pomoc s programem R a s formátováním práce a svým rodičům za všestrannou podporu.

Obsah

1 ÚVOD 7
2 LITERÁRNÍ REŠERŠE 9
2.1 Mléko 9
2.1.1 Složení mléka 11
2.1.2 Kozí mléko 12
2.1.3 Ovčí mléko 14
2.1.4 Porovnání základního složení různých druhů mléka 15
2.2 Minerální látky 17
2.2.1 Selen 18
2.2.2 Jód 21
2.2.3 Zinek 24
2.2.4 Vápník 25
2.2.5 Hořčík 26
2.2.6 Měď 27
2.2.7 Interakce minerálních látek 27
2.2.8 Minerální látky v kozím a ovčím mléce 30
2.2.9 Porovnání minerálního složení různých druhů mlék 32
2.3 Faktory ovlivňující minerální složení mléka 37
2.3.1 Vliv ročního období 38
2.3.2 Používání jodových dezinfekčních prostředků 39
2.3.3 Specifické podmínky jednotlivých roků 39
2.3.4 Plemeno 40
2.3.5 Fáze laktace 40
2.3.6 Způsob chovu, dojení, počet mláďat ve vrhu a věk 42
2.3.7 Zdravotní stav zvířat 42
2.3.8 Přítomnost strumigenních látek v krmivu 42
2.3.9 Suplementace 43
2.4 Specifika chovu koz a ovcí v ČR a ve světě 47
2.4.1 Chov koz 48
2.4.2 Chov ovcí 50
3 HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE 53
4 MATERIÁL A METODY 55

4.1 Vzorky mléka ... 55
4.1.1 Způsob odběru vzorků ... 59
4.2 Statistické zhodnocení ... 59
4.3 Stanovení zinku, vápníku a hořčíku ... 60
4.3.1 Princip plamenové AAS ... 60
4.3.2 Příprava vzorků k analýze ... 60
4.3.3 Podmínky stanovení zinku ... 61
4.3.4 Podmínky stanovení vápníku a hořčík ... 61
4.4 Stanovení selenu ... 62
4.4.1 Princip hydridové techniky ... 62
4.4.2 Příprava vzorků k analýze ... 63
4.4.3 Vlastní měření selenu ... 64
4.5 Stanovení mědi ... 64
4.5.1 Princip ETA-AAS ... 64
4.5.2 Vlastní stanovení mědi ... 65
4.6 Stanovení rtuti ... 66
4.7 Stanovení jódu ... 66
4.7.1 Příprava vzorků k analýze a podmínky stanovení ... 67
4.7.2 Podmínky stanovení jódu metodou HPLC s elektrochemickým detektorem ... 67
5 VÝSLEDKY A DISKUZE ... 69
5.1 Analýza referenčních materiálů ... 69
5.2 Pokus č.1: Obsahy selenu a jódu ovčím a kozím mléce ... 70
5.2.1 Monitoring obsah jódu a selenu v ovčím mléce ... 70
5.2.2 Monitoring obsah jódu a selenu v kozím mléce ... 71
5.2.3 Porovnání kvality ovčího a kozího mléka z hlediska obsahu jódu a selenu ... 73
5.2.4 Korelace mezi selenem a jódem v ovčím a kozím mléce ... 74
5.2.5 Vliv ročního období a fáze laktace na obsah minerálních látek ... 75
5.2.6 Porovnání hladin jódu v kozím a ovčím mléce v chovech na stejné ekofarmě ... 76
5.3 Distribuce sledovaných prvků v mléce ... 77
5.3.1 Distribuce sledovaných prvků v ovčím mléce ... 77
5.3.2 Distribuce sledovaných prvků v kozím mléce ... 79
5.4 Pokus č.2: Vliv koncentrace Se a I v suplementu na hladiny selenu a jódu v kozím mléce ... 83
5.4.1 Porovnání hladin selenu a jódu v mléce s jejich koncentrací v suplementu ... 83
5.4.2 Vliv plemene a rodové linie na obsah selenu a jódu ... 84

5.5 Pokus č. 3: Vliv intenzivního a extenzivního systému chovu na minerální složení kozího mléka 85
5.5.1 Průměrné hladiny vybraných minerálních látek v mléce 85
5.5.2 Porovnání hladin minerálních prvků v mléce s dostupným minerálním lizem 88
5.5.3 Vzájemné vztahy mezi minerálními prvky přítomnými v mléce 88
5.5.4 Rozdíly mezi laktačními fázemi 89
5.5.5 Vliv roku narození koz (pořadí laktace) 91
5.6 Pokus č.4: Vliv přídavku řasy *Chlorelly* do krmné dávky na minerální složení kozího mléka . 93
5.7 Pokus č. 5: Obsah selenu a jódu v bio kravském mléce 97
6 ZÁVĚR 99
7 LITERATURA 101
8 PŘÍLOHY 116

1 ÚVOD

Mléko a mléčné výrobky se v různých formách konzumují téměř všude na světě. Roční světová produkce činí zhruba 600 milionů tun mléka. V Evropě je nejrozšířenější mléko kravské, které tvoří zhruba 85 % veškeré produkce. V mnohem menší míře je zastoupené mléko kozí a ovčí.

Mléko obsahuje všechny základní živiny a celou řadu látek, které jsou pro lidský organismus důležité, a navíc je obsahuje v organismem snadno přijatelné formě. Mléko je důležité zvláště pro děti, které jsou na něm v počátečních obdobích svého života závislé. Zároveň jeho konzumace může způsobovat některým jedincům problémy, z nichž nejčastější je alergie na mléčné bílkoviny a laktózová intolerance, způsobená neschopností organismu štěpit mléčný cukr.

Kozí a ovčí mléko slouží jako alternativní zdroje mléka nejen z důvodu obohacení jídelníčku, ale mohou také řešit problém alergie na kravské mléko. Bílkoviny kozího a ovčího mléka mají odlišné zastoupení složení než v mléce kravském a často jsou jedinci alergickými na kravské mléko bez potíží přijímány. Někdy se mylně uvádí, že má ovčí i kozí mléko význam při laktózové intoleranci, ale v tomto případě není alternace kravského mléka nic platná, protože laktóza je obsažena v mléce jakéhokoliv původu. Pozitivně mohou působit při laktózové intoleranci zákysy a jogurty z kozího a ovčího mléka, neboť při fermentaci množství laktózy klesá.

Mléko je vedle hlavních složek a živin také významným zdrojem minerálních látek. Obsahuje ve velké míře prvky jako vápník, hořčík a fosfor a také celou řadu stopových prvků, jako železo, zinek, mangan, měď, selen a jód. Mléko je považováno za cenný zdroj selenu a jódu ve výživě obyvatelstva, neboť jejich přirozené zdroje jsou velmi omezené.

Problematika selenu prodělala od padesátých let, kdy byl ještě považován za prvek toxický, velký vývoj. Selen je v lidském organismu nezbytným prvkem, je součástí mnoha enzymů a hormonů. Jód je důležitý hlavně pro správné fungování štítné žlázy. Jeho nedostatek může způsobit nevratné poškození mozkových funkcí a důsledky jsou zvláště závažné v prenatálním období a dětství.

Vzhledem k tomu, že půdy v České republice jsou na selen i jód chudé, oba prvky se dostávají absorpcí rostlinami do potravního řetězce jen v omezené míře. Proto se stalo běžnou praxí poskytovat zvířatům suplementy s obsahem minerálních látek. Díky suplementaci je organismus zvířat lépe saturován minerálními prvky a část jich také přechází do mléka, které

se tak stává cennějším v lidské výživě. Proto je na místě znát zastoupení těchto prvků v kozím a ovčím mléce, aby bylo možné posoudit, zda v podmínkách ČR jsou tato mléka skutečně dobrými zdroji selenu a jodu.

Kravské mléko z důvodu jeho naprosto převažujícího postavení na trhu bylo již mnohokrát analyzováno. Naproti tomu studií o minerálním složení kozího a ovčího mléka je výrazně méně a navíc se různí. Počet studií, zabývajících se stanovením selenu a jódu v kozím a ovčím mléce je velmi nízký, a to nejen v ČR, ale v celé Evropě i světě.

Předkládaná práce je zaměřena na problematiku stanovení vybraných minerálních prvků: selenu, jódu a okrajově i zinku, mědi, vápníku, hořčíku, a rizikové rtuti v kozím a ovčím mléce. Cílem práce je monitoring stavu vybraných sledovaných prvků v mléce z různých farem v České republice. Dále jsou posuzovány faktory, které mohou mít vliv na hladiny minerálních látek v mléce, se zvláštním zřetelem k selenu a jódu. V úvahu je brán zvláště vliv případné suplementace, rozdíly ve způsobech chovu, fáze laktace a roční období, plemeno a rodová linie. Pozornost byla také věnována zastoupení minerálních látek v syrovátkové frakci mléka.

Dílčím cílem práce bylo také optimalizovat a validovat mikrovlnnou mineralizaci mléka jako způsob rozkladu vzorků pro atomovou absorpční spektrometrii (AAS) a vyvinutí metodiky pro stanovení selenu v mléce.

Význam práce spočívá v posouzení možnosti využití kozího a ovčího mléka jako substituentu kravského mléka a jejich vhodnosti jako zdroje vybraných makroprvků, mikroprvků a stopových prvků, se zvláštním zřetelem k jódu a selenu v lidské výživě.

2 LITERÁRNÍ REŠERŠE

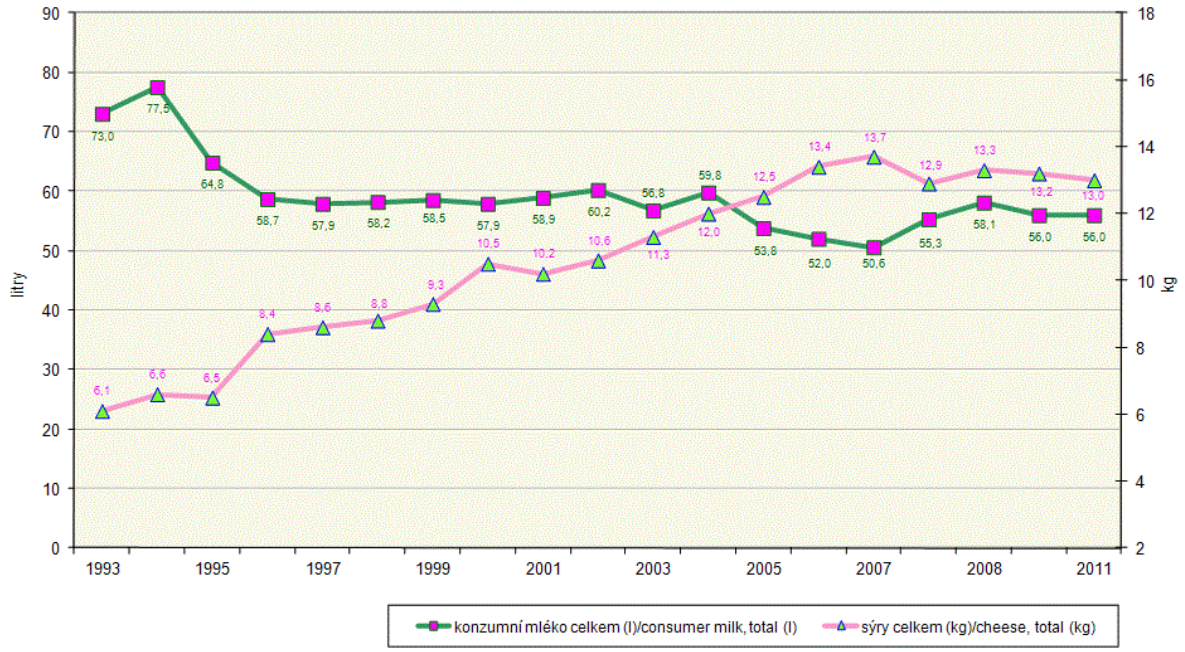
2.1 Mléko

Mléko pochází z mléčné žlázy samic savců a slouží k výživě mláďat. O významu mléka v lidské výživě není pochyb. Mléko má roli nutriční, ochrannou a detoxikační. V prvních fázích vývoje savců se jedná o jediný zdroj výživy. Kombinace všech tří základních živin obsažená v mléce, tedy tuků, cukrů a bílkovin, dokáže pokrýt všechny nutriční potřeby v raných fázích vývoje.

Mléko zvířat se v lidské výživě objevilo již v pravěku. Pro jeho získání bylo nutné domestikovat divoce žijící zvířata, která byla také využívána jako zdroj masa, kůží a kožešin a dalších živočišných produktů. Kozy a ovce patří mezi jedna z prvních domestikovaných zvířat. Domestikace je datována do mladší doby kamenné (Anděl et al., 2010).

Haenlein (2007) lokalizuje počátky domestikace ovcí a koz do oblasti dnešního Íránu, Iráku, Sýrie a východního Turecka. Od té doby byly vyšlechtěny stovky různých plemen, původně mléčných, později kombinovaných, masných a kožešinových, i plemen specificky odolných vůči různým onemocněním.

V současnosti je mléko denně konzumováno miliony lidí po celém světě. Roční produkce je přibližně 600 milionů tun a stále roste. Většina mléka je zpracovávána na zakysané mléčné výrobky a sýry.



Obrázek 1: *Spotřeba mléka a sýrů (na obyvatele za rok v letech 1993-2011 (převzato z webu Českého statistického úřadu)*

Podle informací z Českého statistického úřadu byla v roce 2010 spotřeba mléka a mléčných výrobků (bez másla) 236,9 litrů na obyvatele za rok (novější údaje zatím nejsou k dispozici). Spotřeba konzumního mléka a sýrů je v posledních letech poměrně stabilní (obr 1). V časopisu Potravinářské komory ČR se lze dočíst o tom, že spotřeba mléka v České republice je mnohem nižší než ve většině Evropy a třetina Čechů mléko navíc nikdy nekonzumuje.

Detailní statistika průměrné roční spotřeby mléka a mléčných výrobků v letech 2000 až 2011 je uvedena v tabulce 1.

MLÉKO, MLÉČNÉ VÝROBKY		**2000**	**2001**	**2002**	**2003**	**2004**	**2005**	**2006**	**2007**	**2008**	**2009**	**2010**	**2011**
Mléko a mléčné výrobky v hodnotě mléka (bez másla)	kg	214,1	215,1	220,6	223,4	230,0	238,3	239,4	244,6	242,7	249.7	244.0	.
	l	207,9	208,8	214,2	216,9	223,3	231,4	232,4	237,5	235,6	242.4	236.9	.
kravské mléko	kg	214,0	215,0	220,5	223,3	229,9	238,2	239,3	244,5	242,6	249.6	243.9	.
	l	207,8	208,7	214,1	216,8	223,2	231,3	232,3	237,4	235,5	242.3	236.8	.
kozí mléko	kg	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0.1	0.1	.
	l	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0.1	0.1	.
Mléko konzumní celkem	kg	59,6	60,7	62	58,5	61,6	55,4	53,6	52,1	57,0	59.8	57.7	**57.7**
	l	57,9	58,9	60,2	56,8	59,8	53,8	52,0	50,6	55,3	58.1	56.0	**56.0**
kravské mléko	kg	59,5	60,6	61,9	58,4	61,5	55,3	53,5	52,0	56,9	59.7	57.6	**57.6**
	l	57,8	58,8	60,1	56,7	59,7	53,7	51,9	50,5	55,2	58.0	55.9	**55.9**
kozí mléko	kg	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0.1	0.1	**0.1**
	l	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0.1	0.1	**0.1**
Sýry celkem	kg	10,5	10,2	10,6	11,3	12,0	12,5	13,4	13,7	12,9	13.3	13.2	**13.0**
tavené sýry	kg	2,9	2,9	2,6	2,6	2,6	2,4	2,6	2,6	2,4	2.4	2.1	**2.1**
přírodní sýry	kg	7,4	7,2	7,9	8,7	9,4	10,1	10,8	11,1	10,5	10.9	11.0	**10.9**
tvrdé	kg	4,7	4,5	5,0	5,4	5,7	6,0	6,6	6,8	6,6	6.8	6.6	.
měkké	kg	1,6	1,5	1,7	2,0	2,1	2,4	2,6	2,7	2,3	2.4	2.7	.
plísňové	kg	1,1	1,2	1,2	1,3	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1.7	1.8	.
ostatní sýry	kg	0,2	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0.0	0.0	**0.0**

Tabulka 1: *Průměrná roční spotřeba mléka a mléčných výrobků na 1 obyvatele v ČR v 8 letech 2000-2011(převzato z webu Českého statistického úřadu).*

Druhy konzumovaného mléka se liší podle oblasti. V ČR i ve světě je majoritní produkce kravského mléka a tomu odpovídá i úroveň výzkumu a publikací věnovaných právě kravskému mléku. Výrazně menšího zastoupení ve spotřebě dosahuje mléko kozí a ovčí. Michaelidou (2008) vidí velký potenciál k využití kozího a ovčího mléka ve vývoji snadno stravitelných kozích a ovčích mléčných produktů pro konzumenty se speciálními potřebami, jako jsou kojenci, sportovci a starší lidé. Kozí a ovčí mléko je také možno využít při specifických zdravotních potížích jako vhodná dieta.

Ke shromažďování a sdílení informací o výzkumu ovcí a koz bylo založeno několik světových institucí, např. International Goat Association (IGA) nebo International Dairy Federation (IDF). Speciálně kozímu a ovčímu mléku je také věnován časopis Small Ruminant Research.

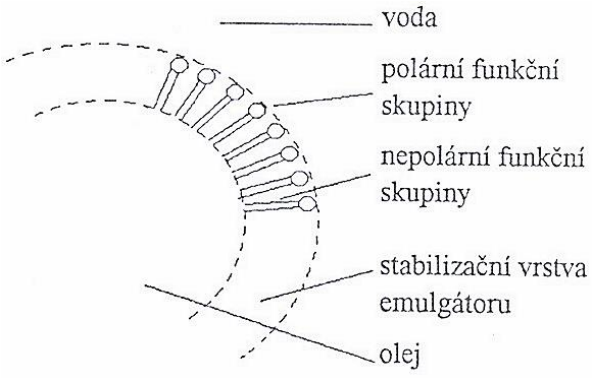
2.1.1 **Složení mléka**

Mléko je emulze rozptýleného tuku a bílkovin ve vodě (obr. 2). Při hrubém rozdělení lze v mléce rozlišit tři hlavní složky: vodu, sušinu a plyny (Velíšek, 1999).

Voda se v mléce vyskytuje z 80-91 %. Sušina zahrnuje všechny ostatní složky mléka - mléčný tuk, sacharidy (především laktóza), proteiny, lipoproteiny, volné aminokyseliny, enzymy, vitamíny a minerální látky (Odstrčil a Odstrčilová, 2006).

Plyny jsou zastoupeny kyslíkem, dusíkem a oxidem uhličitým. Energetická hodnota polotučného mléka je 2,09 $kJ.ml^{-1}$ (Velíšek, 1999).

Sušina mléka obsahuje řadu významných, jinak obtížně dosažitelných látek. Z nutričního hlediska se jedná zejména o mléčné bílkoviny, především o syrovátkové bílkoviny a kasein (Turek, 2000).



Obrázek 2: *Mléko jako emulze typu olej ve vodě (Velíšek, 1999)*

Kasein je fosfoprotein, tvořený polypeptidovými řetězci, obsahujícími fosfoserinové zbytky. Díky nim jsou molekuly polární. Kasein se v mléce vyskytuje ve formě komplexů či micel. Nepolární části molekul jsou orientovány do centra micely, kde se uplatňují hydrofóbní reakce. Polární části molekul interagují s vápenatými ionty a s vodou (Odstrčil a Odstrčilová, 2006).

Mléčné bílkoviny jsou vysoce biologicky hodnotné. Obsah bílkovin v kravském mléce činí v průměru 3,4 % (z toho 2,8 % kasein, 0,5 % albumin, 0,1 % globulin). Kasein, kterého je nejvíce, vykazuje u lidí ochrannou funkci pro jaterní buňky a ovlivňuje značně růstovou aktivitu. Byl podezříván z podílu na zvýšení rizika nemocí srdce a cév u člověka, ale šlo o nepřesný výklad výsledků získaných v pokusech na králících krmených neobvykle vysokými dávkami kaseinu. Na člověka takové účinky kasein nemá díky jiným procesům při trávení ve srovnání s králíkem (Turek, 2000).

Po vysrážení kaseinu z mléka zůstane syrovátka. Asi z 50 % je to globulární protein. Dále se v ní vyskytují vysokomolekulární globulární glykoproteiny imunoglobuliny, které

mají účinnost protilátek. Asi 30 % syrovátky tvoří α-laktalbumin, který je součástí některých enzymů. V menším množství je zastoupený sérový albumin, β-laktoglobulin a nízkomolekulární proteiny (Odstrčil a Odstrčilová, 2006).

Mléko obsahuje průměrně 3,2 % bílkovin. Bílkoviny v mléce, společně se zinkem a lysozymem se podílejí na zvýšení imunitních reakcí organismu. V mléce se vyskytují také polypeptidy a malé množství nukleotidů, které mají obdobné účinky (Turek, 2000).

Kravské mléko obsahuje v průměru 3,8 % tuku. V mléčném tuku jsou ve větší míře zastoupeny nasycené mastné kyseliny (60 %) a v menší míře kyseliny nenasycené. Z nenasycených mastných kyselin se nejčastěji objevují kyselina olejová, linolová, palmitoolejová, myristoolejová a linolenová (Hejtmánková et al., 2009).

Obsah laktózy v kravském mléce se pohybuje mezi 4,6 - 4,8 % podle různých autorů. Laktóza je hlavní součástí syrovátkové sušiny a je to disacharid složený z jedné molekuly glukózy a jedné molekuly sacharózy. Ve vodných roztocích se vyskytuje ve formě α a β (Legarová, 2011).

Kravské mléko má ve srovnání s mateřským více proteinů (zvláště kaseinu, ale i o něco více syrovátkových), méně cukrů a znatelně méně minerálních látek.

2.1.2 **Kozí mléko**

Haenlein (2004) uvádí následující tři hlavní přednosti kozího mléka a jeho produktů.
1) kozí mléko ve srovnání s kravským mlékem slouží jako potrava pro větší počet hladovějících a podvyživených lidí v rozvojových zemích.
2) kozí mléko může sloužit jako náhražka mléka kravského pro lidi s alergiemi a onemocněními trávicího traktu
3) kozí mléko je gastronomickou specialitou v rozvinutých zemích, zvláště ve Francii.

Morand-Fehr (2004) popisuje příčiny zajímavého trendu vedoucího k vyšší spotřebě produktů z kozího mléka. Podle tohoto autora obyvatelé severnějších evropských zemí často jezdí trávit své dovolené ke Středozemnímu moři, kde se běžně s produkty kozího mléka setkávají. Po návratu se snaží najít a konzumovat ty samé kozí produkty, které jim evokují zážitky z dovolené.

Kozí mléko je biologicky cenným nápojem, který obsahuje minerální soli, vápník, hořčík, sodík, draslík a fosfor, soli stopových prvků: mědi, zinku, manganu, titanu, chrómu a kobaltu, vitamíny A, B1, B2, B12, C, D, E a kyselinu listovou. V kozím mléce je oproti kravskému méně vitamínu B6 a B12, ale i tak je jejich koncentrace v mléce dvakrát vyšší, než v mateřském mléce. Množství bílkovin, s výjimkou mléka plemene Anglonubijského

(Růžičková, 2012), je srovnatelné nebo nižší než v kravském mléce, avšak důležitý rozdíl spočívá v jejich složení, což je pravděpodobně důvod, proč organismus některých lidí snáší kozí mléko podstatně lépe než mléko kravské (Křivda, 2006).

Haenlein (2004) ve své publikaci shrnul poznatky jiných studií, které shodně upozorňují, že i když β-laktoglobulin byl bílkovinou podezřelou z alergennosti, protože není obsažen v lidském mléce, nenašly se ve skutečnosti žádné rozdíly v alergennosti mezi β-laktoglobulinem a kaseiny. Naopak z klinických studií vyplynulo, že nejvíce nežádoucích kožních reakcí způsobil α-laktalbumin. Obecně ale kaseinové bílkoviny způsobují alergie častěji než syrovátkové a konzumace kozího mléka vyřešila problém alergie na kravské mléko v 30-40 % případů.

Lepší stravitelnost kozího mléka je způsobena rozměry a složením tukových částic, které se podobají těm v mléku mateřském. Tuk kozího mléka je přirozeně homogenní a tím i lépe stravitelný. Kvalita kozího mléka více závisí na kvalitě krmiva, než v případě kravského mléka. Koza má totiž větší tendenci převádět do svého mléka jedy a choroboplodné organismy, které se do jejího zažívacího traktu dostanou společně s potravou. V kozím mléce je asi o 10 % méně laktózy než v mléce kravském (Křivda, 2006).

Čerstvé kozí mléko má výraznější chuť než mléko kravské nebo ovčí, což je způsobeno přítomností mastných kyselin s krátkým a středním řetězcem (C4-12) - kaprinové (C6:0), kaprylové (C8:0) a kapronové (C10:0) kyseliny (Šustová, 2009a a Jandal, 1996). Tyto mastné kyseliny získaly své pojmenování po kozách právě z důvodu jejich velké převahy v kozím mléce.

Kozí mléko má také vyšší zastoupení máselné (C4:0), laurové (C12:0), myristové (C14:0), palmitové (C16:0) a linoleové (C18:2) kyseliny, než mléko kravské, ale méně stearové (C18:0) a olejové (C18:1) kyseliny. V kozím mléce lze v porovnání s kravským také nalézt více mononenasycených a polynenasycených mastných kyselin, které jsou zvláště pro kardiovaskulární systém prospěšnější než kyseliny nasycené (Haenlein, 2004).

Čerstvé, řádně ošetřené kozí mléko je obyčejně naprosto bez výrazné chuti. Případná silná, pronikavá pachuť po kozině je zapříčiněná buď nehygienickým dojením koz, některým krmivem či špatným zpracováním a skladováním mléka (Šustová, 2009a). Přijetím hygienických zásad při dojení a výrobě sýrů je možné omezit nežádoucí projev pachů a pachuti koziny (Morand-Fehr, 2004).

Kozí mléko působí pozitivně na nervovou soustavu, jeho pravidelná konzumace vede ke snížení nervozity a stresu, posiluje imunitní systém, významně reguluje vlhkost pleti, pozitivně působí při astmatických onemocněních kůže, při onemocněních trávicího traktu a

přidružených orgánů (játra, slinivka). Diskutuje se o jeho vlivu na prevenci nádorových onemocnění (některé studie se zmiňují o tom, že organismus kozy je schopný vytvářet si na rakovinu účinné protilátky a nikdy neonemocní), i když např. Haenlein (2004) poukazuje na nedostatečný výzkum v této oblasti a občas poněkud divoká tvrzení bez potřebného vědeckého pozadí. Kozí mléko se také používá v dietě při léčbě TBC (Lužová et al., 2009).

Křivda (2006) hodnotí kozí mléko jako kvalitnější, lépe stravitelné a zdravotně prospěšnější než mléko kravské, ovšem pouze za předpokladu, že je dbáno na vysokou kvalitu krmiva.

Kozí mléko se zpracovává v převážné míře na sýry, buď čistě kozí, nebo je kozí mléko pro výrobu sýrů míchané s kravským a ovčím mlékem v různých poměrech. Mezi význačné kozí sýry s dlouhou tradicí patří například řecká feta či španělské cabrales (Šustová, 2009b). Z kozího mléka se vyrábějí i tvarohy, sladké sýry, jogurty, máslo a syrovátka. Známá a vyhledávaná je i kozí kosmetika. Kosmetologové zjistili, že některé látky obsažené v kozím mléce jsou identické se složkami detekovanými v epidermálním hydrolipidickém filmu (přirozeném ochranném filmu na povrchu zdravé pokožky). Mezi kosmetické výrobky z kozího mléka patří krémy, mýdla, pleťová i tělová mléka, masky a mnohé další (Hojerová, 2003).

2.1.3 **Ovčí mléko**

Ovčí mléko je svým složením výrazně odlišné od mlék ostatních savců. V ČR se běžně k přímému konzumu nepoužívá. Své uplatnění nachází především ve výrobě sýrů (hrudkový sýr, brynza, parenica, roquefort a další), jejichž kvalita záleží na zastoupení základních složek v mléce.

Ovčí mléko oproti kravskému má vyšší obsah bílkovin a kyseliny máselné, obsahuje CLA – konjugovanou linolovou kyselinu (dle vědeckých výzkumů zastavuje rakovinotvorné bujení) a je bohaté na vitamíny A, B1, B2, B12 a C (Štolcová et al. 2006).

Má bílou nebo slabě nažloutlou barvu. Chuť bývá příjemná, nepatrně zatrpklá, ovšem je nutné dbát na hygienu při chovu i dojení, jinak přejímá nepříjemné pachy. Ovčí mléko je velmi bohaté na sušinu, mnohem více než mléko kravské a kozí. Tukové kuličky jsou větší než v mléce kravském, přesto však ovčí mléko obtížněji vystává smetanu, neboť pro vyšší obsah bílkovin má větší viskozitu. V celkovém složení ovčího mléka mohou být rozdíly dané plemenem a také pokročilostí laktační periody (Prokš, 1964).

Struktura kaseinových micel je stejná jako u kravského a kozího mléka, ale ovčí kasein je mnohem bohatší na vápník (Park, 2007).

2.1.4 **Porovnání základního složení různých druhů mléka**

Michaelidou (2008) upozorňuje, že se současnou úrovní analytických metod, biochemického a buněčného výzkumu je zřejmé, že i malé rozdíly ve složení mléka mezi různými druhy savců mohou mít důležitý biologický význam.

Z porovnání kozího a ovčího mléka je patrné, že ovčí mléko je bohatší na sušinu, obsahuje tedy méně vody. Kozí mléko obsahuje 87 % vody a 13 % sušiny, ovčí mléko 80 % vody a 20 % sušiny (Prokš 1964). Ovčí mléko je také mnohem tučnější a obsahuje více bílkovin než mléko kozí. Mírně vyšší je ovčím mléce také obsah minerálních látek (tabulka 3).

Složka	*kravské*	*kozí*	*ovčí*	*mateřské*
Voda (%)	87,20	87,00	80,71	87,43
Proteiny celkem (%)	3,2	2,9-3,56	4,6-6,21	0,9-1,1
Kaseiny (%)	2,6	2,4-2,6	3,9-5,2	0,4
Syrovátkové proteiny (%)	0,4-0,6	0,6	0,7-0,8	0,5-0,7
Tuky (%)	3,6-3,9	3,8-4,5	7,0-7,9	3,7-4,7
Tukuprostá sušina (%)	9,0	8,68-8,9	10,33-12,0	8,9
Laktóza (%)	4,6-4,8	4,3-4,8	3,7-5,36	6,92-7,1
Minerální látky (%)	0,7	0,8-0,86	0,9	0,2
Popeloviny (%)	0,73	0,79	0,90	0,31
Vitamín A ($IU.g^{-1}$ tuku)	21,0	39,0	25,0	32,0
Vitamín B_1 (mg na 100ml)	45,0	68,0	7,0	17,0
Vitamín B_2 (mg na 100g)	0,16	0,21	0,376	0,02
Vitamín B_3 (mg na 100g)	0,08	0,27	0,416	0,17
Vitamín B_5 (mg na 100g)	0,32	0,31	0,408	0,20
Vitamín B_6 (mg na 100g)	0,042	0,046	0,08	0,011
Vitamín B_7 (µg na 100g)	2,0	1,5	0,93	0,4
Vitamín B_9 (µg na 100g)	5,0	1,0	5,0	5,5
Vitamín B_{12} (mg na 100ml)	159,0	210,0	36,0	26,0
Vitamín C (mg na 100ml)	2,0	20,0	43,0	3,6
Vitamín D ($IU.g^{-1}$ tuku)	0,7	0,7	0,18(/100g)	0,3
Kalorie na 100 ml	69	70	105	68
Cholesterol (g/kg)	0,13	0,10	-	-

Tabulka3: *Porovnání kravského, ovčího, kozího a mateřského mléka z hlediska základních složek (Jandal 1996; Odstrčil a Odstrčilová, 2006; Park et al., 2007; Pandya a Ghodke, 2007; Slacanac et al., 2010; USDA National Nutrient Database)*

Struktura micel v kozím a ovčím mléce se od kravských liší ve svém průměru, hydrataci a mineralizaci. Kaseinové micely kozího mléka obsahují více vápníku a anorganického fosforu, jsou méně rozpustné, méně tepelně stabilní a snadněji ztrácejí β-kasein než kravské micely (Park et al., 2007).

Sanz Sampelayo et al. (2007) ve svém shrnutí popisují lepší dostupnost železa, mědi, hořčíku, vápníku a fosforu z kozího mléka než z mléka kravského.

Studie Sojkové et al. (2008) porovnávající celkový obsah tuku a bílkovin v kozím, ovčím a kravském mléce také potvrdila, že mlékem nejtučnějším a zároveň nejbohatším na

bílkoviny je mléko ovčí. Celkový obsah tuku i bílkovin je v ovčím mléce téměř dvojnásobný, než v kozím a kravském. Obsahuje i více tukuprosté sušiny, kaseinu, syrovátkových proteinů a celkového množství popelovin.

Kozí mléko je mírně bohatší na tuky a mírně chudší na bílkoviny než mléko kravské. Tyto rozdíly způsobují například rychlejší srážení ovčího mléka a pevnější tvaroh (Jandal, 1996). Jandal (1996) také shrnul, že celkový obsah pevných složek v kozím mléce se pohybuje mezi 12-18 % a v ovčím mléce mezi 15-20 %. Velké rozdíly byly nalezeny v zastoupení aminokyselin kozích a ovčích proteinů a také v relativních poměrech různých proteinů a jejich genetickém polymorfismu, jejichž významným důsledkem jsou rozdíly ve stravitelnosti obou mlék. Lipidy kozího a ovčího mléka jsou velmi podobné, výjimkou je pouze vyšší zastoupení kaprinové, kaprylové a kapronové kyseliny v kozím mléce. Kozí mléko se také liší od ovčího a kravského tím, že postrádá aglutinační protein, který způsobuje shlukování tukových kapének a rychlého vyvstávání smetany.

Rozdíly ve složení kozího a kravského mléka mají za následek rozdíly v jejich fyzikálních vlastnostech. Např. kozí mléko má nižší tepelnou stabilitu, ústojná schopnost kozího mléka je vyšší než u mléka kravského. Kozí mléko má bílou barvu, která je důsledkem nepřítomnosti karotenů v tuku (Jandal, 1996).

V porovnání s kravským mlékem má kozí mléko větší množství nenasycených mastných kyselin linolové a linolenové, které mají vliv na zvýšení odolnosti organizmu proti infekčním chorobám a normalizují přeměnu cholesterolu, čímž působí proti arterioskleróze. Dále obsahuje více syrovátkových bílkovin a méně kaseinu, než mléko kravské. Kasein má hlavní vliv na výtěžnost při výrobě sýrů, proto se při výrobě kozího sýru spotřebuje více mléka (Šustová, 2009a).

Kozí mléko je mírně zásadité, na rozdíl od mléka kravského, které je mírně kyselé. To může být výhodné ve výživě lidí s potížemi s překyselením žaludku. Mírná zásaditost je způsobena vyšším podílem bílkovin a rozdílným uspořádáním fostátů (Jandal, 1996).

Rychlost sýření je nejvyšší v ovčím mléce, protože má nižší pH, větší kaseinové micely a vyšší podíl vápníku na hmotnost micely. Rychlost sýření kozího mléka je vyšší než kravského a kozí sýřenina je pro člověka stravitelnější, ale výtěžnost sýřeniny z kozího mléka je nižší (Park et al., 2007).

2.2 **Minerální látky**

Minerální látky jsou anorganické prvky a jsou nezbytné pro správné fungování organismu, zvláště pro růst kostí, osmotickou rovnováhu organismu, svalovou kontrakci a dráždivosti nervů, aktivaci enzymových komplexů, jsou součástí hormonů a buněčných struktur. Schopnost absorpce minerálů organismem závisí na jejich formě a zdroji (Ondarza, 2001).

Existuje 20 minerálů, které jsou považovány za nezbytné v lidské výživě (Cashman, 2006) a lze je rozdělit podle jejich zastoupení a potřeby organismem. Makroprvky jsou potřebné ve vyšších množstvích (gramy) – například vápník, fosfor, sodík, chloridy, draslík, hořčík a síra. Mikroprvky a stopové prvky jsou potřeba v nejmenších množstvích (mikrogramy) – například jód, železo, měď, kobalt, mangan, zinek, selen či molybden (Ondarza, 2001). Všechny tyto prvky jsou v různé míře obsaženy v mléce (Cashman, 2006).

Minerální látky jsou v mléce přítomny jednak v mléčném séru v roztoku nebo koloidní formě a jednak jsou vázány na některé organické součásti mléka. Jednotlivé formy minerálních látek jsou ve vzájemných rovnováhách mezi sebou i k ostatním složkám mléka. Existuje kupříkladu vzájemná souvislost rozpustných solí draslíku a sodíku ve vztahu k obsahu laktózy (osmotický tlak), vztah velikosti, stavu a vlastností kaseinových micel k množství vápníku, hořčíku a fosforu (Gajdůšek, 2003). Z nutričního hlediska ovlivňují minerální látky stupeň nabobtnání koloidů, regulují osmotický tlak a koncentraci vodíkových iontů. Vystupují ve funkci aktivátorů enzymů nebo jejich složek a mají rozhodující význam pro udržení acidobazické rovnováhy v organismu (Prokš, 1964).

Znalost rozdělení minerálních látek mezi rozpustné a koloidní formy je důležitá pro poznání nutričních charakteristik kozího a ovčího mléka, a také jejich transfer do tvarohu a sýřeniny (Park et al., 2007). V rozpustné formě bylo nalezeno 21 % vápníku, 56 % hořčíku a 35 % fosforu z jejich celkového obsahu v mléce. 92 % zinku v ovčím a 88 % zinku v kozím mléce bylo nalezeno v micelární frakci, podobné výsledky byly pozorovány u manganu (93 % z ovčího a 89 % z kozího mléka v micelární frakci). Distribuce železa a mědi se lišila mnohem více. Rozpustná frakce obsahovala 29 % železa v ovčím mléce a 44 % v kozím mléce. Ovčí mléko obsahovalo v rozpustné frakci více mědi (33 %) než mléko kozí (18 %). Nejlépe využitelné jsou minerální látky obsažené v rozpustné frakci mléka. Vzhledem k tomu, že kozí a ovčí mléko slouží hlavně k výrobě sýrů, dochází ke ztrátám minerálních látek obsažených v rozpustné fázi ve formě syrovátky (Fuente et al., 1997).

Koncentrace minerálních látek v krvi a mléce přežvýkavců se liší. Draslíku, vápníku a fosforu je v mléce více, ale sodíku a chlóru je v mléce méně než v krvi. Na-K pumpa reguluje K osmolaritu mezi krevní cytoplasmou a mlékem. Ca pumpa transportuje vápník z bazální membrány do cytosolu a dále na Golgiho aparát savčích alveolárních buněk, kde se podílí na výstavbě kaseinových micel. Tyto přesuny iontů, laktózy a vody mezi krví, vnitrobuněčnou alveolární tekutinou a mlékem jsou velmi důležité pro udržení osmotické rovnováhy zdravého vemene a závisí na nich mléčná výtěžnost (shrnutí Parka et al., 2007).

V České republice je v porovnání s ostatními evropskými zeměmi spíše nedostatek minerálů v půdách a podle mnoha studií mají hospodářská zvířata bez jakékoli minerální suplementace různě závažný deficit minerálních látek. Z tohoto důvodu je nutné nedostatkové minerály doplňovat do krmných dávek. Jedná se především o železo, měď, zinek, jód, selen a mangan. Jejich nedostatek může vést k vážným poruchám v metabolismu zvířat. Důležitý je nejen jejich celkový obsah, ale i jejich vzájemné poměry (Suchý et al., 2011).

Na druhé straně Ondarza (2001) varuje před překrmováním zvířat minerálními suplementy, které může rovněž vést ke zdravotním problémům. Stává se, že kombinací různých minerálních suplementů může dojít až k dosažení toxické dávky. Je proto potřeba započítávat do denní dávky všechny možné zdroje prvků, se kterými zvíře přijde do kontaktu.

Sanz Ceballos et al. (2009) připomínají, že jedním z důvodů proč je mléko považováno za tak výjimečně důležitou potravinu, je právě jeho minerální složení. Bylo by velmi těžké najít jinou potravinu, která by zajistila podobný příjem vápníku, jak v kvantitě, tak ve vztahu k fosforu.

Studií o obsahu minerálních látek v kozím a ovčím mléce není dosud mnoho, zvláště v porovnání s tím, kolik jich bylo publikováno o mléce kravském (Michaelidou, 2008). Výsledky se navíc značně liší.

2.2.1 Selen

Selen, ještě před 40 lety považován za toxický, je naopak v současnosti pokládán za esenciální stopový prvek s velkým dopadem na zdraví lidského organismu a v současnosti je předmětem rozsáhlých výzkumů. Bývá nazýván „nezbytným jedem“ – když je ho příliš mnoho, je toxický, naproti tomu jeho nedostatek je doprovázen řadou chronických „civilizačních“ onemocnění a může mít i vážné důsledky. V organismu se vyskytuje jako selenoprotein, v menší míře v podobě selenocukru. Je součástí enzymů glutathionperoxidáz, dejodáz, thioredoxin reduktáz, selenofosfátsyntetázy, selenoproteinu P a dalších, jejichž funkce zatím nebyly objasněny (Kvíčala, 2010).

Selen působí jako antioxidant blokující volné radikály, které poškozují DNA. Jako součást antioxidačního enzymu glutathion peroxidázy štěpí v buňkách vznikající peroxid vodíku na neškodnou vodu a kyslík (Spallholz et al., 1990). Později bylo zjištěno, že selen je cenný nejen pro antioxidační aktivitu glutathion peroxidázy, ale také hraje roli v imunitních funkcích a metabolismu hormonů štítné žlázy ve formě selenoproteinů (Wichtel, 1998).

Má vliv na celou řadu hormonů, zvláště hraje roli v biochemii hormonů štítné žlázy, čímž může do jisté míry ovlivňovat metabolismus jódu (Köhrle a Gärtner, 2009).

Vzájemný vztah mezi selenem a jódem vyjádřili Zimmermann a Köhrle (2002) následujícím způsobem: nedostatek selenu vede ke snížení aktivity glutathion peroxidázy ve štítné žláze, což způsobí zvýšení koncentrace peroxidu vodíku a tím snížení aktivity dalších enzymů, které mají vliv na efektivitu syntézy hormonů štítné žlázy. Štítná žláza si udržuje vysokou koncentraci selenu i při jeho nedostatečném přísunu a produkuje proteiny obsahující selenocystein. Adekvátní příjem selenu podporuje syntézu a metabolismus hormonu thyroidinu a chrání štítnou žlázu před poškozením nadměrnou expozicí jódu. U lidí postižených jodovým a selenovým deficitem je nutné nejdříve optimalizovat hladinu jódu, než se začne se zvyšováním příjmu selenu z důvodu prevence hypofunkce štítné žlázy.

Kachuee et al. (2013) shrnuli dřívější studie, které popisují metabolismus selenu. Seleničitany jsou v krvi redukovány glutathionem na selan a poté se dostávají do jater. Selen přijatý ve formě selenomethioninu se částečně také redukuje na selan a poté je využit na syntézu bioaktivního selenocysteinu, který je součástí selenoenzymů. Zbytek selenomethioninu je využit na syntézu bílkovin.

Selen je důležitý při proměně thyroidního hormonu thyroxinu (T4) na jeho aktivní formu trijodthyronin – takže jeho deficience může vést k hypothyroidismu. Existují také nízkomolekulární formy selenu, které podle posledních výzkumů mají spolu se selenoenzymy antikancerogenní účinek (Luty-Frackiewicz, 2005).

Glutathion peroxidáza byla objevena Millsem v roce 1957 v erytrocytech jako enzym, který chrání hemoglobin před oxidativním poškozením. V roce 1970 bylo zjištěno, že glutathion peroxidáza je enzym závislý na selenu. Zanedlouho poté se přišlo na to, že selenocystein (sec, 21.aminokyselina), váže polovinu selenu, obsaženého v glutathion peroxidáze. Jelikož je glutathion peroxidáza snadno aktivována v odpovědi na selen přijímaný potravou, stala se biomarkerem pro stanovení nutričního požadavku pro selen (Lei et al., 2007).

Většina české populace trpí nedostatkem selenu. Studie, probíhající v České republice a sledující stav selenu v séru 386 zdravých dobrovolníků, ukázala poměrně nízké hladiny

(0,67 ± 0,93 mmol/l). Nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi věkem, pohlavím nebo BMI indexem (Střítecká et al, 2009). Tento deficit může být způsoben vyplavením selenu z půd vlivem odtávání ledovců v postglaciální době a tím také nižším průnikem do potravního řetězce rostlinami (Zimmerman a Köhrle, 2002).

Rostliny navíc mohou přijmout jen sloučeniny selenu o jistém mocenství – selenany a seleničitany. Ty jsou při vstřebávání rostlinami konkurentem sirných sloučenin. Nejdříve jsou transportovány do chloroplastu, kde jsou přes řadu meziproduktů přeměněny na selenid a následně na selenomethionin (Ellis a Salt, 2003).

Nejvyšší koncentrace selenu jsou vedle štítné žlázy i v lymfatických buňkách, B a T buňkách a makrofázích. Dále se selen nachází ve vnitřnostech, mase a vejcích. Rostlinné zdroje selenu jsou ořechy, luštěniny a některé houby. Jako potravinový doplněk je k dispozici selen vázaný na kvasnice. Velmi nízké koncentrace selenu jsou naopak v tucích, ovoci a zelenině. Závisí ovšem také na formě, ve které se selen vyskytuje. Nejlépe využitelným je selenomethionin. Anorganické formy (např. selenan) jsou méně využitelné (Kvíčala, 2010).

Velký počet studií se zabývá antikancerogenními účinky selenu (Donaldson, 2004; Brigelius-Flohé, 2008; Yalcin et al., 2003) a jeho rolí při prevenci viróz (Christophersen a Haug, 2005; Luty-Frackiewicz, 2005). Mezi důsledky jeho nedostatku patří poškození kůže a nehtů, vypadávání vlasů, bolesti hlavy a v horších případech až edém plic (Střítecká a Hlúbik, 2007).

Optimální příjem selenu v lidské výživě se uvádí kolem 20-55 µg denně (Ošancová, 1990). Evropský úřad pro bezpečnost potravin (anglicky: European Food Safety Authority – EFSA, před rokem 2002 Vědecká komise pro potraviny, anglicky Scientific Committee on Food - SCF) se sídlem v Parmě (Itálie) navrhla 40 µg selenu denně pro muže a 30 µg pro ženy jako vhodný průměrný přísun (Brown et al., 2001). Intoxikace nastává již při příjmu 1000 µg denně a dávka vyšší než 5 $mg.kg^{-1}$ je smrtelná (Střítecká a Hlúbik, 2007).

Kozy, které byly prokazatelně Se-deficitní, měly oproti kontrolní skupině koz s optimálním příjmem selenu významně nižší mléčnou výtěžnost, problémy s reprodukcí, růstem a velmi významně nižší hladiny selenu ve všech sledovaných tkáních (játra, ledviny, žebra, krevní sérum, srst, srdce, mléko, kolostrum, plíce, slezina, slinivka) kromě mozku (Haenlein a Anke, 2011).

Nedostatek selenu v organismu vede ke svalové degeneraci přežvýkavců, zánětu hlezenních kloubů, kulhavosti, zadržení lůžka, zánětům dělohy a poruchám plodnosti (Suchý et al., 2011).

Selen v mléce

Mléko a mléčné výrobky jsou uváděné jako dobré zdroje selenu. V mléce je selen nejvíce obsažen v bílkovinné frakci, v tukové frakci jsou jen 3 %. Nejvíce selenu bylo nalezeno v mléce kozím, dále v mateřském a nejméně v kravském (Debski et al., 1987). Kachuee et al. (2013) navíc shrnuli, že zvýšení hladiny selenu se v mléce po suplementaci projeví poměrně rychle, udávají do týdne od začátku suplementace.

Allen a Miller (1980) se shodují s Debskim et al. (1987) ve tvrzení, že v tukové frakci je velice nízká koncentrace selenu. Dále uvádějí, že většina selenu se vyskytuje v syrovátkové frakci (75 %) a ve vysráženém kaseinu se nalézá 20 % selenu.

Knowles et al. (1999) uvádějí, že nejvíce selenu je v bílkovinné frakci. Ale podle nich je většina selenu vázána na kaseinovou frakci a méně je ho v syrovátce. V tuku shodně s předchozími studiemi uvádějí malé množství selenu (7 %). Selen se v mléce vyskytuje nejčastěji ve formě selenomethioninu.

Muniz et al. (2005) se zabývali pozorováním distribuce selenu mezi různé fáze mléka a nalezli nejvíce selenu v syrovátkové frakci a nejméně v tukové frakci (5-16%). Zbytek selenu byl vázán s kaseinovými micelami. Také nalezli významnou korelaci mezi obsahem selenu v syrovátce a navázaném na kaseinových micelách s celkovým obsahem selenu v mléce.

2.2.2 Jód

Jód je stopovým prvkem, nezbytným pro správný průběh mnoha metabolických funkcí v lidském organismu. Je důležitý pro hormony štítné žlázy thyroxin (T4) a trijodtyronin (T3), které se podílejí na regulaci rychlosti metabolismu. Má nezastupitelnou roli ve správném vývoji plodu a dítěte v raných obdobích života.

V organismu dospělého člověka se nachází asi 25 mg jódu, z čehož asi 8-10 mg je obsaženo ve štítné žláze a 1,5 mg v krvi a v některých dalších tkáních. Ve štítné žláze je jód uložen v koloidní podobě jako glukoprotein thyreoglobulin a odtud je dále jód uvolňován k výrobě hormonů thyroxinu a trijodthyroninu. Uvolňování těchto hormonů je řízené thyreostimulačním hormonem (TSH) z podvěsku mozkového. Trijodthyronin (T3) obsahuje 3 atomy jódu. Thyroxin obsahuje 4 atomy jódu a je ze 75 % tvořen jódem. Podporuje oxidační procesy v organismu a zvyšuje celkovou přeměnu látek. Z hlediska energetického metabolismu jde o látku, která podporuje jeho katabolickou fázi. Za běžných podmínek, kdy je příjem a výdej energie vyrovnaný, z thyroxinu vzniká T3. Při hladovění či nedostatku výživy namísto T3 vzniká rezervní trijodthyronin (rT3). Ten naopak snižuje látkovou přeměnu

a v organismu tak dochází k šetření zdrojů na zachování životně důležitých funkcí (Kajaba, 1995).

Aby štítná žláza mohla normálně plnit svoji funkci, potřebuje pravidelný přívod určitého množství jódu, které závisí na věku, pohlaví a fyziologických okolnostech. Optimální denní příjem jódu je podle různých autorů průměrně 150-200 µg. V určitých životních obdobích, například v dětství, při dospívání, v těhotenství a při kojení je větší potřeba hormonů štítné žlázy, zvyšují se nároky na její činnost, a tím je i potřeba jódu vyšší, a to až 350 µg na osobu za den (Kajaba, 1995).

Zdravotní riziko podle směrnic EU hrozí, pokud denní dávka jódu překročí limitní hodnotu 0,008-0,010 $mg.kg^{-1}$ tělesné hmotnosti (asi 600-1000 µg jódu denně), nebo je nižší než doporučený denní příjem (vyhláška MZ ČR č. 446/2004 Sb. uvádí optimální příjem 150-300 µg). Podle Ošancové (1990) by minimální denní dávka jódu neměla klesnout pod 70 µg denně.

Při nedostatečném příjmu jódu vzniká hypothyreóza neboli snížená činnost štítné žlázy. Projevuje se jejím zvětšením a změnami struktury. Při dlouhotrvajícím chronickém nedostatku jódu se vytvoří struma. Na výskytu strumy se podílejí různé faktory, mimo nízký příjem jódu hraje roli například příjem potravin s obsahem strumigenních látek (látek blokujících činnost štítné žlázy). Struma se často vyskytuje v celých oblastech, což bývá způsobeno souhrnem vnějších faktorů, které znemožňují dostatečný přísun jódu (Kajaba, 1995).

Jódování soli bylo zavedeno v roce 1947, což pozitivně ovlivnilo jódový deficit u populace ČR. Podle nejnovějších zpráv Meziresortní komise pro řešení jodového deficitu při Státním zdravotním ústavu v Praze má v Evropě nedostatečný přísun jódu polovina populace (Ryšavá a Kříž, 2010). Nejlepšími zdroji jódu jsou mořské produkty (ryby, řasy). V České Republice jsou významnými zdroji jodu mléko a mléčné výrobky zvláště pro snadnou dostupnost v dobré kvalitě.

V ČR je přívod jódu dostatečný a jódový deficit je u nás podle kritérií WHO považován za zvládnutý, k čemuž vedla nejen jodizace soli, ale také jódová suplementace krmiva dojnic a vyšší spotřeba mléka a mléčných výrobků (Zamrazil et al. 2004).

V některých případech se naopak objevuje, zvláště u dětí závislých na mléčné výživě, překročení optimálního příjmu jódu, vzhledem k obohacování dětské výživy jódem. Proto se v některých zemích EU začínají zavádět limity, vymezující maximální hranici jódu v krmivech dojnic. V České republice platí maximální limit 5 $mg.kg^{-1}$ pro obsah jódu

v krmivech (Nařízení komise ES č.1459/2005). Obsah jódu v kravském mléce by podle Kursy et al. (2005) neměl překročit 500 µg.l^{-1}.

Negativním jevem je podle mnoha autorů používání jodové dezinfekce k ošetření vemene při dojení, protože je známo, že jód se touto formou dostává i do mléka. Kajaba (1995) to naopak považuje za výhodu. V ČR se v současnosti jódová dezinfekce k ošetření vemene při dojení nepoužívá.

Ve studii Herziga et al. (1996), ve které byla zkoumána nasycenost dojnic jódem, byly stanoveny hladiny jódu v moči 672 krav v České republice. Z této studie naopak vyplynulo, že 68,9 % dojnic bylo mírně deficitních. Normální status jódu v moči byl pozorován pouze v 31,1 % případů.

Haenlein et Anke (2011) popisují studii, ve které byly srovnávány dvě skupiny koz – jedna byla silným deficitem příjmu jodu, druhá byla s normálním příjmem jódu. Kozy s jódovým deficitem měly signifikantně nižní úspěšnost inseminace, vyšší četnost úmrtí plodu, delší dobu březosti, ale největší rozdíl byl zaznamenán v hladinách jódu v mléce (39 versus 1823 mg.kg^{-1}) a v orgánech (srdce, ledviny, mozek, slinivka, játra, plíce, děloha, srst).

Jód v mléce

Vztah mezi nasyceností dojnic jódem a jeho obsahem v mléce zkoumali Mee a Rogers (1996). Stanovili, že pod koncentrací 25 µg.l^{-1} jódu v mléce je nasycenost dojnic velice nízká, mezi 25-38 µg.l^{-1} nízká a mezi 39-50 µg.l^{-1} je snížená. Ideální nasycenost dojnic jódem se projeví při 51-300 µg jódu v mléce a nad 300 µg.l^{-1} je naopak již vysoká.

Obsah jódu v kravském mléce se podle různých autorů ve světě liší a nachází se v rozsahu od 10 do 2000 µg.l^{-1}, nejčastější průměr bývá mezi 100-300 µg.l^{-1}.

V České republice byly zjištěny koncentrace jódu v kravském mléce v rozmezí 136,9-594,8 µg.l^{-1}, Třináctý et al. (2001) stanovil 594,8 ± 178,1 µg.l^{-1}, Trávníček et al. (2006) 442,5 ± 185,6 µg.l^{-1}, Hejtmánková et al. (2006) stanovila hladiny jódu v rozmezí 147- 605 µk.kg^{-1} a Paulíková et al. (2008) 136,9 ± 258,2 µg.l^{-1}.

Kursa et al. (2005) stanovili v mléce 226 krav pocházejících z farem v různých lokalitách ČR průměrně 310,4 ± 347,0 µg.l^{-1} jódu. Hluboce podlimitní stav jódu v mléce (< 20 µg·l^{-1}) zjistili u 4 % dojnic a nadlimitní stav (> 500 µg.l^{-1}) v případě 16,8 % farem.

Soriguer et al. (2011) ve své studii zjistili průměrnou hladinu jódu v kravském mléce 259 ± 58 µg.l^{-1}. Analyzováno bylo mléko z prodeje, původem od 45 různých výrobců ve Španělsku. Nejvíce jódu nalezli v odstředěném mléce (273 ± 52 µg.l^{-1}), méně v polotučném (254 ± 57 µg.l^{-1}) a nejméně v plnotučném mléce (251 ± 61 µg.l^{-1}). Dále zjistili vyšší obsah jódu v mléce dojnic, ve srovnání s obdobnou studií realizovanou před 17 lety. Potvrdili také

význam mléka jako zdroje jódu v lidské výživě dílčí studií, v níž byla prokázána závislost zvýšení obsahu jódu v lidské moči, a tím i saturace organismu jódem, na příjmu mléka.

2.2.3 **Zinek**

Zinek je stopový prvek, který se v těle vyskytuje ve formě iontů. V těle dospělého člověka je obsaženo asi 1,4-3 g zinku. Vysoké koncentrace se nacházejí především v kůži, vlasech, nehtech, očních tkáních, Langerhansových ostrůvcích, játrech, ledvinách, slezině aj. Cashman (2006) považuje kostru jako jeho největší zásobárnu, protože kosti obsahují 30 % veškerého zinku v těle.

Krev obsahuje 6-7 $mg.l^{-1}$ zinku, přičemž asi 75-88 % tohoto množství připadá na erytrocyty, 12-22 % na krevní plazmu a zbytek na leukocyty a krevní destičky. V krevní plazmě je zinek vázán především na sérový albumin. V červených krvinkách je obsažen zejména v enzymu karbonáthydratáze. Je známo více než 200 metaloenzymů, které obsahují zinek. Přítomnost zinku v jejich molekulách je nezbytná pro jejich katalytickou funkci. Jsou to např. alkoholdehydrogenáza, laktátdehydrogenáza, superoxiddismutáza, karboxypeptidáza, aldóza, RNA-polymeráza, DNA-polymeráza, reverzní transkriptáza a jiné. Dále se zinek uplatňuje při tvorbě komplexů zinek-enzym (např. glycylglycindipeptidázy, aminopeptidázy, fosfolipázy atd.) Zinek také tvoří komplexy s peptidovým hormonem pankreatu insulinem (Šantavý, 1975).

Zinek hraje důležitou roli v syntéze nukleových kyselin a při transkripci a translaci jako kofaktor některých enzymů (Cashman, 2006). U přežvýkavců se nejvíce zinku vyskytuje v játrech, ledvinách a v srsti (Haenlein a Anke, 2011).

Zinek v mléce

Zatímco selen a jód se v mléce nejvíce nacházejí v syrovátkové frakci, kovové minerální látky (např. Zn, Fe, Cu) se váží většinou na bílkoviny. Fuente et al. (1997) pozorovali rozdělení zinku mezi jednotlivé fáze v mléka a zjistili, že většina zinku se nachází v nerozpustné (koloidní) fázi, v ovčím (91,6 %) i kozím (87,5 %) mléce. Na tukovou frakci mléka je navázáno jen velice málo zinku. Kasein se zdá být hlavním ligandem vázajícím zinek v ovčím i kozím mléce. Z důvodu této distribuce autoři ve stejné studii uvádějí nižší využitelnost zinku v porovnání s mateřským mlékem. Důvodem je navázání zinku v mateřském mléce v rozpustné fázi k citrátovým a laktoferinovým molekulám, což ho činí lépe vstřebatelným střevní stěnou novorozenců.

Dostatečná denní dávka zinku pro kozy by měla být 90 $mg.kg^{-1}$ (Haenlein a Anke 2011). Pandya a Ghodke (2007) zjistili, že většina zinku se nachází v odtučněném mléce (89

%) a jen málo zinku se nachází v tukové frakci. Po vysrážení kaseinu se jen velmi malé množství zinku objevilo v syrovátce (0,6 $mg.kg^{-1}$ z celkového množství 4,6 $mg.kg^{-1}$) a velmi mnoho v tvarohu (3,5 $mg.kg^{-1}$). Pasterizace ani sterilizace plného mléka neměly žádný významný vliv na distribuci zinku mezi jednotlivými frakcemi, ale byl patrný mírný pokles zinku v rozpustné formě.

2.2.4 **Vápník**

Většina vápníku v těle se vyskytuje ve formě fosforečnanu vápenatého v kostech (99%). Další formy vápníku jsou uhličitan a fluorid vápenatý. Kromě kostí je vápník přítomen ve všech buňkách v těle, a to především jako fosforečnan vápenatý. V těle dospělého člověka je asi 1-1,5 kg vápníku a denní potřeba je přibližně 0,8-1,0 g Ca^{2+}, u těhotných a kojících žen je vyšší. Vápenaté ionty ovlivňují dráždivost svalstva, snižují prostupnost buněk a stěn kapilár, jsou nezbytné pro srážení krve a účastní se regulace glykogenolýzy ve svalu a glukoneogeneze v ledvinách a játrech (Šantavý et al., 1974).

Potřeba vápníku v lidské výživě je největší v době produkce mateřského mléka, kdy je potřebná denní dávka 300 mg vápníku. Dojnice mají denní potřeba vápníku 50 g v období gestace a minimálně 100 g v době laktace. U koz se denní potřeba vápníku zvyšuje z 3,5 g na 10,5 g v období gestace více než 30 g v období laktace. Pro ovce je toto denní zvýšení z 3 g na 6 g v období gestace a až na 19 g v období laktace (Liesegang et al., 2006).

Ve výživě přežvýkavců je vápník důležitý především v poporodním období. U dojnic znamená produkce 40 l mléka vyloučení 50-60 g Ca, což je 4x více, než je obsaženo v krvi. Nedostatek Ca může způsobit zadržení placenty a zánět dělohy. Nadbytek Ca snižuje absorpci Zn a Mn. Antagonisty vápníku jsou P, Mg, Al a Mn. Poměr vápníku a fosforu ve výživě by měl být 2:1 (Suchý et al., 2011).

Šantavý et al. (1974) shrnuli, že vápník je nejlépe vstřebatelný ve formě rozpustných solí, na což má vliv pH v tenkém střevě (za kyselé reakce jsou vápenaté soli lépe rozpustné), poměr vápníku a fosforu (při nadbytku fosfátů se vytváří nerozpustný fosforečnan vápenatý) a přítomnost látek, které resorpci vápníku zvyšují (soli žlučových kyselin, aminokyseliny, laktóza) nebo snižují (fytiny, beryllium, vyšší mastné kyseliny).

Vápník v mléce

Slacanac et al. (2010) uvádí, že mléko a mléčné produkty jsou nejlepšími zdroji vápníku v lidské výživě. Vápník je v mléce úzce vázán na kaseino-fosfo-peptidy (Michaelidou, 2008). V současnosti je mnoho potravin obohacovaných vápníkem a

maximalizace příjmu vápníku je jednou ze strategií prevence osteoporózy (Nestares et al., 2008).

Cashman (2006) ve svém shrnutí porovnal několik studií zabývajících se vlivem vápníkových suplementů na růst kostní hmoty u lidí. Zjistil, že suplementy obsahující fosforečnan vápenatý extrahovaný z mléka měl největší vliv na dlouhotrvající růst kostní hmoty, na rozdíl od pokusů, které používaly jiné zdroje vápenatých solí. Podle autora to souvisí s biologickou dostupností vápníku pro lidský organismus, která je z mléka pouze asi 30%, ale stále je vyšší než dostupnost vápníku z rostlinných zdrojů. Předpokládá se, že některé mléčné složky, jako laktóza, laktulóza, kaseino-fosfo-peptidy a konjugovaná linolová kyselina (CLA), výrazně zlepšují absorpci vápníku.

Obsah vápníku, společně s obsahem kaseinu a hodnotou pH mléka, je jedním z nejdůležitějších faktorů při formování struktury tvarohu po kyselém srážení. Při srážení destabilizované kaseinové micely s kalcium-fosfátovými vazbami formují síť, ve které se zachytává tuk a ostatní pevné částice (Park, 2007).

Fuente et al. (1997) nalezl 32,8 % z celkového obsahu vápníku v kozím mléce v rozpustné fázi. V ovčím mléce se v rozpustné fázi nachází 20,8 % vápníku.

2.2.5 **Hořčík**

Hořčík je druhý nejrozšířenější intracelulární kation v organismu. Jeho důležitost v metabolismu je dobře známá; byl identifikován jako kofaktor ve více než 300 enzymatických reakcích a je nezbytným prvkem pro metabolismus různých minerálů. Mléko a mléčné produkty obsahují velké množství vápníku a v současnosti je mnoho mléčných produktů navíc vápníkem suplementováno, což má ale nepříznivý vliv na metabolismus hořčíku, který je také spojen s mineralizací kostí. Bylo zjištěno, že kozí mléko obsahuje velká množství hořčíku, což má dobrý vliv na využití hořčíku v organismu (Nestares et al., 2008).

Doporučená denní dávka hořčíku je pro ženy 310-320 mg a pro muže 400-420 mg. Denní konzumace 200 ml mléka kryje zhruba 6 % doporučené denní dávky hořčíku (Cashman, 2006).

Dospělý člověk má v těle asi 21g hořčíku. Většina (70%) je přítomna v kostře ve formě anorganických solí a dále v nervstvu, svalstvu, červených krvinkách a játrech. Z rostlinných zdrojů se hořčík nejčastěji vstřebává v organické formě vázaný na chlorofyl a z živočišných zdrojů jako fosforečnan hořečnatý. Hořčík je nutný především pro stavbu kostí, zubů a chrupavek. Ionty hořčíku zasahují do mnoha biochemických dějů např. do

transfosforylace, oxidační fosforylace, syntézy nukleových kyselin a syntézy bílkovin (Šantavý et al., 1974).

Fuente et al. (1997) nalezl 66,4 % a 56 % z celkového obsahu hořčíku v kozím resp. ovčím mléce v rozpustné fázi.

2.2.6 **Měď**

Měď je důležitý stopový prvek, který se uplatňuje krvetvorném systému. Jeho nedostatek je spojen s anémií (Díaz-Castro et al., 2011). Je nezbytný pro efektivní využití železa při syntéze hemoglobinu. Měď je součástí plazmového enzymu ceruloplasminu, který katalyzuje oxidaci železnatého iontu na železitý. Fe^{3+} je potom vázán enzymem transferinem a transportován do tkání za účelem syntézy sloučenin obsahujících železo, mezi nimiž je nejdůležitější právě hemoglobin (Barrionuevo et al., 2002).

Tělo dospělého člověka obsahuje asi 100-150 mg mědi. Denní potřeba mědi u člověka je 0,05 mg na 1 kg váhy. Měď se vyskytuje hlavně v krvi, ve svalech, v kostech a játrech. (Šantavý et al., 1974).

Hladiny mědi ve stejných tkáních různých zvířat se významně liší. Např. obsah mědi 10 $mg.kg^{-1}$ v kozích játrech je považován za normální, v ovčích játrech je však považován za silně deficitní (běžná hladina mědi je 220 $mg.kg^{-1}$). Tento poznatek je velmi důležitý při vybírání vhodného minerálního suplementu pro smíšená stáda (Haenlein a Anke, 2011). Minerální lizy pro ovce nesmí obsahovat měď, která je pro ně vysoce toxická (Suchý et al., 2011).

V rozpustné fázi mléka bylo nalezeno 34 % mědi v ovčím mléce a 18 % v kozím mléce. Tento velký rozdíl spočívá v rozdílném složení kozího a ovčího mléka – například vyšším obsahem citrátů v ovčím mléce. Většina mědi se podle Fuentese et al. (1997) váže na kasein a ligandy s nízkou molekulovou hmotností (citráty). Část mědi se také váže na vnější membránu tukových kapének a snadno odtud přechází do mléčného séra (v séru bylo nalezeno pouze 8 % mědi).

2.2.7 **Interakce minerálních látek**

Mezi selenem, jódem a dalšími prvky (nejvíce Zn, Fe, Cu) byly zjištěny vzájemné interakce. Selen a jód mají synergický účinek v biochemii hormonů štítné žlázy. Oba jsou nezbytné při syntéze, aktivaci a metabolismu hormonů štítné žlázy a právě tam byly zaznamenány jejich nejvyšší koncentrace. Dostatek selenu může inhibovat rozvoj strumy, i když je množství jódu deficitní. Obdobně byly popsány případy, kdy došlo k rozvoji strumy, i když byly testy na hormony štítné žlázy T4 a TSH v normě, ale byl zjištěn deficit selenu.

Obecně platí, že nedostatek jednoho prvku ovlivňuje k horšímu působení i druhého. Před suplementací selenem se ovšem doporučuje nejdřív optimalizovat příjem jódu, aby se zabránilo prohloubení hypothyroidismu stimulací thyroxinového metabolismu. Kombinovaný nedostatek selenu a jódu má také za následek velmi vážné onemocnění: myxedematózní kretenismus (Lyons et al., 2004).

Selen ovlivňuje některé další nutrienty v těle. Například zvyšuje koncentraci zinku a železa na klíčových místech (v erythrocytech) a zároveň snižuje potenciálně škodlivé koncentrace železa v játrech v průběhu infekce. Důležitým mechanismem v seleno-zinkové interakci je selenoenzymová regulace přenosu zinku z metalothioneinu do enzymů obsahujících zinek (Lyons et al., 2004).

Nedostatek železa snižuje aktivitu syntézy thyroidních hormonů a suplementace železem pozitivně ovlivňuje efektivitu suplementace jódem (Lyons et al., 2004).

Půdy v České republice jsou na selen i jód poměrně chudé, i když u nás není nedostatek těchto prvků tak závažný, jako například v určitých regionech Číny, kde byl zaznamenán zvýšený výskyt onemocnění souvisejících se silným selenovým deficitem. Typickým onemocněním, vyskytujícím se v návaznosti na nedostatek selenu a jódu v půdě je Keshanova nemoc, která způsobuje myokardiální nekrózu a může být fatální. Dalším onemocněním je choroba Kashin-Beck, způsobující degeneraci chrupavek. Obě tato onemocnění se vyskytují v Číně (Lei et al., 2007).

Zinek spolu se selenem a mědí se účastní obranných mechanismů cytosolu proti reaktivním oxidačním stavům kyslíku a dusíku. Zinek má katalytickou, regulační a strukturní funkci v metaloenzymech, např. superoxid dismutáze či fruktáze-bisfosfatáze. Počet enzymů obsahujících zinek je 200-300 (Alférez, 2003).

Haenlein a Anke (2011) provedli výzkumy, které prokázaly u Zn-deficitních koz významně zvýšené hodnoty Cu v mozku, játrech a děloze. Cu-deficitní kozy měly naopak významně zvýšený obsah hladiny Zn v játrech a vaječnících.

Velmi důležitý je poznatek, že u mnoha prokázaných onemocnění byly testované subjekty přinejmenším mírně deficitní v kombinacích prvků Se, I, Zn a Fe (Combs, 2001).

Kachuee et al. (2013) ve své studii o vlivu selenového suplementu na hladiny zinku, mědi a železa v krevním séru a kolostru koz shrnuli vzájemné interakce těchto prvků. Selen má schopnost oxidovat thioly za redukčních podmínek. Jako jeden z možných důsledků je diskutována oxidace thiolové skupiny metalothioneinu, což má za následek uvolnění zinku pro další reakce. Výsledkem může být to, že „zinkový prst“ je velmi reaktivní vůči oxidujícím sloučeninám selenu, což může mít vliv na genové exprese, opravy DNA a celkově na

genomovou stabilitu. Znalost chemických forem, ve kterých se selen vyskytuje, je v tomto případě velmi důležitá, aby se předešlo výskytu příliš reaktivních forem. Selenomethionin (a celkově selen v organické formě) je pro organismus mnohem dostupnější než seleničitan (a anorganické formy selenu obecně). Z hlediska využití zinku a mědi v organismu je mnohem lepší selen ve formě selenomethioninu, protože v jeho přítomnosti tvoří kovové ionty rozpustné komplexy, kdežto v přítomnosti seleničitanu sodného vznikají špatně rozpustné sloučeniny. Nejmenší afinitu ke kationtům vykazuje selen ve formě selenanu sodného. Antioxidační aktivita četných sloučenin selenu funguje prostřednictvím koordinace kovových iontů. Např. seleničitan sodný a oxid seleničitý inhibují poškození DNA způsobené dvojmocným železem v přítomnosti peroxidu vodíku.

U vápníku bylo prokázáno, že jeho zvýšený příjem může mít vliv na metabolismus jiných minerálů, např. hořčíku. Bylo zjištěno, že hyperkalcémie má za následek zvýšenou exkreci hořčíku ledvinami. Potraviny bohaté na vápník také narušují absorpci železa (Nestares et al., 2008).

Prvky spolu mohou také soupeřit. Známá je například skutečnost, že síra a selen jsou vzájemnými konkurenty při vstřebávání rostlinou (Ondarza, 2001). Pravděpodobně je to proto, že sloučeniny selenu jsou podobné sloučeninám síry (Rayman et al., 2008). Dalšími antagonisty selenu jsou nitráty, Ca a Zn (Suchý et al., 2011).

Haenlein a Anke (2011) zmínili výzkumy, které prokázaly zvýšení obsahu Ca, Mg, Fe, Zn a Mn v kozím mléce, pokud byly kozy krmeny krmivem s obsahem kadmia nižším než 15 $\mu g.kg^{-1}$ (denní maximum). Obsah mědi se však snížil. Opětovný přídavek 5 $mg.kg^{-1}$ Cd v krmivu zvýšil i obsah mědi ve tkáních a mléce o zhruba 15 %. Přídavek bentonitu (jílu), který je bohatý na železo, způsobil významný pokles hladiny Cu v kozích játrech a hladiny Zn v kozích žebrech. Také bylo zjištěno, že v případě deficitu fosforu se významně zvyšuje obsah mědi v srdečním svalu a mléce.

V podobné studii Kachuee et al. (2013) pozorovali pokles hladiny zinku v krevním séru při suplementaci krmiva koz selenovými preparáty a zjistili pozitivní korelace mezi koncentracemi selenu, mědi a železa v krevním séru a negativní korelaci selenu se zinkem. Také zmínili, že železo má minimální vliv na absorpci a využitelnost zinku, avšak absorpce zinku je snížena v přítomnosti mědi a kadmia.

Z důvodu vzájemných interakcí minerálů autoři nabádají k opatrnosti při poskytování minerálních suplementů, zvláště pokud jsou volně přístupné, aby překročením optimální dávky některých minerálů (Mo, Fe, S, aj.) nedošlo k deficitům jiných, např. Cu. Také využitelnost zinku klesá se stoupající koncentrací vápníku, kadmia, niklu a kyseliny fytové -

ta váže minerální látky do obtížně využitelných komplexů (Haenlein a Anke, 2011). Díaz-Castro et al. (2011) upozornili, že mléko se často dodatečně fortifikuje vápníkem. To může ovlivnit vstřebatelnost mědi, která se podílí na správném využití železa, a tím prohlubovat stavy spojené s nedostatkem železa v organismu. Zjistili, že kozí mléko na rozdíl od kravského zlepšuje vstřebatelnost mědi.

Park et al. (2007) shrnuli některé interakce mezi prvky a složkami mléka. Zmiňují vysoce negativní korelaci mezi obsahem laktózy a sodíku s draslíkem. Chloridy bývají v pozitivní korelaci s draslíkem. Pozitivní korelace byly také nalezeny mezi Co a P, K, Na, Ca, Al a Mg.

2.2.8 Minerální látky v kozím a ovčím mléce

Minerální látky mají důležitou úlohu nejen jako stavební materiál (Ca, Mg, P), ale i pufrační, upravující rovnováhu mezi kyselinami a zásadami; regulují pH mléka (K, Na, Ca). Kromě těchto hlavních prvků byla v mléce nalezena i řada dalších, ovšem v množství nepoměrně menším a většinou velmi nepatrném (Gajdůšek, 2003).

V roce 1959 Kirchgessner uvedl, že velký počet stopových prvků v mléce obsažených má svůj hlavní význam v aktivaci enzymů. Například železo je v 17 systémech nositelem účinku prostetické skupiny; mangan se pokládá za účinnou složku peptidáz a transferáz; měď je vázána v oxidázách a podílí se rozhodujícím způsobem na tvorbě krve. Kobalt je nezbytnou složkou vitamínu B_{12}. Vazba dalších prvků na enzymové systémy byla rovněž bezpečně zjištěna.

Kozí mléko

Guler (2007) publikoval rozsáhlou studii, ve které změřil 24 minerálů v kozím mléce pocházejícím z Turecka. Přehled naměřených prvků v syrovém mléce je v tabulce 3.

Prvek	*Průměr ± SD*	*Prvek*	*Průměr ± SD*	*Prvek*	*Průměr ± SD*
Ca	1342 ± 49.87	Co	0.89 ± 0.02	Pb	0.06 ± 0.00
P	823 ± 44.11	Cu	0.48 ± 0.65	Cd	0.63 ± 0.09
Mg	510 ± 25.73	Cr	0.77 ± 0.08	Ni	1.38 ± 0.13
S	296 ± 10.64	Fe	3.88 ± 0.16	Al	3.76 ± 0.17
K	409 ± 3.88	Mn	0.70 ± 0.07	Ag	0.28 ± 0.05
Na	433 ± 10.68	Mo	0.94 ± 0.11	Si	10.59 ± 1.87
Se	7.59 ± 1.72	Zn	4.68 ± 0.74	B	16.9 ± 1.94

Tabulka 3: *Obsahy minerálních látek v kozím mléce v $\mu g.kg^{-1}$ (Guler, 2007)*

Kondyli et al. (2007) naměřili v kozím mléce pocházejícím z Řecka průměrně 1320 ± 19,3 mg/kg vápníku a 977 ± 13,0 $mg.kg^{-1}$ fosforu. Vápník byl vůči fosforu v poměru 1:1,36. Dále nalezli průměrné hladiny sodíku 594 ± 16,2 $mg.kg^{-1}$ a draslíku 152 ± 34,8 $mg.kg^{-1}$se vzájemným poměrem 1:0,4. Průměrné hladiny ostatních prvků byly 158,7 ± 4,0 $mg.kg^{-1}$ (Mg), 800 ± 100 $mg.kg^{-1}$ (Cu), 600 ± 30 $mg.kg^{-1}$ (Fe), 3,7 ± 0,1 $mg.kg^{-1}$ (Zn) a 65,3 ± 0,3 $mg.kg^{-1}$ (Mn). V porovnání s tím, co naměřil Guler (2007), jsou patrné poměrně velké rozdíly v obsahu draslíku, mědi a železa.

Hladinami selenu a jódu se zabývalo o mnoho méně autorů. Nudda et al. (2009) stanovili v kozím mléce bez suplementace pocházejícím z Itálie 60,1 ± 50,05 $\mu g.l^{-1}$ jódu. Průměrné hladiny selenu v kozím mléce z Kanárských ostrovů publikovali také Herrera et al. (2006) a v kozím mléce z Pákistánu Khan et al (2006), a to 12,9 ± 4,3 $\mu g.kg^{-1}$, resp. 14±0,5 $\mu g.l^{-1}$.

Hejtmánková et al. (2002) uvádí hladiny chloridů v kozím mléce průměrně 1,31 $g.l^{-1}$. Dále byly naměřeny hodnoty Ca v rozsahu 1,2 - 1,7 $g.kg^{-1}$, Mg v rozsahu 0,13 - 0,2 $g.kg^{-1}$, Zn v rozsahu 3,0 – 6,2 $g.kg^{-1}$, Cu v rozsahu 0,038 – 0,08 $mg.kg^{-1}$ a Fe v rozsahu 0,7- 2,4 $mg.kg^{-1}$.

Ovčí mléko

Khan et al. (2006) naměřili v ovčím mléce pocházejícím z Pákistánu 551-900 $mg.l^{-1}$ vápníku, 104-112 $mg.l^{-1}$ hořčíku, 358-422 $mg.l^{-1}$ sodíku, 1079-1166 $mg.l^{-1}$ draslíku, 0,361-0,480 $mg.l^{-1}$ železa, 0,243-0,304 $mg.l^{-1}$ mědi, 0,56-1,29 $mg.l^{-1}$ zinku, 0,088 $mg.l^{-1}$ manganu, 0,114-0,137 $mg.l^{-1}$ kobaltu a 0,014 $mg.l^{-1}$ selenu.

Trávníček a Kursa (2001) naměřili v ovčím mléce v ČR průměrně 105,5 $\mu g.l^{-1}$ jódu.

Stanovení obsahu vybraných minerálních látek v ovčím mléce Východofríského plemene chovaného na farmě ve východních Čechách proběhlo v roce 2006 (tabulka 4). Krmení sestávalo z pastevního porostu s přídavkem sena a jádra (ječmen) a nebylo suplementováno jodem, ani jinými minerálními látkami (Hejtmánková et al., 2008).

Prvek	***Průměr ± SD***
Ca	2,18 ± 0,242 $g.kg^{-1}$
Mg	0,243 ± 0,038 $g.kg^{-1}$
Zn	4,50 ± 0,495 $mg.kg^{-1}$
Cu	128 ± 32 $\mu g.kg^{-1}$
Cd	0,32 ± 0,192 $\mu g.kg^{-1}$
Pb	4,52 ± 2,83 $\mu g.kg^{-1}$
I	142 ± 127 $\mu g.kg^{-1}$

Tabulka 4: *Obsahy vybraných minerálních látek v ovčím mléce (Hejtmánková et al., 2008)*

2.2.9 **Porovnání minerálního složení různých druhů mlék**

Minerální složení kravského, kozího, ovčího a mateřského mléka podle různých autorů je uvedeno v tabulce 5. Sanz Ceballos et al. (2009) porovnali minerální složení kozího a kravského mléka ze Španělska a zjistili, že kozí mléko obsahuje více vápníku, fosforu, hořčíku, železa, mědi a zinku než mléko kravské.

Minerální látky	jednotka	kravské	kozí	ovčí	mateřské
Ca	$mg.kg^{-1}$	1130-1220	1340-1589	1930-1990	330
Na	$mg.kg^{-1}$	410-480	382-500	440	150
Mg	$mg.kg^{-1}$	100-130	133-140	180	40
P	$mg.kg^{-1}$	840-960	110-128	1580	430
K	$mg.kg^{-1}$	1320-1510	1770-2040	1370-1595	550
Fe	$mg.kg^{-1}$	0,3-0,5	0,5-0,75	1,0-1,75	2,0
Zn	$mg.kg^{-1}$	3,18-3,80	3,0-3,3	5,4-5,94	3,8
Cu	$\mu g.kg^{-1}$	80-250	460-480	460-550	600
Mn	$mg.kg^{-1}$	0,2-0,4	0,18-0,6	0,07-0,18	0,7
Se	$\mu g.kg^{-1}$	9,6-37	13,3-14	1,0-17	15,2
S	$mg.kg^{-1}$	320	280-320	290-320	140
Cl	$mg.kg^{-1}$	1000	1503	760-1600	600
Al	$mg.kg^{-1}$	-	-	0,5-1,8	0,6

Tabulka 5: *Minerální složení kravského, kozího, ovčího mléka a mateřského mléka (Drbohlav a Vodičková, 2001; Dostálová, 2004; Park et al., 2007; USDA National Nutrient Database)*

Guéguen (1997) publikoval studii z Francie, ve které porovnal hladiny minerálních látek v kravském, kozím, ovčím a mateřském mléce (jsou uvedené zvlášť v tabulce 6 z důvodu použití rozdílných jednotek).

Minerální látky	jednotka	kravské	kozí	ovčí	mateřské
Ca	$mg.l^{-1}$	1200	1260	1950	320
Na	$mg.l^{-1}$	450	380	460	200
Mg	$mg.l^{-1}$	110	130	180	40
P	$mg.l^{-1}$	920	970	1500	150
K	$mg.l^{-1}$	1500	1900	1400	550
Fe	$mg.l^{-1}$	0,46	0,55	0,70	0,6
Zn	$mg.l^{-1}$	3,80	3,40	5,00	3,00
Cu	$\mu g.l^{-1}$	220	300	400	360
Mn	$mg.l^{-1}$	0,06	0,08	0,09	0,03
Se	$\mu g.l^{-1}$	30	20	30	20
Cl	$mg.l^{-1}$	1100	1600	1100	450
I	$\mu g.l^{-1}$	70	80	100	80

Tabulka 6: *Minerální složení kravského, kozího, ovčího a mateřského mléka (Guéguen, 1997)*

Park et al. (2007) zmínili poměrně vysoké obsahy zinku v mléce, nejvíce ho obsahuje kravské a kozí mléko a nejméně mateřské. Naopak hladiny železa jsou v kravském a kozím mléce nižší, než v mateřském, což je v souladu s tím, co publikoval Guéguen (1997). Park et al. (2007) také tvrdí, že kravské a kozí mléko obsahují významně více jódu než mateřské mléko, což považují za důležité v lidské výživě, a že kozí a mateřské mléko obsahuje více

selenu než kravské mléko. Dále uvedli, že kozí mléko má více vápníku, fosforu, draslíku a chlóru než mléko kravské. Sodíku a síry má naopak méně.

Ve studii, provedené na Kanárských ostrovech, byly porovnány koncentrace vybraných minerálních látek v kozím, kravském a mateřském mléce. Nejvyšší koncentrace selenu a zinku byly nalezeny v kozím mléce, dále v kravském a nejméně v mateřském (Rodríguez et al., 2002).

Raynal-Ljutovac et al. (2008) shrnuli několik poznatků o rozdílech v kozím, ovčím a kravském mléce. Kozí mléko je význačné svým vysokým obsahem chloridů a draslíku. Rozdělení vápníku, fosforu a hořčíku mezi rozpustnou a koloidní fázi je podobné u kravského a kozího mléka, ale v ovčím mléce je více těchto prvků přítomno ve fázi rozpustné. Dostupnost železa pro organismus je vyšší z kozího mléka než z kravského, z důvodu vyššího obsahu nukleotidů, které napomáhají lepší absorpci železa ze střeva. V souladu s tímto tvrzením je i práce Nestares et al. (2008) kteří zjistili, že i přes známé interakce potravin bohatých na vápník s metabolismem železa, kozí mléko na rozdíl od kravského metabolismus železa zlepšuje. Dostupnost zinku je vyšší z ovčího mléka než z kravského a kozího. Dostupnost selenu je vyšší z kozího mléka (selen musí být vázán na proteiny) než z ovčího.

Alférez (2003) uvádí, že minerální látky jako selen, zinek, vápník a hořčík, jsou-li obsaženy v kozím mléce, jsou pro organismus mnohem dostupnější, než jsou-li v mléce kravském. V souladu s touto studií je i tvrzení Barrionueva et al. (2003), kteří s pokusem provedeným s odlišnými mléčnými dietami u krys dokázali vyšší biologickou dostupnost mědi, selenu a zinku z kozího mléka než z kravského. Autoři to přičítají jednak vyššímu obsahu mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem a jednak vyššímu zastoupení rozpustných proteinů v kozím mléce. Raynal-Ljutovac et al. (2008) dodávají, že celkově minerály jako železo, měď a zinek v mléce přežvýkavců jsou převážně vázané na kasein na rozdíl od mateřského mléka, kde jsou převážně spojeny s rozpustnými proteiny. Velká většina studií zaměřených na biologickou dostupnost minerálních látek z různých druhů mléka ukazuje na rozdílnost kozího a kravského mléka právě v tomto aspektu (Silanikove et al., 2010).

Kravské mléko je poměrně velmi bohaté vápníkem, obsahuje až 170 mg CaO ve 100 g, kdežto mateřské mléko pouze asi 25 až 32 mg. V mléce obsažený vápník je mimořádně způsobilý pro vstřebání střevní stěnou. To má velký význam zejména pro výživu dětí. Fosforu má kravské mléko až 80 mg v 100 g, kdežto v mateřském je asi 16 mg. V kravském mléce je asi 60 mg sodíku a 150 mg draslíku ve 100 g, v mateřském jen asi 5 mg.

Někteří autoři se zabývali obsahy minerálních látek ve fermentovaných mléčných produktech. Slacanac et al. (2010) ve své studii uvedli, že nenalezli významné rozdíly mezi obsahy Se, Zn a Ca ve fermentovaných výrobcích z kozího a kravského mléka. Obsah Mg v kozích fermentovaných výrobcích byl ale vyšší než v kravských.

Navarro-Alarcon et al. (2011) provedli pokus, ve kterém srovnali hladiny selenu, zinku, hořčíku a vápníku ve fermentovaných komerčních produktech z kozího a ovčího mléka. V kozích produktech bylo všech čtyř prvků nalezeno nejvíce. V kozích produktech bylo průměrně 28,32 ± 15,80 $\mu g.kg^{-1}$ selenu, 4,46 ± 0,93 $mg.kg^{-1}$ zinku, 178,2 ± 31,9 $mg.kg^{-1}$ hořčíku a 1940 ± 421,5 $mg.kg^{-1}$ vápníku.

Ovčí mléko obsahuje vyšší podíl sušiny a jako důsledek vyšší hladiny nutrientů než kravské a kozí mléko (Park et al. 2007; Mayer et Fiechter 2012). Oproti kravskému má vyšší podíl zinku, hořčíku, fosforu, železa a jódu (Štolcová et al. 2006) a méně draslíku, sodíku a manganu (Park et al., 2007). V souladu s tímto tvrzením naměřila Sojková et al. (2008) v kozím mléce 4,30 ± 0,72 $mg.kg^{-1}$ zinku, v ovčím mléce 5,22 ± 1,07 $mg.kg^{-1}$ a v kravském 4,65±0,54 $mg.kg^{-1}$.

Kozí a ovčí mléko obsahuje při stejném způsobu krmení větší množství jódu, než mléko kravské (Groppel, 1993). Hodnoty jódu v ovčím mléce nižší než 79 $\mu g \cdot l^{-1}$ a 62 $\mu g \cdot l^{-1}$ v kozím mléce indikují jodový deficit.

Lamand (1981) publikoval, že optimální denní příjem jódu pro kozy je vyšší, než pro ostatní přežvýkavce. To se ukázalo při krmení koz optimální denní dávkou jódu určenou pro krávy (0,3 $mg \cdot kg^{-1}$ denně), neboť tato dávka nestačila pro prevenci strumy u kůzlat. Meschy (2000) uvádí jako doporučené denní hodnoty příjmu stopových prvků pro kozy následující hodnoty v $mg.kg^{-1}$: selen 0,1; jód 0,4-0,6; zinek 50, měď 8-10, kobalt 0,1, mangan 40 a molybden 0,1.

Park et al. (2007) shrnuli, že v zásadě minerální složení ovčího mléka kolísá mnohem více než kravského mléka a je mnohem ovlivnitelnější krmivem nebo ročním obdobím. Také dodávají, že stopové prvky ovčího mléka ještě zdaleka nebyly dostatečně prostudovány, i když se pravděpodobně jedná o jejich cenný zdroj ve výživě pro lidské zdraví. Také uvádějí, že obsah minerálních látek v kozím a ovčím mléce je vyšší, než v kravském.

Selen

Celonárodní studie z Turecka, ve které byl sledován selen v kravském mléce z farem po celé zemi, ukázala průměrný obsah selenu 15,24 ± 5,54 $\mu g.kg^{-1}$ (Yanardag a Orak, 1998).

Selen byl stanovován také v kozím kolostru a jeho obsah byl 89 ± 19 $\mu g.l^{-1}$ (Kachuee et al., 2013).

Studie pocházející z Pákistánu (Khan et al., 2006) uvádí pro ovčí a kozí mléko shodně hodnoty selenu 14,0 $\mu g.l^{-1}$.

Hampel et al. (2004) publikoval ve studii pocházející z Německa výsledky stanovení selenu a jódu v ovčím mléce, čerstvém sýru a jogurtu. V mléce stanovil 14 ± 3 $\mu g.kg^{-1}$, v sýru 42 ± 11 $\mu g.kg^{-1}$ a v jogurtu 17 ± 2 $\mu g.kg^{-1}$.

Hladinami selenu v kravském mléce v ČR se zabýval Koutník et al. (1996). Zjistil průměrný obsah 37,0 $\mu g.l^{-1}$.

Hodnoty selenu v kravském, kozím a ovčím mléce nalezené v literatuře jsou přehledně uvedeny v tabulce 7.

Mléko	*kravské*	*kozí*	*ovčí*
A	37,0 $\mu g.l^{-1}$		
B	15,24 ± 5,54 $\mu g.kg^{-1}$		
C		20,0 $\mu g.l^{-1}$	
D			14 ± 3 $\mu g.kg^{-1}$
E		14,0 $\mu g.l^{-1}$	14,0 $\mu g.l^{-1}$
F		7.59 ± 1.72 ppm	

Tabulka 7: *A = Koutník et al., 1996; B= Yanardag a Orak 1998; C = Meschy, 2000; D = Hampel et al., 2004; E = Khan et al., 2006; F = Guler, 2007*

Jód

Ferri (2003) zjistil v ovčím mléce pocházejícím z lokality Abruzzo ve střední Itálii 675 ± 154 $\mu g.l^{-1}$ jódu, což je výrazně více než co bylo stanoveno v ČR. Azuolas a Caple (1984) uvádějí, že hladiny jódu v ovčím mléce se mohou pohybovat v rozmezí od 79 do 1931 $\mu g.l^{-1}$.

Hampel et al. (2004) stanovil koncentraci jódu v ovčím mléce 520 ± 60 $\mu g.kg^{-1}$ v ovčím sýru 600 ± 30 $\mu g.kg^{-1}$ a v ovčím jogurtu 410 ± 150 $\mu g.kg^{-1}$. Podle tohoto autora je také ovčí mléko mnohem lepším zdrojem jódu než mléko kravské.

Hodnoty jódu v kravském, kozím a ovčím mléce nalezené v literatuře jsou přehledně uvedeny v tabulce 8.

Mléko	*kravské*	*kozí*	*ovčí*
A		70 $\mu g.l^{-1}$	
B	594,8 ± 178,1 $\mu g.l^{-1}$		
C			675 ± 154 $\mu g.l^{-1}$
D			520 ± 60 $\mu g.kg^{-1}$
E	310,4 ± 347,0 $\mu g.l^{-1}$		
F	259 ± 58 $\mu g.l^{-1}$		
G	136,9 ± 258,2 $\mu g.l^{-1}$		
H		60,1 ± 50,05 $\mu g.l^{-1}$	
I	442,5 ± 185,6 $\mu g.l^{-1}$		

Tabulka 8: *Přehled hodnot jódu v kravském, kozím a ovčím mléce podle různých autorů. A = Meschy, 2000 = B = Třináctý et al., 2001; C = Ferri, 2003; D = Hampel et al., 2004; E = Kursa et al. (2005); F = Trávníček et al., 2006; G = Paulíková et al. (2008); H = Nudda et al., 2009; I = Soriguer et al., 2011*

Zinek

Rodríguez et al. (1999) nalezl v kravském mléce 4,41 ± 0,67 $mg.l^{-1}$ a v kozím mléce 3,31 ± 0,60 $mg.l^{-1}$ zinku.

Coni et al. (1996) porovnávala obsahy zinku v kozím a ovčím mléce. V syrovém ovčím mléce nalezla průměrně 7,42 $mg.kg^{-1}$ zinku a v syrovém kozím mléce 6,14 $mg.kg^{-1}$ zinku.

Elmastas et al. (2005) stanovil obsah zinku v kozím, ovčím, kravském a mateřském mléce. V kozím mléce nalezl 5,15 ± 0,013 $mg.l^{-1}$, v ovčím 10,4 ± 0,014 $mg.l^{-1}$, v kravském 8,2 ± 0,010 $mg.l^{-1}$ a v mateřském mléce 1,2 ± 0,009 $mg.l^{-1}$ zinku.

Kachuee et al. (2013) nalezli v kozím kolostru 2,18 ± 0,16 $mg.l^{-1}$ zinku.

Hodnoty zinku v kravském, kozím a ovčím mléce podle různých autorů jsou přehledně zobrazeny v tabulce 9.

	kravské	*kozí*	*ovčí*
A		6,14 $mg.kg^{-1}$	7,4 $mg.kg^{-1}$
B		4,64 $mg.l^{-1}$	8,03 $mg.l^{-1}$
C	4,41 ± 0,67 $mg.l^{-1}$	3,31 ± 0,60 $mg.l^{-1}$	
D	8,2 ± 0,010 $mg.l^{-1}$	5,15 ± 0,013 $mg.l^{-1}$	10,4 ± 0,014 $mg.l^{-1}$
E		4.68 ± 0.74 ppm	
F	4,65±0,54 $mg.kg^{-1}$	4,30 ± 0,72 $mg.kg^{-1}$	5,22 ± 1,07 $mg.kg^{-1}$
G			4,50 ± 0,495 $mg.kg^{-1}$
H	4,63 $mg.kg^{-1}$	5,28 $mg.kg^{-1}$	

Tabulka 9: *Přehled hodnot zinku v kravském, kozím a ovčím mléce podle různých autorů. A = Coni et al., 1996; B = Fuentes et al., 1997; C = Rodriguez et al., 1999; D = Elmastas et al., 2005; E = Guler, 2007; F = Sojková et al., 2008; G = Hejtmánková et al., 2008; H = Sanz Ceballos et al., 2009*

Vápník

Hodnoty vápníku v kravském, kozím a ovčím mléce podle různých autorů jsou přehledně zobrazeny v tabulce 10.

Mléko	*kravské*	*kozí*	*ovčí*
A		1468 $mg.l^{-1}$	2156 $mg.l^{-1}$
B	1220 $mg.kg^{-1}$	1340 $mg.kg^{-1}$	
C	1135,8 $mg.kg^{-1}$	1585,7 $mg.kg^{-1}$	
D		1110-1370 $mg.kg^{-1}$	1780-2610 $mg.kg^{-1}$
E		1288 ± 102 $mg.l^{-1}$	1846 ± 178 $mg.l^{-1}$

Tabulka 10: *Přehled hodnot vápníku v kravském, kozím a ovčím mléce podle různých autorů. A = Fuente et al., 1997; B = Park et al., 2007; C = Sanz Ceballos et al., 2009; D = Hilali et al., 2011; E = Mayer et Fiechter, 2012*

Hořčík

Hodnoty hořčíku v kravském, kozím a ovčím mléce podle různých autorů jsou přehledně zobrazeny v tabulce 11.

Mléko	*kravské*	*kozí*	*ovčí*
A		144 $mg.l^{-1}$	193 $mg.l^{-1}$
B	120 $mg.kg^{-1}$	160 $mg.kg^{-1}$	
C	870,4 $mg.kg^{-1}$	129,2 $mg.kg^{-1}$	
D		130-170 $mg.kg^{-1}$	70-230 $mg.kg^{-1}$
E		138 ± 17 $mg.l^{-1}$	192 ± 25 $mg.l^{-1}$

Tabulka 11: *Přehled hodnot hořčíku v kravském, kozím a ovčím mléce podle různých autorů. A = Fuente et al., 1997; B = Park et al., 2007; C = Sanz Ceballos et al., 2009; D = Hilali et al., 2011; E = Mayer et Fiechtel, 2012*

Měď

Kachuee et al. (2013) v kozím kolostru nalezli 409 ± 70 $\mu g.l^{-1}$ mědi. Hodnoty mědi v kravském, kozím a ovčím mléce podle různých autorů jsou uvedeny v tabulce 12.

Mléko	*kravské*	*kozí*	*ovčí*
A	233 ± 69 $\mu g.kg^{-1}$	287 $\mu g.kg^{-1}$	
B		280 $\mu g.l^{-1}$	410 $\mu g.l^{-1}$
C		112 – 200 $\mu g.kg^{-1}$	
D	600 $\mu g.kg^{-1}$	500 $\mu g.kg^{-1}$	
E	140 $\mu g.kg^{-1}$	420 $\mu g.kg^{-1}$	

Tabulka 12: *Přehled hodnot mědi v kravském, kozím a ovčím mléce podle různých autorů. A = Mitchell, 1981; B = Fuente et al., 1997; C = Hejtmánková et al. (2002); D = Park et al., 2007; E = Sanz Ceballos et al., 2009*

2.3 Faktory ovlivňující minerální složení mléka

Nejvýznamnějším faktorem ovlivňujícím složení mléka je druh savce. Mezidruhové rozdíly mohou být považovány za symptom evoluční adaptace na různé požadavky mláďat (Michaelidou, 2008).

Podle starší literatury (Prokš, 1964) krmení nemá významný vliv ani na množství solí v mléce, ani na jejich složení. Novější studie naopak uvádějí, že složení mléka je ovlivněno množstvím faktorů, kterými je např. plemeno, rodová linie, věk zvířete, pořadí a stadium laktace (zvlášť velké jsou rozdíly mezi kolostrem a zralým mlékem) a vnější faktory, zahrnující systém krmení, rozdíl mezi jednotlivci, zdravotní stav a sezónní změny, roční období a klimatické podmínky, životní podmínky a technologie chovu a zpracování (Zeng a Escobar 1996; Meschy, 2000; Soryal et al., 2005; Kouřimská, 2006; Morand-Fehr et al., 2007; Sojková, 2008).

Morand-Fehr et al. (2007) uvádějí, že hlavními faktory ovlivňujícími hlavní složky kravského mléka jsou plemeno a způsob krmení a dojení. Další faktory, jako třeba vliv ročního období a zdravotní stav, jsou podle jejich názoru ovlivněny množstvím a druhem krmiva, přičemž krmivem se myslí celý soubor podmínek působících např. na pastevní porosty, včetně všech vlivů lokality.

2.3.1 **Vliv ročního období**

Bylo zjištěno, že hladiny jódu se někdy mohou významně lišit v závislosti na ročním období, zvláště jsou patrné rozdíly mezi zimním a letním obdobím.

Paulíková (2008) zjistila v ovčím mléce, odebraném na Slovensku 197,6 $\mu g.l^{-1}$ jódu v zimě a 56,0 $\mu g.l^{-1}$ jódu v létě. V kozím mléce zjistila 89,2 $\mu g.l^{-1}$ jódu v zimě a 48,0 $\mu g.l^{-1}$ jódu v létě. Obsahy jódu v mléce v zimním období jsou téměř dvojnásobné, než v létě, a to jak v kozím, tak v ovčím mléka.

Hejtmánková et al. (2006) naměřila v kravském mléce pocházejícím ze sedmi farem v České Republice vyšší hodnoty jódu v zimním období (říjen až březen, 251 ± 110 $\mu g.kg^{-1}$) než v letním období (duben až září, 212 ± 104 $\mu g.kg^{-1}$).

Herzig et al. (1995) také zjistili rozdíly mezi letním a zimním období v hladinách jódu, obsaženého v kravské moči. V letním období (květen-říjen) bylo jódu v moči méně než v zimním období (listopad-duben), ale rozdíl nebyl signifikantní. Hladina jódu v moči souvisí s celkovou nasyceností dojnic jódem a koresponduje s hladinou jódu v mléce.

Shodně podle Binnertse (1989), Groppela a Ankeho (1991), Dahla et al. (2003), Trávníčka et al. (2006) a Paulíkové (2008) je zvýšení hladiny jódu v zimním období pravděpodobně důsledkem rozdílů ve způsobu krmení v létě a v zimě. Důvodem je nižší obsah jódu při letním způsobu krmení, což je pastva. Koncentrace jódu se zvyšuje, s klesající koncentrací vody v rostlinných tkáních. Seno a siláž mají vyšší obsah jódu (Herzig a Suchý, 1996; Bobek 1998). Ze studie pocházející z Pákistánu (Khan et al., 2006) vyplývá, že vlivem klimatických podmínek se skladba krmení v průběhu ročních období nemění, a proto se změny hladin jódu v mléce neprojeví.

Naproti tomu Azuolas a Caple (1984) publikovali, že nejvyšší koncentrace jódu v mléce je v pozdním létě a nejnižší na jaře. Také Graham (1991) popsal, že jódu je nejvíc v létě a na podzim a nejméně v zimě a na jaře. Tento jev dávají autoři do souvislosti s podnebím a průměrnou denní teplotou. Rovněž Lengemann (1979) uvádí 6x vyšší koncentraci jódu v mléce při teplotě vzduchu 33 °C než 5 °C. Vysvětluje si to nižší spotřebou jódu při výrobě thyroxinu, přičemž mléčná žláza koncentruje stále stejný poměr jódu.

Dahl et al. (2003) naměřili v kravském nízkotučném mléce pocházejícím z různých oblastí Norska průměrně 88 $\mu g.l^{-1}$ v létě a 232 $\mu g.l^{-1}$ v zimě. V mléce z ekologických chovů zjistili hladiny jódu 60 $\mu g.l^{-1}$ v létě a 127 $\mu g.l^{-1}$ v zimě. V mléce nadojeném na obou farmách bylo v letním období zjištěno významně méně jódu než v mléce ze zimního období.

Khan et al. (2006) sledovali obsah vápníku, hořčíku, selenu, zinku, mědi, sodíku, draslíku, železa, manganu a kobaltu v kozím a ovčím mléce. Ve studii, probíhající v Pákistánu

nezjistili žádné rozdíly v obsahu selenu v mléce mezi létem a zimou. Naopak zjistili významné rozdíly v obsahu vápníku, zinku a sodíku, jejichž obsahy byly vyšší v zimním období. Obsah železa byl naopak vyšší v letním období. V případě hořčíku překvapivě zjistili mírné zvýšení v ovčím mléce v zimním období (112 ± 3,2 $mg.l^{-1}$ v zimě, 104 ± 3,6 $mg.l^{-1}$ v létě) a zvýšení v kozím mléce v letním období (84 ± 2,6 $mg.l^{-1}$ v zimě, 90 ± 2,2 $mg.l^{-1}$ v létě. Zinku v mléce měly ovce i kozy významně více v zimě, než v létě. Vyšší hladiny zinku byly obecně zjištěny v mléce kozím.

2.3.2 **Používání jodových dezinfekčních prostředků**

Dalším faktorem, který může ovlivnit hladinu jódu v mléce, je používání jodových dezinfekčních preparátů. Ty se před časem v ČR přestaly používat, což mělo paradoxně vliv na snížení stavu jódu v mléce dojnic, mléčných výrobcích a lidské výživě. Herzig et al. (1999) provedli pokus, v jehož rámci aplikovali roztok Jodonalu B přímo na kůži mléčné žlázy dojnic. Tento zásah způsobil to rychlý vzestup hladin jódu v mléce i v moči. Bylo tedy prokázáno, že jód z dezinfekčního prostředku je kůží vemene vstřebáván a jodový metabolismus může být ovlivněn i touto cestou.

Naproti tomu Čurda a Rudolfová (2000) provedli pokus s aplikací 10% roztoku Betadinu (desinfekce obsahující jód), kterým vždy po dojení ošetřovali struky dojnic a zjistili, že mléko po ošetření nebylo kontaminováno jódem.

Rodriguez et al. (2008) zkoumali efekt jódového dezinfekčního roztoku aplikovaného na kůži kozích struků a nezjistili žádné statisticky významné zvýšení jódu v mléce v porovnání s mlékem ze struků, které byly jen omyté vodou.

Hemken (1979) uvádí, že jodové dezinfekční prostředky, používané k ošetření vemene nemají žádný významný vliv na hladiny jódu v mléce, pokud ovšem nejsou nevhodně používané.

2.3.3 **Specifické podmínky jednotlivých roků**

Trávníček a Kursa (2001) sledovali hladiny jódu v kozím mléce 94 koz na 64 různých farmách ve dvou po sobě jdoucích letech a uvedli velmi rozdílné výsledky. V prvním roce stanovili průměrně 31,6 $ug.l^{-1}$ a ve druhém roce 63 $ug.l^{-1}$ jódu v mléce. Existuje tedy možnost, že faktorem, který by mohl ovlivňovat stav jódu v mléce, je i rok odběru, pravděpodobně v souvislosti s rozdílným počasím a příjmem krmiva v průběhu laktace v různých letech. I vyšší naměřená hodnota ve druhém roce je však velice blízko deficitní hranici stanovené Groppelem (1993).

Ruvuna et al. (1995) zmínili vliv počasí na dojivost koz. Zjistili, že pokud laktace začala v suchém a teplém období, byla dojivost mnohem vyšší, ve srovnání s laktací, která začala v chladném a deštivém období.

2.3.4 **Plemeno**

Vliv plemene na základní složky mléka je známý. Plemeno může ovlivnit výtěžnost, délku laktace, poměry hlavních složek, senzorické vlastnosti a složení mastných kyselin (Soryal et al., 2005; Hejtmánková et al. 2009). Haenlein (2007) shrnul, že např. plemeno Východofríská ovce vykazuje zdaleka nejvyšší mléčnou výtěžnost a je zcela srovnatelná s mléčnou výtěžností nejlepších kozích mléčných plemen.

Problematika vlivu plemene na obsah minerálních látek je zatím málo známá a nebyla dostatečně studována. Mestawet et al. (2012) porovnávali minerální složení mléka čtyř různých kozích plemen v Etiopii. V průběhu celé laktační sezóny sledovali obsahy vápníku, fosforu, draslíku, hořčíku, sodíku, zinku a železa. Nenalezli žádné signifikantní rozdíly v minerálním složení mezi sledovanými plemeny.

2.3.5 **Fáze laktace**

Meschy (2000) uvádí, že poměr minerálních látek může být závislý na stadiu laktace. Svou studii provedl na kozím mléce. V raném stadiu laktace naměřil nejvyšší koncentrace vápníku a fosforu, které se s postupem laktace snižovaly.

Hejtmánková et al. (2002) publikovala studii, ve které uvádí rozdílné hladiny vybraných minerálních látek v kozím mléce v závislosti na fázi laktace. Hladiny vápníku, zinku a mědi byly vyšší na začátku laktace a s postupem laktace se jejich obsahy snižovaly. Hladina hořčíku klesala spolu s pokročilostí laktace. Kolísající hladiny železa, kadmia, olova a chloridů nesouvisely s fází laktace.

Mayer et Fiechte (2012) pozorovali průběh několika prvků v kozím a ovčím mléce v průběhu celé laktace (březen až říjen). Z výsledků bylo patrné, že obsah sodíku, hořčíku a chloridů v ovčím mléce se v průběhu laktace pomalu zvyšoval. Obsah vápníku a fosforu byl konstantní až do srpna a pak se zvyšoval do konce října. V kozím mléce byl obsah sodíku, chloridů a draslíku konstantní po celou dobu laktace. Obsah fosforu, vápníku a hořčíku se průběžně snižoval, až dosáhl minima v červenci a poté se zase zvyšoval až do konce laktace.

Abilleira et al. (2010) zkoumali obsahy vápníku a hořčíku v ovčím mléce v průběhu celé laktační sezóny (únor až červenec). Zjistili, že obsah vápníku se zvyšoval v průběhu laktace. Nejnižší byla hladina vápníku v únoru a nejvyšší v červnu. Obsah hořčíku po celou dobu laktační sezóny stoupal.

Liesegang et al. (2006) ve své studii sledovali obsahy vápníku v kozím a ovčím mléce ode dne narození mláďat po dobu šesti měsíců. Nejvyšší obsahy vápníku zjistili v kolostru ovčího i kozího mléka. Ve zralém mléce došlo ke snížení koncentrace vápníku (důsledek vyššího obsahu vody ve zralém mléce). Dále se obsahy vápníku mírně zvyšovaly a nejvyšší byly v mléce ovcí ve 4. měsíci po porodu a v mléce koz ve druhém a třetím měsíci po porodu, dále hodnoty obsahu vápníku v mléce mírně poklesly a v 5. měsíci byly na stejné úrovni jako ve druhém měsíci po porodu. Poté shodně docházelo v ovčím i kozím mléce k poklesu obsahu vápníku.

Mestawet et al. (2012) nalezli nejvíce vápníku a fosforu v mléce v časné a také v pozdní fázi laktace. Obsahy sodíku, draslíku a hořčíku v mléce mírně rostly v průběhu laktačních fází. Obsah zinku naopak postupně klesal. Obsah železa v mléce byl maximální uprostřed laktace. Experiment se uskutečnil v Etiopii, kde je možné vyloučit vlivy přechodů ze suchých krmiv na venkovní pastvu. Stejně tak Aganga et al. (2002) ve své studii porovnávali minerální složení kozího a ovčího mléka v průběhu laktačních fází v Botswaně. V mléce koz i ovcí bylo nalezeno nejvíce vápníku 40 dní po začátku laktace. Poté došlo k dočasnému snížení, jako v předchozí zmiňované studii, a maxima dosáhl obsah vápníku shodně v kozím i ovčím mléce 82 dní po začátku laktace. Poté obsah vápníku mírně klesal až do konce laktace. Podobné průběh byl pozorován i v obsahu hořčíku v mléce. 40 dní po začátku laktace byly obsahy v kozím a ovčím mléce nejvyšší, poté poklesly a maxima dosáhly shodně v 68. dni od začátku laktace. Průběh obsahů mědi v ovčím i kozím mléce byl mírně rozdílný. V kozím mléce obsah mědi kolísal bez jednoznačného trendu v průběhu celé laktace. V ovčím mléce obsah mědi s postupující laktací snižoval. Obsah zinku v kozím i ovčím mléce kolísal po celou dobu laktace. V kozím mléce bylo stanoveno maximum v 82. dni po začátku laktace a ovčím mléce ve 110. dni po začátku laktace.

Kondyli et al. (2007) sledovali řadu minerálních látek v kozím mléce po celou dobu laktace s odběry jednou měsíčně od prosince do července. V průběhu sledovaného období v obsahu vápníku, fosforu, draslíku, mědi zinku a manganu zjistili významné rozdíly, které autoři přičítají rozdílům v krmení během laktace. Obsah vápníku, fosforu, mědi a manganu byl v mléce na začátku laktace nejvyšší a pak postupně klesal, naopak obsah draslíku byl nejvyšší na konci laktace. Obsah zinku v mléce byl nejvyšší uprostřed laktace, sodík, hořčík a železo žádné změny v průběhu laktace nevykazovaly.

2.3.6 **Způsob chovu, dojení, počet mláďat ve vrhu a věk**

Morand-Fehr et al. (2007) pozorovali vliv způsobu chovu na kvalitu a složení mléka. Zjistili velké rozdíly ve složení mléka (množství tuku, bílkovin a laktózy) koz chovaných v menším chlévě a venku na pastvě. Výtěžnost a tučnost mléka koz stoupá v souvislosti s konzumací trávy v jejím časném stadiu růstu. Čerstvá pastva zvyšuje zastoupení mastných kyselin, vitamínů a těkavých složek (např. terpeny). Autoři porovnali také tři různé pastevní způsoby chovu koz (na planině, v kopcích a v horách) a pozorovali mírný pokles mléčné výtěžnosti a naopak vyšší obsah tuku, bílkovin a terpenů v mléce koz pasených v horách. V intenzivních krytých chovech umožňuje produkci mléka bohatého na bílkoviny a s relativně nízkým obsahem tuku.

Rodríguez et al. (2002) zkoumali, zda se liší obsah selenu v mléce podle frekvence dojení. Rozdělili kozy do dvou skupin. První skupinu koz dojili dvakrát denně, druhou skupinu koz dojili jen jednou denně a došli k závěru, že kozy dojené jednou denně měly v mléce signifikantně vyšší hladinu selenu, než kozy dojené dvakrát denně.

Vliv počtu mláďat ve vrhu a věku zvířat na minerální složení mléka nebyl dosud sledován.

2.3.7 **Zdravotní stav zvířat**

Značný vliv na množství a vzájemný poměr minerálních látek v mléce má zdravotní stav dojnic. Chorobné stavy, vedoucí k poruchám sekrece mléka, se projevují především změnami v rovnovážných stavech mezi solemi. Při zánětech mléčné žlázy klesá obsah Ca, K, Mg a P a stoupá obsah Na a Cl. Současně dochází i ke změnám v zastoupení jednotlivých forem solí v mléce, takže se výrazně zhoršují i technologické vlastnosti mléka, zejména sýřitelnost mléka. Leitner et al. (2004) zkoumali mléčnou výtěžnost a složení mléka koz s mastitidou způsobenou stafylokoky. Celkový obsah vápníku v mléce zdravých a mastitidních koz se významně nelišil, ale aktivita Ca^{2+} byla v mléce infikovaných koz mnohem nižší.

Při zánětech mléčné žlázy se významně mění i zastoupení některých stopových prvků. I ostatní zdravotní poruchy však mohou vyvolat změny v množství, případně vzájemných poměrech jednotlivých složek mléka (Kouřimská, 2007).

2.3.8 **Přítomnost strumigenních látek v krmivu**

Na jodový status může mít vliv i obsah goitrogenních látek v krmivu. Třináctý et al. (2001) a Hermansen et al. (1995) prokázali, že řepka, což je rostlina s vysokou koncentrací goitrogenních látek, významně snižuje vstřebávání jódu. Kursa et al. (2000) prokázali, že

přídavek řepkového šrotu v krmivu, spolu s nulovou suplementací jódem způsobil signifikantně vyšší výskyt hypofunkce štítné žlázy u ovcí i jejich jehňat. Hladina jódu v mléce v této skupině byla průměrně 27 ± 15 $\mu g.l^{-1}$. Ve skupině krmené řepkovým šrotem a zároveň suplementované jódem či jódem se selenem, byly obsahy jódu v mléce ovcí 101 ± 41 $\mu g.l^{-1}$ (I) a 70 ± 16 $\mu g.l^{-1}$ (I+Se). V poslední skupině, která byla krmena bez přídavku řepky a zároveň suplementována jódem se selenem bylo nalezeno 198 ± 8 $\mu g \cdot l^{-1}$ jódu v mléce.

Hejtmánková et al. (2006) uvádí významně vyšší obsah jódu v mléce krav, chovaných na farmě, kde v krmivu nebyl obsažen řepkový šrot, než v mléce krav z farem, kde byl řepkový šrot součástí krmiv.

Mezi krmiva se strumigenním účinkem dále patří zelí, hořčice polní nebo leguminózy obsahující glukosinolát. Strumigenní účinky byly také prokázány u nitrátů, derivátů anilinu, p-aminobenzoové kyseliny, fenothiazinu, sulfonamidů, antibiotik, některých pesticidů a insekticidů, polychlorovaných bifenylů či esterů kyseliny ftalové (Herzig et al.,1995).

2.3.9 **Suplementace**

Suplementace je obohacení krmiva minerálními preparáty, u ovcí a koz nejčastěji ve formě lizů, které slouží ke zvýšení nasycenosti organismu zvířat minerálními látkami. Důsledkem vyvážené suplementace jsou zdravější zvířata bez deficitu minerálních látek a také optimální minerální složení mléka.

Suplementace může probíhat různým způsobem – buď se jedná o přímou fortifikaci, tedy zavedením krmiv a potravin se zvýšeným obsahem žádoucích prvků, anebo o fortifikaci agronomickou, kdy se žádoucími prvky obohacuje půda, na které se následně pěstují rostliny, které je přejímají, a takto se prvky dostávají do potravního řetězce. Další možností, která se zvažuje pro zvýšení obsahu selenu, jódu, zinku i železa v potravním řetězci je genetická fortifikace obilovin, která spočívá v geneticky zvýšené schopnosti získávat tyto mikronutrienty z půdy (Lyons et al., 2004)

Suplementace selenem

Suplementace krmiva hospodářských zvířat různými minerálními preparáty je častým předmětem výzkumů. Selenové suplementy jsou buď organické (např. kvasnice) či anorganické (např. seleničitan sodný). Kvasnice se vyrábějí tak, že se specifické druhy kvasinek nechávají růst na substrátech obohacených selenem. Selen se v kvasnicích vyskytuje ve více formách, ale z 54-74 % převažuje selenomethionin (Knowles et al., 1999).

Kvasnice byly schváleny EU jako krmivový doplněk (Official Journal of the European Union, 2006).

Využitelnost minerálních suplementů záleží na jejich formě. Téměř ze všech studií vyplývá, že organické zdroje jsou mnohem lépe využitelné, než anorganické. Ondarza (2001) uvádí, že z anorganických suplementů jsou využitelnější ty ve formě sulfátů než ve formě oxidů.

Ceballos et al. (2009) shrnuli data z mnoha studií zabývajících se selenovou suplementací krav v USA s výsledkem, že organické suplementy mají mnohem větší vliv na zvýšení selenového statusu v mléce, než anorganické, což je ve shodě s publikací Weisse a Hogana (2005).

Pechová et al. (2008a) podávala skupině koz seleničitan sodný a laktátproteinový komplex. Nenalezla ale žádné významné rozdíly v koncentracích selenu v mléce (všechny skupiny, včetně kontrolní měly cca 12-13 $\mu g.l^{-1}$ selenu v mléce). Vysvětluje si to naplněním selenového deficitu organismu tak, že již nedošlo k přenosu selenu do mléka.

V další studii (Pechová et al.,2008b) podávala čtyřem skupinám koz tři různé zdroje selenu – první skupině koz selen vázaný na kvasnice, druhé skupině koz Se-laktát a třetí Se-protein. Poslední čtvrtá skupina koz byla kontrolní. Výsledky ukázaly, že zatímco byl podáván selen ve formě laktátu a proteinu, nevykázalo mléko žádný nárůst obsahu selenu oproti mléku kontrolní skupiny koz bez suplementace (Se-laktát: 13,14 ± 3,54 $\mu g.l^{-1}$; Se-protein: 11,70 ± 3,69 $\mu g.l^{-1}$ a kontrolní skupina: 12,53 ± 3,54 $\mu g.l^{-1}$ selenu v mléce). Přídavek selenu vázaného na kvasnice měl za následek dvojnásobné zvýšení hladiny selenu v mléce (25,90 ± 6,30 $\mu g.l^{-1}$).

Petrera et al. (2009) rozdělili kozy na tři skupiny a provedli pokus se suplementací selenem vázáným na kvasnice a seleničitanem sodným. Třetí skupina byla kontrolní. V mléce koz poté nalezli 23,31 $\mu g \cdot kg^{-1}$ selenu v kontrolní skupině bez suplementu, 31,26 $\mu g \cdot kg^{-1}$ po suplementaci selenem vázáným na kvasnice a 24,82 $\mu g \cdot kg^{-1}$ po suplementaci seleničitanem sodným. Jako v předchozí studii výsledky ukázaly, že nejlépe využitelným zdrojem selenu jsou obohacené kvasnice, což potvrzují i hodnoty nalezené v krevní plazmě a krvi. Největší zvýšení selenomethionimu v krvi bylo zaznamenáno při aplikaci krmiva s obohacenými kvasnicemi.

Kachuee et al. (2013) sledovali efekt organického (L-selenomethionin) a anorganického (seleničitan sodný) selenového suplementu na hladiny Se, Cu, Zn a Fe v krevním séru koz a jejich kůzlat. Zjistili významné zvýšení selenového statusu u obou suplementů oproti kontrolní skupině, ale žádný rozdíl významný rozdíl mezi oběma formami suplementace. Hladina mědi v séru u obou suplementovaných skupin byla zvýšená a naopak hladina zinku oproti kontrolní skupině byla nižší.

Burk et al. (2001) zjistili, že selen získaný ve formě selenomethioninu je snadno zabudovatelný do proteinů. Naopak pro zvýšení selenového statusu ze seleničitanu sodného nemají zvířata efektivní mechanismy a nejsou z něj schopny syntetizovat selenomethionin. Někteří přežvýkavci ale mají v trávicí soustavě některé druhy bakterií, které umožňují zabudovat seleničitany do selenoaminokyselin, včetně selenomethioninu (Schrauzer, 2003).

Shi et al. (2011) publikovali studii, ve které zkoušeli suplementovat kozly mimo seleničitan sodný a selen vázaný na kvasnice také nano-elementárním selenem. Výsledky této formy selenové suplementace se ukázaly být na stejné nebo vyšší úrovni účinnosti jako organické selenové preparáty. Sledován byl průměrný denní přírůstek, sérová glutathion peroxidáza, superoxid dismutáza, kataláza, retence Se v krvi, séru a některých orgánech.

Další studie prokázala vztah selenové suplementace a prevence mastitidy u koz. Po suplementaci seleničitanem barnatým se snížil počet somatických buněk v mléce a nižší byl také výskyt mastitidy. Nebyly ale prokázány žádné rozdíly ve složení mléka (Sanchez, 2007).

Pehrson et al. (1999) se zabývali srovnáním forem selenové suplementace na výskyt selenu v kravském mléce. Ukázalo se, že podání seleničitanu sodného není tak efektivní, jako selenu vázaného na kvasnice. Při aplikaci seleničitanu bylo naměřeno 12,7 $\mu g \cdot l^{-1}$ a při podávání kvasnic 17,3 $\mu g \cdot l^{-1}$ selenu v mléce. Dále zjistili, že koncentrace selenu v krvi, plazmě i mléku koreluje s aktivitou glutathion peroxidázy. Nejvyšší nárůst aktivity zaznamenali v erytrocytech krav suplementovaných selenem vázáným na kvasnice.

Suplementace jódem

Herzig et al. (1999) provedli studii, jejímž předmětem bylo vyhodnotit hladiny jódu v kravském mléce a moči při různých druzích jódové suplementace. První skupina byla kontrolní, bez doplňku jódu a bylo v ní naměřeno 20 ± 5,2 $\mu g.l^{-1}$ jódu v mléce. Další dojnice byly suplementovány jodidem draselným nebo ethylendiamin dihydrojodidem (EDDI), vždy v koncentracích naplňujících 33, 66 a 100 % denní potřeby jódu. Při 33 % denní dávky ve formě KI se stav jódu v mléce zvýšil na 50 ± 15,2 $\mu g.l^{-1}$ a na 37 ± 9,0 $\mu g.l^{-1}$ při aplikaci EDDI. Při 66 % denní dávky ve formě KI se stav jódu v mléce zvýšil na 80 ± 3,0 $\mu g.l^{-1}$ a 64 ± 13,9 $\mu g.l^{-1}$ při aplikaci EDDI. Při 100 % denní dávky ve formě KI se stav jódu v mléce zvýšil na 173 ± 39,3 $\mu g.l^{-1}$ u KI a 121 ± 52,8 $\mu g.l^{-1}$ při podávání EDDI. Prokázal se tedy postupný nárůst hladin jódu v mléce a obdobně i moči dojnic, po zvyšujících se dávkách suplementace. Jodid draselný se ukázal jako efektivnější zdroj jódu. Také bylo prokázáno, že hladiny jódu v mléce a moči spolu silně korespondují.

Trávníček a Kursa (2001) naměřili v mléce ovcí z farem, na kterých je poskytován minerální liz s přídavkem jódu, průměrně 243,3 ± 87,2 $\mu g.l^{-1}$ a z farem, kde nebyl přídavek jódu aplikován, průměrně 47,9 ± 27,8 $\mu g.l^{-1}$ jódu.

Kursa et al. (2005) zjistili velmi významné výkyvy v hladinách jódu, nalezených v kravském mléce z různých farem po celé České republice. Zjištěné rozdíly jsou důsledkem velmi rozdílné saturace dojnic jódem. Autoři naměřili 2,5x vyšší průměrný obsah jódu v mléce, než byl stanoven v mléce před suplementací krmiv jódem. Suplementace krmiv jódem byla v ČR zavedena v letech 1997-1999.

Kaufmann et al. (1998) nalezli v mléce dojnic krmených krmivem bez suplementace 128 $\mu g.l^{-1}$ a po aditivním příjmu jódu na konci pokusu průměrně 472,0 $\mu g.l^{-1}$. Zároveň hodnotili kvalitu mléka po jodové suplementaci. Zjistili, že suplementace nemá žádný vliv na obsah tuku, bílkovin a laktózy v mléce ani na stav hormonů T3 a T4 v séru dojnic.

Nudda et al. (2009) provedli pokus se suplementací krmiva jodidem draselným. V kontrolní skupině koz bez suplementace nalezli 60,1 ± 50,05 $\mu g.l^{-1}$ jódu v mléce. Ve skupině suplementované 0,45 mg KI denně nalezli průměrnou hodnotu jódu v mléce 78,8 ± 55,4 $\mu g.l^{-1}$ a ve skupině koz suplementované 0,90 mg KI denně se hodnota jódu v mléce zvýšila na 130,2 ± 62,0 $\mu g.l^{-1}$.

Trávníček et al. (2010) porovnávali efekt suplementace jódem a selenem obohacené sladkovodní řasy *Chlorelly* ve stádu ovcí. Zvířata rozdělil do čtyř skupin: první skupina ovcí byla krmena 0,7mg I a 0,2mg Se denně, druhá skupina ovcí 0,7mg I a 0,4mg Se denně a třetí 1,3mg I a 0,4mg Se denně. Autoři zjistili následující obsahy jódu v mléce: v první skupině 724,2 ± 485,3 $\mu g.l^{-1}$, v druhé 885,9 ± 460,6 $\mu g.l^{-1}$ a ve třetí 1126 ± 262,5 $\mu g.l^{-1}$.

Nudda et al. (2013) prezentovali studii, ve které suplementovali krmivo koz nízkou a vysokou dávkou jódu ve formě jodidu draselného. Pozorovali zvýšený výskyt volného trijodthyroninu a thyroxinu v krvi sledovaných zvířat.

Todini et al. (2012) našli kladnou korelaci mezi zvýšeným příjmem selenu, jódu a zinku a koncentrací hormonů štítné žlázy v oslím mléce.

Braun et al. (2010) zmiňují vliv minerálních suplementů nejen na zvýšení obsahu konkrétních minerálů v mléce a orgánech, ale také na související markery, např. vliv selenu na zvýšení koncentrace glutathion peroxidázy a thyroidních hormonů, a snížení hladiny kortizolu. Autoři také popisují dramatické zvýšení exkrece sodíku ledvinami v případě zvýšení příjmu chloridu sodného.

Suplementace sladkovodní řasou *Chlorella*

Chlorella je jednobuněčná sladkovodní zelená řasa, tvořená kulovitými buňkami o průměru 3-8 μm. Až 60 % tvoří bílkoviny, které se svým složením více podobají bílkovinám živočišným než rostlinným. Sacharidy, nejčastěji ve formě škrobu, tvoří asi 10 % a tuky 15 %. *Chlorella* obsahuje 6-8 % minerálních látek v suché hmotě řas. *Chlorella* je bohatá zejména na fosfor, draslík, hořčík, vápník a železo. Velmi cenný je i obsah stopových prvků – zinku a selenu. Selen je v buňkách řas nejčastěji chelátově vázán na aminokyseliny. Koncentrace a způsob vazby se dá do značné míry ovlivnit, což otevírá možnost získat biomasu řas s definovaným obsahem požadovaných prvků nebo jejich směsi v přirozené organické formě. Organická vazba zvyšuje biologickou účinnost prvků a optimalizuje jejich využití, které je podstatně vyšší než u anorganických minerálních směsí (Doucha, 1998).

Janczyk et al. (2007) uvádí, že potravinové doplňky s mikrořasami, mezi něž patří i *Chlorella*, hrají roli v prevenci onemocnění spojených s vysokým věkem lidí i zvířat, např. hypertenze a hyperlipidémie. Pavlata et al. (2012) uvedli selenem obohacenou *Chlorellu* jako jeden z možných způsobů selenové suplementace koz. Trávníček et al. (2008) zkoumali obsah selenu v mléce po suplementaci ovcí *Chlorellou* obohacenou o selen. V mléce ovcí hladina selenu korelovala s výší selenem obohaceného chlorellového příkrmu. Trávníček et al. (2010) se také zabývali pozorováním vlivu jódem a selenem obohacené *Chlorelly* na jódový status ovcí a zjistili významné zvýšení jódu v mléce v závislosti na výši chlorellového příkrmu.

2.4 Specifika chovu koz a ovcí v ČR a ve světě

Chov ovcí a koz v České republice se velmi liší od chovu krav. Ovce a kozy jsou zpravidla chované na malých farmách, často rodinných a s malým počtem zvířat. Udává se, že 90 % chovatelů vlastní jen 1-3 zvířata a pokud mléko zpracovávají, tak jen pro vlastní potřebu. Další skupina chovatelů vlastní 4-15 zvířat, takzvané „hobby chovy“. Jedná se většinou o kozy a ovce, které se používají pro spásání těžko dostupných lokalit.

Haenlein (2004) zmiňuje kozu jako zvíře, které je neodmyslitelně spojené s venkovským životem a jeho produkty slouží převážně k domácí výrobě a spotřebě. Připomíná staré rčení, že „koza je krávou chudých“.

Morand-Fehr (2004) i Pandya a Ghodke (2007) shodně uvádějí, že v případě kozího a ovčího mléka je nezanedbatelná část produkce mimo statistiky z důvodu domácí konzumace.

Plemena nemusí být přímo mléčná, ale i v chovech určených primárně pro maso či kožešiny se mléko občas dojí a slouží k rodinné spotřebě, nebo se může dostat na lokální farmářské trhy a do prodejen speciálních potravin.

V poslední době se začínají vyskytovat i větší chovy od desítek až ke stovkám koz ve stádě. Chovatelé mléko zpracovávají buď přímo na farmě, nebo mají své mlékárny a mléko s mléčnými produkty se snaží propagovat a prodávat v obchodních řetězcích. Tyto farmy často usilují o statut ekologického chovu (Mareš, 2009) Vzhledem k boomu ve farmářských trzích a zájmu o lokální potraviny se s produkty kozího a ovčího mléka lze v současnosti setkat stále častěji (Sedlák, 2009).

Tento trend není v Evropě ojedinělý, Morand-Fehr et al. (2007) poukazují například na situaci ve středomořských oblastech, kde tyto malé chovy hrají zásadní ekologickou roli a umožňují výrobu sýrů, které nemohou být vyrobeny v komerčních velkochovech. Tím mají jedinečné postavení na trhu, zejména jako žádané regionální potraviny s chráněným označením původu.

Existují dva hlavní systémy chovu koz a ovcí – pastevní a kryté vnitřní chovy. Mezi těmito dvěma systémy existuje mnoho smíšených systémů, nejčastěji letní pastva s krytým ustájením v zimě nebo střídání chovu venku a uvnitř podle klimatických změn během celého roku. Většinou je pastevní způsob chovu považován za více extenzivní, ale v podstatě je míra intenzifikace velmi proměnlivá. Pastevní způsob chovu se může lišit kvalitou spásaných porostů od kvalitních porostů až po chudé pastviny. Obdobně ve vnitřním chovu záleží na kvalitě krmiv a množství různých nutričních koncentrátů. Studie, která popisuje 8 pokusů s kozami, ovcemi a krávami, shrnuje, že hlavní složky mléka (tuky, bílkoviny, laktóza) a výtěžnost jsou jen nepatrně ovlivněny intenzivním či extenzivním způsobem chovu. Mléko od zvířat chovaných pastevně bylo ale ve většině případů bohatší na vitamíny A a D, poly-nenasycené mastné kyseliny a konjugovanou kyselinu linolovou (Morand-Fehr et al., 2007).

Morand-Fehr et al. (2007) ve své studii farmářům doporučují vzít v potaz požadovanou kvalitu mléka a jeho složení při rozhodování, jaký systém farmaření zvolit.

2.4.1 **Chov koz**

Ve světě je nejrozšířenější chov koz v zemích Asie – Čína, Indie, Pákistán a dále Afriky – Súdán, Etiopie, Somálsko. V jižní Americe se nejvíce koz chová v Brazílii, Mexiku, Bolívii a Argentině. V Evropě patří mezi největší chovatele koz Řecko, Itálie, Španělsko, Albánie a Francie. Francie je největším producentem kozího mléka v Evropě (Kuchtík, 2009).

Středomořské země produkují 18 % z celkové světové produkce kozího mléka (Pandya a Ghodke, 2007).

Morand-Fehr (2004) udává, že stavy koz v posledních 20 letech celosvětově rostou, a to nejen v nízkopříjmových státech (nárůst o 75 %), ale i ve vysokopříjmových státech (nárůst o 20 %). V první polovině 20. století se v mnoha rozvinutých zemích chov koz omezoval z důvodu industrializace zemědělství a v rámci boje proti odlesňování a dezertifikaci, které jsou přičítány příliš intenzivnímu spásání porostů kozami. Tento trend se v druhé polovině 20. století obrátil a od té doby stavy koz stále stoupají. V současnosti jsou kozy třetím nejpočetnějším chovaným zvířetem, hned po skotu a ovcích. Okolo 80 % koz je chováno v nízkopříjmových zemích.

Přestože počet chovaných koz vzrůstá, celková produkce kozího mléka je velmi minoritní, jen 2-2,5 % (Pandya a Ghodke, 2007). Morand-Fehr (2004) ovšem upozorňují, že významná část spotřeby kozího mléka a mléčných produktů se odehrává mimo oficiální statistiky, právě z důvodu menších chovů a domácí spotřeby.

Hlavním produkčním zaměřením chovu koz v České republice je mléčná produkce. Stavy koz od druhé světové války do roku 2003 významně klesaly (ze 1,6 milionu na 12 tisíc) a do roku 2009 mírně stouply na 17 tisíc koz a i nadále mírně rostou. Vznikají nové specializované ekofarmy, nové zpracovatelské manufaktury a zvyšuje se i zájem spotřebitelů o kozí produkty. Přesto se u nás chov koz potýká s mnohými problémy, zvláště nezájmem zpracovatelského průmyslu o kozí mléko, snižováním počtu malochovatelů a stále nedostatečnou propagací kozích produktů mezi spotřebiteli spolu se ztíženým odbytem ve velkých obchodních řetězcích. Proto se hledají jiné způsoby odbytu a propagace, například zaměření farem na agroturistiku s prodejem přímo ze dvora či obchody se zdravou výživou (Kuchtík 2009).

Mezi nejrozšířenější plemena v ČR patří Koza bílá krátkosrstá a Koza hnědá krátkosrstá. Tato dvě plemena tvoří 90% podíl z domácí populace (Mareš, 2009).

Koza krátkosrstá bílá

Mléčné plemeno středního až většího tělesného rámce, bez rohů. Srst je bílá, bez pigmentace. Plemeno je vhodné pro individuální i stádový chov. Hmotnost kozlů je 85 kg, koz 55 kg. Dojivost koz je průměrně 750 kg mléka s tučností 3,7 % a obsahem bílkovin 2,7 % Plodnost je 180-200 %.

Koza krátkosrstá hnědá

Mléčné plemeno středního tělesného rámce se základním hnědým zbarvením a hřbetním černým pruhem. Mulec, břicho a paznehty má černé. Plemeno je odolné a vhodné

pro individuální i stádový chov. Hmotnost kozlů je 80 kg, koz 50 kg. Dojivost průměrně 800 kg s tučností mléka 3,6 % a obsahem bílkovin 2,7 %. Plodnost je 170-190 %.

Dalšími plemeny, která se u nás chovají, jsou koza burská, kašmírová, mohérová a anglonubijská.

Morand-Fehr et al. (2004) zmínili nutnost výzkumu zaměřeného na chov koz ve vyspělých zemích. Výzkum chovu koz by měl dosáhnout úrovně výzkumu věnovanému skotu a ovcím. Navíc je třeba, aby byl efektivnější, tzn. aby lépe odpovídal reálným potřebám chovatelů koz, například užší spoluprací mezi vědci a farmáři.

2.4.2 **Chov ovcí**

Pandya a Ghodke (2007) uvádí, že 66 % světové produkce ovčího mléka pochází ze středozemních zemí. Morand-Fehr et al. (2004) zmiňují ovce jako druhé nejpočetnější chované zvíře ve světě. Počty jsou poměrně vyrovnané ve všech třech skupinách zemí, rozdělených podle příjmu (29 % ve vysokopříjmových, 34 % ve středněpříjmových a 39 % v nízkopříjmových zemích), ale na celkové světové mléčné produkci se ovčí mléko podílí jen 1,5 % (Pandya a Ghodke, 2007).

Po několika letech má chov ovcí v České republice opět rostoucí tendenci. Početní stavy ovcí se zvýšily z 84 104 kusů v roce 2000 na 140 197 kusů v roce 2005, tj. o 66,7 %. Jedním z důvodů tohoto vývoje je změna zaměření chovu z vlnařské na masnou užitkovost. Již delší dobu je chovatelům ovcí v České republice známo, že chov ovcí na produkci vlny je v našich podmínkách nerentabilní. Do roku 1994 byla zlikvidována téměř celá populace ovcí šlechtěných na jednostrannou vlnařskou užitkovost (přitom ještě v roce 1990 byl podíl vlnařských plemen v ČR 63 %). V následujících letech se chov ovcí soustředil na produkci masa. Chovatelé začali preferovat ovce s masnou a kombinovanou užitkovostí. V roce 2005 byl podíl ovcí s kombinovanou užitkovostí 56 %, masnou 36 %, plodnou 6 % a mléčnou 2 % (Štolcová et al. 2006, Suchý et al., 2011).

Z celkového počtu chovaných ovcí se ve světě dojí cca 10 milionů kusů ovcí. Roční produkce ovčího mléka podle statistik FAO činí zhruba 7,8 milionů tun. Ovčí mléko v Evropě a jeho zpracování na sýry získává stále větší oblibu, zajímavá je i ekonomická výnosnost chovaných dojných plemen ovcí (Štolc et al., 2006).

Plemeno **Východofríská ovce** je jediným plemenem ovcí chovaným pro mléčnou užitkovost v České republice. Navzdory nízkému podílu Východofríských ovcí na celkovém počtu ovcí u nás je jejich chov a následná produkce mléka jistým přínosem a zpestřením v lidské výživě. Toto plemeno se již léta využívá ke křížení pro zlepšení plodnosti a mléčnosti

ostatních plemen (Štolc et al. 2006). Plemeno je vhodné i do podhorských oblastí s tvrdšími klimatickými podmínkami a pochází z oblasti německo-holandských hranic. V průběhu celé laktace je nadojeno 500-800 kg mléka.

V České republice převládají 2 plemena ovcí, a to Merino a Romanovská ovce.

Merino je plemeno s vlnařsko-masnou užitkovostí. Plodnost matek se pohybuje od 100 do 150 %. Bahnice dosahují hmotnosti 50-60 kg a berani 100 kg.

Romanovská ovce je mléčné a kožichové plemeno. Plodnost matek přesahuje 200 %, bahnice mívají ve vrhu 2-4 jehňata. Hmotnost ovcí se pohybuje mezi 45-50 kg a beranů 60-70 kg.

Dalšími plemeny, která je možné v některých chovech v České republice spatřit, je Šumavská ovce a Zušlechtěná valaška, které jsou vhodné pro horské oblasti a nově též plemeno Lacaune.

Horská nebo původnější plemena mají mléko tučnější a s větším obsahem sušiny než plemena nížinná a vyšlechtěná na vysokou dojivost (Prokš, 1964).

Požadavky na kvalitu mléka

Se syrovým mlékem musejí výrobci, zpracovatelé i distributoři manipulovat v souladu s postupy, založenými na zásadách HACCP[1] a správné hygienické praxe (Babička et al., 2006).

Požadavky na kvalitu mléka se liší podle zemí. Pro kozí a ovčí mléko to bývají zpravidla přejaté a upravené požadavky pro kravské mléko. Mezi sledované parametry v různých zemích patří obsah mléčných bílkovin a tuku, celkový počet mikroorganismů, počet somatických buněk, imunoglobulin, inhibitory, bod mrznutí a ve Francii navíc lipolýza (Raynal-Ljutovac et al., 2005).

Pro syrové mléko platí přísná hygienická pravidla, například nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č.852/2004, č.1774/2002/ES a č.2073/2005. V kozím a ovčím mléce je u nás limitován pouze celkový počet mikroorganismů. Ten nesmí překročit hodnotu 1 500 000 na ml. Pro výrobu sýrů bez tepelné úpravy potom 500 000 na ml (nařízení Evropského parlamentu a Rady ES č.583/2004). Počet somatických buněk se nezjišťuje (Malá a Švejcarová, 2009).

Limitní hodnoty kontaminujících chemických prvků v kravském mléce podle vyhlášky č. 298/1997 Sb. jsou uvedeny v tabulce 13:

[1] Hazard Analysis and Critical Control Point, v češtině Systém analýzy nebezpečí a kritických kontrolních bodů (Vyhláška č. 147/1998 Sb. O stanovení kritických bodů ve výrobě a uvádění potravin do oběhu).

Prvek	*Pb*	*Cu*	*Cd*	*Zn*	*Hg*	*Ni*	*Al*	*As*
NPM	0,02	0,4	0,01	10,0	0,01	0,1	1,0	0,05

Tabulka 13: *Nejvyšší přípustné množství (NPM) rizikových prvků v mléce v mg.kg^{-1} (Výhláška č. 298/1997 Sb. V současnosti vyhláška upravena vyhláškou 305/2004 Sb., kde až na výjimky není mléko uvedeno, pouze Cd ≤ 0.01mg.kg^{-1}).*

V této práci byl jako jeden z rizikových prvků zhodnocen stav rtuti v kozím mléce na různých farmách. Sloučeniny rtuti patři mezi nejjedovatější látky. Různé formy tohoto prvku (organické i anorganické) se do prostředí dostávají z přírodních i antropogenních zdrojů. Hlavními zdroji rtuti jsou zvětrávání a sopečná aktivita. Kromě těchto přírodních pochodů hraje stále větší roli průmyslové znečištění. Těkavá rtuť, která je produktem exhalací, zvětrávání a sopečné činnosti, je z atmosféry vymývána srážkami a hromadí se ve vodách a půdách, kam se také dostává z průmyslových vod. V sedimentech dochází k alkylaci anorganických forem rtuti za vzniku organokovových sloučenin, které se kumulují v organismech a zasahují potravní řetězec. V této formě rtuť nejčastěji vstupuje do lidského těla (Komárek a Červenka, 2006).

Toxické účinky sloučenin rtuti jsou dány jejich molekulovou strukturou, stabilitou, cestami biotransformace a rychlostí vylučování. Rtuťnaté sloučeniny poškozují ledviny a střevní trakt. Páry rtuti rozpustné v tucích, při vdechování způsobují bolest hlavy, zánět močového měchýře a poškození CNS (Komárek a Červenka, 2006).

Stanovením maximálních limitů některých kontaminujících látek v potravinách se zabývá Nařízení komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) v roce 2004 schválil maximální týdenní příjem rtuti a methylrtuti v potravinách 1,6 μg.kg^{-1} tělesné hmotnosti. V potravinách s výjimkou ryb a produktů rybolovu se však rtuť vyskytuje především v jiných formách než jako methylrtuť.

Park et al., (2007) publikovali poznatek, že ovčí mléko je mnohem náchylnější ke kontaminaci olovem, kadmiem a platinou, než mléko kravské. Tyto polutanty se do mléka dostávají nejvíce z pastvin, které se nacházejí v blízkosti frekventovaných silnic.

3 HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE

Na základě literární rešerše byly stanoveny následující hypotézy:

- Kozí a ovčí mléko se liší v obsahu selenu a jódu
- Hladiny selenu a jódu v kozím a ovčím mléce vykazují závislost na ročním období
- Hladiny Ca, Mg, Zn, Se, I a Cu vykazují závislost na fázi laktace
- Plemeno a rodová linie mají vliv na obsah selenu a jódu v mléce
- Příkrm sladkovodní řasou *Chlorella* má vliv na obsah Se, Zn a I v kozím mléce

Cílem předkládané disertační práce je posouzení vlivu některých vnějších a vnitřních faktorů na vybrané majoritní, minoritní a stopové prvky kozího a ovčího mléka se zvláštním důrazem na stanovení selenu a jódu.

Dílčí cíle disertační práce jsou:

- Optimalizovat a validovat mikrovlnnou mineralizaci jako způsob rozklad vzorků pro stanovení sledovaných prvků metodou AAS
- Vyvinout a validovat metodiku pro stanovení selenu v mléce
- Stanovit a porovnat obsahy selenu a jódu v kozím a ovčím mléce z různých farem v České republice.
- Posoudit vlivy ročního období a fáze laktace na obsah selenu a jódu v kozím a ovčím mléce
- Posoudit vlivy plemene a rodové linie na obsah selenu a jódu v kozím a ovčím mléce
- Sledovat distribuci selenu a jódu mezi plným mlékem a syrovátkovou frakcí v kozím mléce a distribuci jodu v ovčím mléce

- Sledovat vliv dostupného minerálního suplementu na obsah selenu a jódu v kozím mléce
- Porovnat vliv dvou rozdílných způsobů chovu – intenzivního a extenzivního – na obsahy vápníku, hořčíku, zinku, mědi, selenu a jódu v kozím mléce
- Posoudit vliv příkrmu sladkovodní řasou *Chlorella* na obsah selenu, zinku a jódu v kozím mléce
- Stanovit obsah rtuti v kozím mléce
- Sledovat vzájemné korelace sledovaných prvků v kozím a ovčím mléce

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Vzorky mléka

Vzorky syrového kozího a ovčího mléka byly odebrány přímo na různých farmách v České republice nebo byly získány ve spolupráci s Výzkumným ústavem mlékárenským. Vzorky mléka jsou rozděleny podle tematického zaměření prováděných pokusů.

Pokus č. 1 (r. 2008): - Monitoring obsahu vybraných prvků v ovčím mléce, sledování distribuce jódu v mléce

Ovčí mléko pocházelo ze šesti farem ve středních a východních Čechách. Charakteristika farem:

Farma A:

Malá rodinná farma, stádo o 30 kusech, z toho 12 bahnic, ne starších než 3 roky. Plemeno Merino. Ustájení: celoročně venku, pastva s volným vstupem do chléva. Krmení: pastva, tvrdé pečivo, příkrm krmnou řepou, jablky, k dispozici seno, sláma, volný přístup k vodě.

Farma B:

Malá rodinná farma, stádo o 25 kusech, z toho 8 bahnic, ne starší než 4 roky. Plemeno Merino. Způsob chovu: celoročně venku, pastva s možností vstupu do přístřešku, stádo na noc v chlévě. Krmení: pastva, tvrdé pečivo, sláma, výjimečně jablka.

Farma C:

Malá rodinná farma, stádo o 15 kusech, z toho 6 mladých bahnic ve věku 2-3 roky, plemeno Merino. Způsob chovu: v letním období ovce celodenně na pastvě, na noc zaháněny do stáje, v zimním období dle příhodnosti počasí přes den venku, jinak nepřetržitě ve stáji. Krmení: pastva, jádro, minerální lizy, seno, sláma, šrot, okopaniny, tvrdé pečivo, příkrm krmnou řepou, jablky.

Farma D:

Malá rodinná farma, stádo o 20 kusech, z toho 8 bahnic ve věku 3 roky, plemeno Romanovská ovce. Způsob chovu: venku na pastvě s možností přístřešku, v zimě ustájené. Krmení: pastva, napajedlo, jádro, minerální lizy, k dispozici seno, sláma, tvrdé pečivo, krmná řepa, jablka, kukuřice, okopaniny, šrot.

Farmy A, B, C, D jsou lokalizovány ve středních Čechách, hlinitopísčité až písčité půdy, typická plodina brambory, nadmořská výška 400-600 m. Vzorky byly získány dojením vždy stejných zvířat v průběhu celého roku 2008. Ovce měly laktaci 2x ročně. 1. laktace od 4. měsíce v roce, 2. laktace od 9. měsíce.

Farma E:

Velká komerčně zaměřená farma s 300 bahnicemi a 100 jehňaty, plemeno Východofríská ovce. Ovce byly přes léto celodenně na pastvě, v zimě ustájené a krmené senem a jádrem. Ovce měly k dispozici melasovaný minerální liz pro ekologické chovy Natumel od firmy Iframix s obsahem jódu 110 $mg.kg^{-1}$ a selenu 45 $mg.kg^{-1}$. Ostatní prvky byly v následujícím zastoupení: fosfor 5 %, vápník 15 %, hořčík 5 %, sodík 3 %, zinek 6700 $mg.kg^{-1}$, mangan 5600 $mg.kg^{-1}$, kobalt 35 $mg.kg^{-1}$. Liz obsahoval vysoký obsah řepné melasy (27 %) a vysoký obsah selenu, avšak neobsahoval měď.

Farma F:

Plemeno Východofríská ovce. Ovce jsou chovány pastevním způsobem. Z této farmy bylo odebráno 5 vzorků mléka a 5 vzorků syrovátky, pro porovnání minerálního složení různých frakcí mléka. Odebírány byly bazénové vzorky mléka a syrovátky v časových intervalech 1 měsíce.

Pokus č. 1 a 2 (rok 2008) - Monitoring obsahu vybraných prvků v kozím mléce, sledování distribuce selenu, jódu a zinku v mléce

Kozí mléko pocházelo z farem ve východních a jižních Čechách. Všechny se specializovaly na chov plemen koza krátkosrstá bílá a koza krátkosrstá hnědá.

Charakteristika farem:

Farma A:

Velká komerčně zaměřená farma, chová se zde asi 400 koz a 150 kůzlat. Mléko se zpracovává přímo na farmě na různé mléčné produkty a také se prodává. Farma provozuje agroturistiku. Plemeno koza krátkosrstá hnědá a koza krátkosrstá bílá. Všechny vzorky představují individuální nádoj od jednotlivých zvířat. Kozy jsou chovány celoročně ve stáji s možností výběhu. V létě jsou krmeny senem a jádrem, v létě senem a zeleným krmením z okolních luk. Kozy měly k dispozici melasovaný minerální liz pro ekologické chovy Natumel od firmy Iframix s obsahem jódu 110 $mg.kg^{-1}$ a selenu 45 $mg.kg^{-1}$. Ostatní prvky byly v zastoupení: fosfor 5 %, vápník 15 %, hořčík 5 %, sodík 3 %, zinek 6700 $mg.kg^{-1}$, mangan 5600 $mg.kg^{-1}$, kobalt 35 $mg.kg^{-1}$. Tento liz má vysoký obsah řepné melasy (27 %) a vysoký obsah selenu avšak neobsahoval měď. Kozí farma A a ovčí farma E jsou jedna farma, používající stejný minerální liz pro ovce i kozy.

Farma B:

Velká komerčně zaměřená farma s 590 kozami plemene koza krátkosrstá bílá. Farma se specializuje na produkci kozích bioproduktů a také provozuje agroturistiku. Široká škála kozích výrobků od jogurtů až po sýry je vyráběna v mlékárně, která je součástí farmy. Kozy jsou chovány ve stáji s výběhem a krmeny senem, slámou, ovsem, pšenicí, ječmenem. V létě krmení pokosenou trávou z okolních luk. Kozy měly k dispozici minerální liz ML7 od firmy Mikrop Čebín s obsahem jódu 135 $mg.kg^{-1}$ a selenu 15 $mg.kg^{-1}$. Ostatní prvky byly v zastoupení: vápník 100 $g.kg^{-1}$, fosfor 35 $g.kg^{-1}$, sodík 115 $g.kg^{-1}$, hořčík 30 $g.kg^{-1}$ mangan 850 $mg.kg^{-1}$, zinek 3900 $mg.kg^{-1}$, kobalt 10 $mg.kg^{-1}$, měď 0 $mg.kg^{-1}$. Minerální liz dále obsahoval vitamíny A, D3 a E v množstvích 100 m. j./kg, 20 m. j./kg 300 $mg.kg^{-1}$ v uvedeném pořadí. Odebráno bylo 12 vzorků mléka a syrovátky v měsíčních intervalech.

Farma C:

Farma lokalizovaná v jižních Čechách, specializující se na chov koz a výrobu produktů z kozího mléka, které prodává přímo na farmě. Farma se orientuje na agroturistiku. Plemeno koza krátkosrstá bílá. Odebráno bylo 19 vzorků mléka a syrovátky, v časových intervalech jednoho měsíce. Kozy byly chovány ve stáji s možností výběhu po celý rok. Krmení sestávalo v létě převážně z pastvy. Po celý rok dostávaly kozy seno a mačkané obilí (oves, ječmen). K dispozici měly minerální liz Biosaxon od firmy Salinen. Liz obsahoval 120 $mg.kg^{-1}$ jódu ve formě $Ca(IO_3)_2$ a 30 $mg.kg^{-1}$ selenu ve formě Na_2SeO_3. Dále liz obsahoval 33,6 % sodíku, 2,4 % hořčíku, 2,2 % vápníku 1,3 % fosforu. Ze stopových prvků obsahoval 5000 $mg.kg^{-1}$ zinku, 1500 $mg.kg^{-1}$ manganu a 30 $mg.kg^{-1}$ kobaltu.

Pokus č. 3.(rok 2010) - Porovnání dvou rozdílných způsobů chovu koz

Další vzorky kozího mléka byly získány v průběhu roku 2010. Jedná se o vzorky mléka ze dvou kozích farem ve východních Čechách, které se lišily způsobem chovu. Na farmě A chov probíhal intenzivním způsobem – kozy byly chovány poblíž farmy a měly snadný a neomezený přístup ke krmivu, vodě a minerálním lizům. Na farmě B byly kozy chovány extenzivním způsobem na velkých plochách. Přístup k vodě a minerálním lizům byl pouze na jednom místě.

Farma A: Malý rodinný chov o pěti kozách, slouží k samozásobení rodiny a sousedů mlékem. Mléko také zpracovávají na jogurty a sýry. Vzorky byly odebírány od dubna do října 2010 každých 14 dní. Odebráno bylo 60 vzorků v průběhu celé laktační sezony.

Na farmě je chováno plemeno koza krátkosrstá hnědá. Laktace probíhala pouze jednou ročně a započala na začátku dubna. Byl sledován počet mláďat, pořadí laktace, rok narození a

rodová linie. Dojení probíhalo dvakrát denně. Krmení sestávalo z volné pastvy, lučního sena, ovsa a ječmene. Kozy měly k dispozici minerální a bílkovinný koncentrát BMK TEX 1 s hodnotami na 1 kg: jód 40 mg, Se 0,1 mg, Zn 320 mg, dále obsahuje 1,1 % Ca, 0,8 % P, 1 % Na, 1,2 % Mg, 120 mg Cu, 230 mg Mn, 18 mg Co, 30 000 m.j.vitamínu A, 3 000 m.j. vitamínu D a 45 mg vitamínu E. Kozy měly k dispozici také neminerální preparát Energie MG.

Farma B:

Malý zájmový chov o 30 kusech, určený pro spásání těžko dostupných lokalit v Krkonoších. Mléko je rodinou dojeno dvakrát denně a zpracováváno na mléčné produkty, zvláště sýry. Vzorky byly odebírány od začátku do konce laktační sezony, od dubna do října 2010 každých 14 dní, vždy při ranním dojení.

Odebráno bylo celkově 60 vzorků. Na farmě je chováno plemeno koza krátkosrstá bílá a koza krátkosrstá hnědá. Byl sledován také rok narození zvířat. Krmení sestávalo z volné pastvy a minerálních lizů SOLSEL-Liz solný minerální bez mědi (jod ve formě jodičnanu vápenatého 100 $mg.kg^{-1}$, selen ve formě seleničitanu sodného 20 $mg.kg^{-1}$, zinek ve formě oxidu zinečnatého 1000 $mg.kg^{-1}$, mangan ve formě oxidu manganatého 1000 $mg.kg^{-1}$, kobalt ve formě monohydrátu uhličitanu kobaltnatého 20 $mg.kg^{-1}$, sodík 37 %, vápník 1,1 % a hořčík 0,6 % ve formě uhličitanu hořečnato-vápenatého, fosfor 0 %).

Pokus č. 4 (rok 2010) – Studium vlivu příkrmu sladkovodní řasou *Chlorella* na obsah selenu, jodu a zinku v kozím mléce

Pokus č.4 byl zaměřen na sledování vlivu příkrmu sladkovodní řasou (*Chlorella sp.*) na obsah selenu, zinku a okrajově jódu v kozím mléce.

Kozí mléko pochází z farmy v severních Čechách. Kozy byly plemene krátkosrstá bílá v druhé nebo třetí laktaci. Kozy byly rozděleny do tří skupin. První skupina byla kontrolní, všechny kozy ve 2. skupině byly přikrmovány 5 g řasy *Chlorelly* denně a všechny kozy 3. Skupiny byly přikrmovány 10 g řasy *Chlorelly* denně. Kozy ve všech skupinách byly dále shodně krmeny travní siláží, senem a v pastevním období pastvou. Objemná krmiva včetně minerálních doplňků byly kozám k dispozici *ad libitum*. Kozy byly dále krmeny přídavkem koncentrovaného krmiva upraveného mačkáním ve složení 50 % ovsa, 25 % pšenice a 25 % kukuřice. Přídavek pro jednu kozu činil 0,3 kg na jedno dojení. Byly provedeny 4 odběry v průběhu jara 2010. Při prvních dvou odběrech vzorků mléka byly kozy krmené senáží, při třetím a čtvrtém odběru vzorků mléka byly kozy na pastvě. *Chlorella* pocházela z kontrolovaných kultur v solárních bioreaktorech Mikrobiologického Institutu Akademie věd

ČR v Třeboni. Živné medium pro kultivaci řas nebylo obohaceno sledovanými prvky, obsahy sledovaných prvků v řase nejsou známy. Odběry vzorků mléka byly střídavě ranní a večerní (1. a 3. ranní, 2. a 4. večerní).

Pokus č. 5. (rok 2008) – Monitoring vybraných prvků v kravském bio mléce

Vzorky kravského bio mléka pochází z ekologických chovů z osmi různých farem na území ČR (1 farma v jihomoravském kraji, 1 farma v jihočeském kraji, 5 farem ve středních Čechách a 1 farma v severních Čechách). Vzorky byly odebírány jedenkrát měsíčně od března do září během roku 2008. Vzorky byly dodávány VÚM bez dalšího určení, zcela anonymně.

4.1.1 Způsob odběru vzorků

Všechny vzorky mléka byly odebrány do čistých plastových vzorkovnic. Mléko od jednotlivých zvířat nadojením přímo do vzorkovnice, bazénové vzorky odběrem z cisterny. Odběr vzorků proběhl podle zásad, které jsou uvedeny v příslušných normách tak, aby nedošlo k jejich kontaminaci nebo znehodnocení (Nařízení ES č. 853/2004, č.178/2002 a č.852/2004).

Po odebrání byly vzorky zchlazeny na 4 °C a poté co nejdříve zamrazeny a celou dobu skladovány při teplotě -20 °C. Pro vlastní stanovení byly vzorky šetrně rozmraženy ve vodní lázni při teplotě 20 °C a následně homogenizovány (AOAC 1990).

Pro stanovení jódu bylo použito čerstvé mléko, pro stanovení selenu, zinku, vápníku, hořčíku, mědi a rtuti bylo mléko předem lyofilizováno na přístroji LYOVAC GT 2 (Steris). Po lyofilizaci byly vzorky homogenizovány a skladovány ve vzduchotěsných plastových sáčcích při teplotě -20 °C až do doby analýzy. Hodnoty všech naměřených prvků jsou vztaženy na tekuté syrové mléko.

4.2 Statistické zhodnocení

Všechny vzorky byly měřeny ve třech paralelních opakováních. Výsledky byly zpracovány v programu Microsoft Excel a statisticky zhodnoceny v programech Statgraphics (StatPoint, Inc.) a R Studio. Průměrné obsahy jednotlivých prvků v různých vzorcích mléka byly porovnány pomocí ANOVA (jednofaktorová, dvoufaktorová) a t-testu. Vzájemné korelace mezi obsahy jednotlivých prvků v mléce byly testovány pomocí Pearsonova korelačního koeficientu a regrese pomocí testu Standardní lineární regrese. K testování normálního rozložení dat byl použit Scatterplot a jako post-hoc test byl použit Tukey HSD test.

4.3 Stanovení zinku, vápníku a hořčíku

4.3.1 Princip plamenové AAS

Plamenová AAS pro vznik volných atomů (tzv. atomizaci) používá plamen, do kterého je přiváděna směs plynů, předmíchaná v mlžné komoře. Směs hoří ve štěrbinovém hořáku, který je přes mlžnou komoru spojen se zamlžovačem zkoumaného vzorku. Jako palivo se nejčastěji používá acetylen, propan nebo vodík. Jako oxidovadlo slouží vzduch, ve směsi s acetylenem může být oxidovadlem i oxid dusný. Nejběžnější je plamen acetylen – vzduch, pro vysoké teploty je nutný plamen acetylen – oxid dusný Roztok vzorku, který je ve formě aerosolu pomocí zmlžovače vnášen do plamene, podléhá následujícím změnám: nejdříve je odpařeno rozpouštědlo za vzniku částeček suché soli. Tato sůl je vypařena do plynného stavu ve formě molekul. Část nebo všechny plynné molekuly jsou v plameni disociovány a redukovány na volné neutrální atomy. Část neutrálních atomů může podléhat ionizaci, která je pro metodu AAS nežádoucí, lze však různými způsoby potlačit. Volné atomy v základním stavu absorbují záření. (Černohorský a Jandera, 1997; Komárek, 2000).

4.3.2 Příprava vzorků k analýze

Vzorky mléka pro stanovení vápníku, hořčíku a zinku metodou plamenové AAS byly připraveny mineralizací na suché cestě. Homogenizované vzorky rozmraženého mléka byly naváženy s přesností 0,001 g do kádinek o objemu 50 ml. Navážka byla cca 5 g vzorku. Poté byly vzorky vysušeny v sušárně při teplotě 105 °C, kde proběhla i částečná karamelizace.

Usušené vzorky byly v kádinkách přikrytých hodinovými sklíčky umístěny na topnou desku, která byla nastavena na teplotu 180 °C. Po hodině byla teplota zvýšena na 240 °C a po další hodině na 300 °C a vzorky byly zuhelnatěny při této teplotě po dobu jedné hodiny. Poté byly kádinky, stále přikryté hodinovými sklíčky, umístěny do chladné muflové pece a byly zpopelňovány nejdříve při teplotě 300 °C 30 minut. Dále probíhalo zpopelnění takto:

350 °C	60 minut
400 °C	30 minut
450 °C	30 minut
500 °C	přes noc

Druhý den ráno byla pec vypnuta, kádinky byly ponechány k vychladnutí, popel byl zvlhčen minimálním množstvím 1,5 % HNO_3 a do každé kádinky byl přidán 1 ml koncentrované HNO_3. Poté byly kádinky umístěny na topnou desku zahřátou na 130 °C a HNO_3 byla odkouřena a vzorek vysušen zvýšením teploty na 160 °C.

Kádinky obsahující suchý zbytek byly přeneseny zpět do muflové pece (bez sklíček) a obsah se nechal dopálit při teplotě 500 °C po dobu 1 hodiny. Poté byla pec vypnuta a k ochlazenému bílému popelu bylo přidáno do 10 ml 1,5 % HNO_3 a popel byl ponechán k vyloužení cca 15 minut. Kádinky byly přeneseny na pět minut do ultrazvukové lázně k urychlení rozpouštění popela. Získaný mineralizát byl kvantitativně přenesen do kalibrovaných zkumavek, doplněn 1,5 % HNO_3 na objem 20 ml, zkumavky byly uzavřeny parafilmem a mineralizát byl důkladně promíchán.

4.3.3 **Podmínky stanovení zinku**

Vlastní stanovení zinku probíhalo na přístroji Varian SpectrAA 110. Jako palivo pro plamen byl použit acetylen, jako oxidovadlo vzduch. Složení plamene při stanovení zinku bylo C_2H_2 (průtok 1,7 $l.min^{-1}$) a vzduch (průtok 14,0 $l.min^{-1}$). Jako zdroje záření bylo použito výbojky s dutou katodou Photron, plněné neonem. Stanovení bylo provedeno při vlnové délce λ=213,9 nm a šířce spektrálního intervalu 1,0nm s korekcí pozadí pomocí kontinuálního záření deuteriové výbojky. Ke kalibraci byl použit standardní roztok Astasol o koncentraci Zn 1000 $mg.L^{-1}$, srovnávací roztok pro měření zinku o koncentraci 1 $mg.L^{-1}$ byl připraven postupným ředěním.

4.3.4 **Podmínky stanovení vápníku a hořčík**

Vlastní stanovení vápníku a hořčíku probíhalo na stejném přístroji a se stejným palivem jako pro stanovení zinku. Složení plamene při stanovení vápníku a hořčíku bylo C_2H_2 (průtok 1,7 $l.min^{-1}$) a vzduch (průtok 14,0 $l.min^{-1}$). Zdrojem záření byla výbojka s dutou katodou Photron, plněná neonem.

Stanovení vápníku a hořčíku probíhalo na stejném přístroji a se stejným palivem jako pro stanovení zinku. Složení plamene při stanovení vápníku a hořčíku bylo C_2H_2 (průtok 1,7 $l.min^{-1}$) a vzduch (průtok 14,0 $l.min^{-1}$) Jako zdroj záření byla použita výbojka s dutou katodou Photron pro Ca a Mg plněná neonem. Stanovení bylo provedeno při vlnové délce λ = 422,7 nm pro vápník a λ = 285,2 nm pro hořčík a šířce štěrbiny 1,0 nm, Hořčík byl změřen s korekcí pozadí pomocí kontinuálního záření deuteriové výbojky, vápník bez korekce pozadí (od vlnové délky 350nm se korekce pozadí pomocí deuteriového kontinua nepoužívá). Ke kalibraci byl použit srovnávací roztok o koncentraci 10 $mg.l^{-1}$ pro měření vápníku, a roztok o koncentraci hořčíku 1 $mg.l^{-1}$ k měření hořčíku. K potlačení interferencí fosforečnany při měření vápníku a hořčíku se při měření v plameni acetylen - vzduch používá přebytek lanthanu. Roztok lanthanu byl připraven rozpuštěním 31,2g $La(NO_3)_3 \cdot 6H2O$ v 1,5% HNO3.

Musí být velký přebytek kyselého prostředí, jinak dochází k hydrolýze lanthanu. Srovnávací roztok o koncentraci 10 $mg.l^{-1}$Ca a $1mg.l^{-1}$ Mg se připravuje v roztoku lanthanu o koncentraci 1500 $mg.l^{-1}$.

4.4 Stanovení selenu

Dílčím cílem této práce bylo optimalizovat a validovat metodiku stanovení selenu. Z tohoto důvodu docházelo postupně k experimentálním obměnám metodiky. Závěrem byl vypracován a validován optimální postup stanovení selenu v mléce a syrovátce. Selen byl změřen pomocí atomové absorpční spektrometrie (AAS) s hydridovou technikou, protože je to prvek, který je schopen tvořit těkavé hydridy. Vzorky byly připraveny mikrovlnnou mineralizací.

4.4.1 Princip hydridové techniky

Hydridová technika spočívá v selektivním převedení analytu z kapalné do plynné fáze za vzniku těkavé sloučeniny. Výhodami této metody je nakoncentrování analytu a jeho separace od matrice. To vede k vysoké citlivosti a k významnému potlačení interferencí při atomizaci. Nejčastěji generované těkavé sloučeniny jsou kovalentní binární hydridy As, Bi, Ge, Pb, Se, Sb, Sn a Te. (Černohorský a kol., 2006).

Analyt musí být převeden do anorganické formy s optimálním oxidačním číslem a matrice musí být co nejlépe rozložena. V případě selenu je nutná předredukce. Generování hydridů spočívá v uvolnění hydridu z roztoku vzorku a v transportu uvolněného hydridu proudem nosného plynu do atomizátoru.

Přeměně analytu na hydrid se prakticky výhradně dosahuje redukcí tetrahydridoboritanem sodným v kyselém prostředí, čímž dochází k postupné hydrolýze tetrahydridoboritanu na kyselinu boritou a vodík (z 1g $NaBH_4$ vznikne asi 2,4l vodíku). Analyt je plynným vodíkem redukován na příslušný hydrid a ten přechází do plynné fáze. Za správně zvolených podmínek a v nepřítomnosti interferentů jsou hydridy uvolněny s účinností blížící se 100% (Dědina, 2006).

Reakční směs je dále vedena do separátoru fází, kde se rozděluje na plynnou fázi (nosný plyn s hydridem), která postupuje dále do atomizátoru, a kapalnou fázi, která jde do odpadu (Száková a Kolihová, 2006).

K transportu hydridu do atomizátoru se používá jako nosného plynu argonu nebo dusíku. V atomizátoru je hydrid převeden na volné atomy. Hydridy jsou atomizovány interakcí s vysoce energetickými vodíkovými radikály, nikoli termicky. Pro AAS jsou

v současnosti nejrozšířenější křemenné atomizátory a „in situ“ kolekce v grafitových atomizátorech (Dědina, 2006).

Optimální teplota pro atomizaci As, Bi, Pb, Se, Sn a Te v křemenném atomizátoru je 800-1100°C. Vodík je přítomen ve velké koncentraci, zatímco kyslík pochází většinou pouze z roztoku. I nepatrné množství kyslíku však stačí k atomizaci při 1000°C, při 800°C je však nutné kyslík přimíchávat (Komárek, 2000).

4.4.2 **Příprava vzorků k analýze**

Lyofilizované vzorky mléka byly naváženy do teflonových váženek. Navážka činila zprvu 500 mg. Obsah byl vložen do tlakových teflonových nádob i s navažovací nádobkou, nejdříve najednou, ale pro lepší proreagování s činidly se ustálilo pravidlo, že vzorek bude nejdřív vysypán a nádobka vhozena až po přidání činidel. Do teflonových nádob byly dále přidány 2 ml koncentrované HNO_3 a 3 ml H_2O_2 (30%), obojí v čistotě p.a. Obsah byl promíchán a ponechán zprvu 60 minut reagovat. Postupně se došlo k závěru, že je lépe navažovat méně, maximálně do hranice 300 mg a nechat směs reagovat přes noc. Často totiž docházelo k příliš prudké reakci při mineralizaci, která měla za následek prudké zvýšení tlaku a proražení tlakové pružiny v mineralizátoru. Snížením navážky se četnost proražení pružin snížila na velmi výjimečné případy.

Nádobky byly poté umístěny do mikrovlnného mineralizátoru MW-3^+ Speedwave (Berghof) a spuštěn program pro rozklad mléka:

5 minut zahřívání na 140 °C

5 minut držení teploty 140 °C

5 minut zahřívání na 170 °C

10 minut držení teploty na 170 °C

5 minut zahřívání na 190 °C

10 minut držení teploty 190 °C

Postupné ochlazení

Ke kontrole průběhu mineralizace byly zaznamenávány teploty nádobek vždy po prvních pěti minutách mineralizace a poté nejvyšší dosažené teploty.

Mineralizáty byly kvantitativně převedeny do kádinek a odpařovány na horké desce z počáteční teploty 140 °C do konečné teploty 125 °C do vlhkého zbytku. Po ochlazení kádinek na laboratorní teplotu byl do každé přidán 1 ml demineralizované vody a 1 ml kyseliny mravenčí. Poté byly do kádinek přidány další 2 ml demi vody a 3 ml koncentrované HCl. Kádinky byly znovu přeneseny na horkou desku, ohřátou na 100 °C a roztok byl ohříván cca

20 minut, přičemž došlo k redukci zbytků HNO_3 a jiných organických zbytků. Tato reakce může být bouřlivá. Závěrem byly mineralizáty kvantitativně převedeny do plastových zkumavek se šroubovacím uzávěrem a doplněny HCl (10%) na objem 12 ml.

4.4.3 Vlastní měření selenu

Analyt musí být převeden do anorganické formy s optimálním oxidačním číslem. V případě selenu, který je výsledkem tepelného rozkladu vzorku v oxidačním prostředí přítomen zpravidla jako šestimocný, je nezbytná předredukce, protože není z této formy redukovatelný na hydrid.

Předredukce spočívá v zahřívání vzorku spolu s koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou, při kterém se selen redukuje na formu s oxidačním číslem IV. Přítomnost jodidu draselného či kyseliny askorbové, které se používají k předredukci např. As či Sb, je při generování selanu zcela nežádoucí, protože vede k jejich redukci až na elementární formy (Száková a Kolihová, 2003).

Z této formy je možné vygenerovat selan působením tetrahydridoboritanu sodného ($NaBH_4$) v kyselém prostředí. Uvolněný hydrid je transportován proudem nosného plynu do atomizátoru. Zachycený analyt je atomizován analogicky jako při klasickém dávkování kapalných vzorků (Száková et al. 2005).

Vlastní stanovení selenu bylo provedeno metodou atomové absorpční spektrometrie technikou generování hydridů, na přístroji Varian SpectrAA 280Z Atomic Absorption Spectrometer, s křemenným atomizátorem. Měření bylo provedeno při vlnové délce λ= 196,0 nm. Hydridy byly generovány za pomoci generátoru hydridů Varian VGA 76 a vzorky byly dávkovány automatickým dávkovačem Varian SPS 3. Selen byl změřen bez korekce pozadí, technikou kalibrační křivky, která byla sestrojena za pomoci 5 srovnávacích roztoků Astasol (Analytica) v rozsahu 0-10 $\mu g.l^{-1}$.

4.5 Stanovení mědi

4.5.1 Princip ETA-AAS

Princip spektrofotometrických metod byl popsán v kapitole FA-AAS. Atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací se od plamenové AAS liší tím, že se k atomizaci používají grafitové trubice vyhřívané elektrickým proudem, neboli grafitové pece. Touto pecí prochází záření (Klouda, 2003).

Hlavní rozdíl mezi atomizací v plameni a v grafitové kyvetě lze spatřovat ve složení plynné fáze, do které částice vstupují. Zatímco u plamenových atomizátorů je atmosféra dána spalnými produkty používaných plynů, u grafitových atomizátorů se jedná o inertní

argonovou atmosféru, která spolu s redukčními vlastnostmi grafitu zajišťuje dobré atomizační podmínky pro většinu analytů. Další rozdíl obou technik lze spatřovat v době setrvání atomů v absorpčním prostředí. Zatímco v plameni se jedná o následně rychlé děje, do grafitové kyvety jsou dávkována jednorázově konstantní množství vzorků a v oddělených postupných krocích jsou termicky zpracovávána (Sysalová, 2006).

Vzorek se vnáší na nosnou podložku – platformu. V ochranné atmosféře argonu nejdříve dojde odpařením rozpouštědla k vysušení, poté se rozloží matrice a po prudkém zahřátí nastane vlastní atomizace analytu. Výhoda oproti plamenové AAS je možnost snížení nepříjemných interferencí, které způsobuje přítomnost matrice a rozpouštědla. Dalším rozdílem je forma signálu – při plamenové atomizaci je stálý, zatímco při elektrotermické atomizaci je signál přechodový ve tvaru obvykle nesymetrického pulzu. (Dědina, 1987).

Černohorský a Jandera (1997) jako výhody popisují možnost analýzy v koncentracích mikrogramů na litr, kdežto při plamenové atomizaci je možno analyzovat látky v koncentracích miligramů na litr. Bezplamenové atomizátory umožňují dosáhnout podstatně vyšší okamžité koncentrace volných atomů v plynné fázi, než dovoluje plamen. Potřebné množství vzorku je velmi malé a stanovení velmi citlivé.

4.5.2 **Vlastní stanovení mědi**

Stanovení mědi bylo provedeno na stejném přístroji jako selen, ale metodou elektrotermické atomizace s pomocí modifikátoru. Modifikátory jsou chemické látky, které se přidávají do měřených roztoků ve vysokých koncentracích za účelem zabránit ztrátám analytu či změnit těkavost nežádoucích složek matrice vzorku (Sysalová, 2003). Cílem modifikování matrice je zajištění shodné (nebo fyzikálními vlastnostmi blízké) formy analytu, případně matrice vzorku, pro reálné vzorky a kalibrační standardy. Jako modifikátory matrice obvykle označujeme látky, které jsou schopny ovlivnit průběh fáze sušení, termické úpravy nebo vlastní atomizační mechanismus (Černohorský, 2006).

Vzorky byly převedeny do roztoku stejným způsobem jako v případě selenu.

Bylo nutné vypořádat se s tím, že se vzorky nacházejí v prostředí HCl. Látky jako HCl, NaCl či $CuCl_2$ patří mezi rušivé vlivy, které vedou ke snížení či potlačení signálu zejména těkavých prvků. Ztráty nastávají vypařením analytu ve formě nedisociovaných chloridů buď během pyrolýzy, nebo na počátku atomizace (Černohorský a kol., 2003). HCl ruší stanovení chloridy, které způsobují těkání celých molekul, např. $PbCl_2$, $CuCl_2$ či $CdCl_2$ ve fázi pyrolýzy, bez disociace na elementy. K odstranění HCl při stanovení mědi se používá modifikátor matrice NH_4NO_3.

Měření probíhalo na přístroji Varian SpectAA 400 s elektrotermickým atomizátorem GTA – 96 s automatickým dávkovačem, na vlnové délce 423,8 nm a se Z-korekcí (tj. s využitím Zeemanova štěpení energetických hladin v magnetickém poli). Šířka spektrálního intervalu byla 0,5 nm. Teplotní program pro přípravu vzorků pro stanovení obsahu mědi sestával ze šesti kroků, během kterých došlo k nárůstu teploty z 95°C až na teplotu 2700°C, která setrval po dobu 2,5 sekundy. Výsledky byly vyhodnoceny z kalibrační křivky.

4.6 **Stanovení rtuti**

Ke stanovení rtuti se nejčastěji užívá technika generování studených par. Měření je umožněno proto, že rtuť jako jediný kov má dostatečnou tenzi par při laboratorní teplotě (0,16Pa pro 20^0C). Rtuť byla stanovena pomocí jednoúčelového analyzátoru stopových množství rtuti AMA-254 (ALTEC) na rezonanční čáře 253,7nm. V tomto přístroji se termooxidačně rozloží vzorek v proudu kyslíku, následuje amalgamace rtuti a online stanovení metodou AAS v křemenné absorpční kyvetě (Száková a Kolihová, 2003). Pevný nebo kapalný vzorek se nadávkuje na niklovou lodičku, která je vložena do přístoje. Dochází k vysušení, spálení vzorku v proudu kyslíku a k dokončení rozkladu spalných produktů v katalytické peci při teplotě 750°C. Páry rtuti jsou zachyceny na zlaceném amalgamátoru a po dalším zvýšení teploty vedeny do bloku měřících kyvet.

Výhodou tohoto přístroje je stanovení obsahu rtuti v pevných vzorcích i kapalinách bez potřeby předcházejícího rozkladu vzorku (Száková a Kolihová, 2003).

Vzorky mléka byly po lyofilizaci dávkovány přímo na dávkovací lodičku v množství 0,2g.

4.7 **Stanovení jódu**

Ke stanovení jódu se nejčastěji používá spektrofotometrická metoda, založená na Sandell-Kolthoffově reakci.

$$2Ce^{4+} + AsO_3^{3-} + H_2O \rightarrow AsO_4^{3-} + 2Ce^{3+} + 2H^+$$

Sandell-Kolthoffova reakce je založena na katalytickém působení jódu na redoxní reakci As^{3+} s Ce^{4+} nejčastěji po alkalickém spálení vzorku. Průběh reakce se sleduje jako úbytek ceričitých iontů (Fiedlerová, 1998 a Rudolfová, 2000). K přípravě vzorku se používá alkalické či kyselé mineralizace.

Ke stanovení jódu lze využít i iontově párové vysokoúčinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou nebo iontově výměnnou HPLC s elektrochemickou nebo spektrofotometrickou detekcí (Hejtmánková et al., 2005).

4.7.1 Příprava vzorků k analýze a podmínky stanovení

Vzorky mléka pro stanovení jódu byly připraveny alkalickou mineralizací v muflové peci. Příprava vzorků vychází z práce Fiedlerové (1998).

Do zkumavek z těžkotavitelného skla (17x100 mm) bylo naváženo cca 1 g tekutého mléka, temperovaného na laboratorní teplotu a šetrně homogenizovaného. Pro každé stanovení byla použita nová zkumavka. Ke vzorkům byl přidán 1 ml roztoku KOH (c=2 $mol.l^{-1}$ a 1 ml roztoku $ZnSO_4.7H_2O$ (c=2 $mol.l^{-1}$). Slepé pokusy byly provedeny s 1 ml demineralizované vody. Vzorek suchého referenčního materiálu (navážka cca 0,1 g) byl rozpuštěn v 1ml demineralizované vody. Směs byla protřepána a bylo přidáno několik krystalků chlorečnanu draselného. Směs byla dále vysušena v sušárně na 105 °C po dobu 14 hodin a poté 2 hodiny při 115 °C. Následovalo vlastní spalování v muflové peci s postupným nárůstem teploty:

200 °C 60 minut
300 °C 30 minut
400 °C 30 minut
500 °C 30 minut
600 °C 180 minut

Po dosažení teploty 600 °C byla pec krátce ventilována po 15, 30 a 45 minutách. Po vychladnutí byl ke vzorkům přidán 1 ml demineralizované vody, vzorky byly vysušeny a dopáleny do bílého popela při 600 °C 120 minut. Po vychladnutí byl zbytek suspendován v 6 ml demi vody, promíchán a odstředěn při 3000 g po dobu 10 minut.

Supernatanty byly použity pro vlastní stanovení. Do vialek byl obsah přefiltrován přes membránový PVDF mikrofiltr (45 µm).

4.7.2 Podmínky stanovení jódu metodou HPLC s elektrochemickým detektorem

Stanovení jódu metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie se zařazeným elektrochemickým detektorem vychází z normy mezinárodní mlékařské federace (IDF standard 167:1994).

Příprava standardů a pufru

Standardy jódu pro měření jódu na HPLC byly připraveny v koncentracích 20, 50, 150 a 250 $\mu g.l^{-1}$. Zásobní roztok jódu byl připraven rozpuštěním a promícháním 130,8 mg jodidu draselného p.a. ve 1000 ml vody. Roztok vydrží v temnu při pokojové teplotě 1 měsíc. Do 100ml odměrných baněk bylo napipetováno 20, 50, 150 a 250 µl roztoku jódu, doplněno

demi vodou na objem 100 ml a promícháno. Takto připravené standardy vydrží v temnu při pokojové teplotě týden. Každý týden byly proto připraveny standardy nové.

Pufr pro HPLC byl připraven rozpuštěním 5,2672 g $Na_2HPO_4.12H_2O$ v demi vodě. Poté bylo napipetováno 1,91 ml činidla (25% hexadecyltrimethylammonium chlorid, Aldrich) a doplněno na objem 1000 ml. Pro promíchání bylo pH pufru za konstantního míchání upraveno na 6,8 přidáním 0,4-0,5 ml kyseliny fosforečné. Pufr byl za sníženého tlaku přefiltrován přes membránový filtr, odplynován pomocí ultrazvuku a takto připraven k použití.

Vlastní stanovení jódu

Stanovení jódu probíhalo pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie, na přístroji Waters (vysokotlaké čerpadlo Waters 616, automatický dávkovač Waters 717) s elektrochemickým detektorem Waters 464 v DC módu, se stříbrnou pracovní elektrodou s nastaveným potenciálem 0-50 mV a referenční argentchloridovou elektrodou, který byl temperován na 40 °C. Na elektrody bylo vloženo konstantní stejnosměrné napětí 5 mV. Měří se výsledný proud v závislosti na čase.

Přístroj a chromatografickou kolonu (NOVA-PAK C18 3,9x150 mm, 4 µm) je třeba nejdříve promývat směsí vody a acetonitrilu 1:1 po dobu minimálně 48 hodin. Pro vlastní měření byl nastaven průtok mobilní fáze 1,00 $ml.min^{-1}$, mobilní fáze sestávala z 68 % z připraveného pufru a z 32 % z acetonitrilu. Složení mobilní fáze bylo v průběhu analýzy konstantní (izokratická eluce).

Kalibrační křivka byla sestrojena pomocí 4 standardů jodidu draselného v rozsahu 20-250 ng jódu na 1 ml kalibračního roztoku (nástřik 100 µl). Po každých 20 vzorcích byl přístroj rekalibrován. Mez detekce stanovení jodu, vyhodnocená z kalibrační závislosti je 4,55 ng jódu v 1 ml mineralizátu.

Chemická analýza proběhla na katedře chemie České zemědělské univerzity.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Analýza referenčních materiálů

Kontrola kvality analytických dat byla ověřena souběžnou analýzou certifikovaného referenčního materiálu BCR 150 (sušené odtučněné mléko) pro stanovení jódu a rtuti, BCR 063 (sušené odtučněné mléko) pro stanovení jódu a zinku, NIST 1573a (rajčatové listy) pro stanovení selenu, vápníku, hořčíku, zinku a mědi, a BCR H281 (jílek vytrvalý) pro stanovení selenu (tabulka 14).

analyt		*150BCR*		*063BCR*		*NIST1573a*		*CRM H281*	
		průměr	SD	průměr	SD	průměr	SD	průměr	SD
I ($\mu g.g^{-1}$)	certifikováno	1.29	0.09	0.81	0.05				
	změřeno	1.23	0.18	0.78	0.07				
Se ($mg.kg^{-1}$)	certifikováno					0.054	0.003	0.028	0.004
	změřeno					0.056	0.007	0.022	0.001
Ca (%)	certifikováno					5.05	0.09		
	změřeno					5	0.18		
Mg (%)	certifikováno					1.2			
	změřeno					1.06	0.03		
Zn ($mg.kg^{-1}$)	certifikováno			49	5	30.9	0.7		
	změřeno			42.9	1.2	30.3	1.1		
Cu ($\mu g.kg^{-1}$)	certifikováno					4.7	0.14		
	změřeno					4.51	0.55		
Hg ($\mu g.kg^{-1}$)	certifikováno	9.4	1.7						
	změřeno	9.11	0.49						

Tabulka 14: *Výsledky analýz certifikovaných referenčních materiálů*

Pro porovnání naměřených a certifikovaných hodnot bylo použito t-testu. Stanovení vápníku, hořčíku, mědi, rtuti a jódu v obou CRM je zcela vyhovující a dokládá správnost použitých analytických postupů. Intervaly spolehlivosti při stanovení zinku v referenčním materiálu 063BCR se pouze lehce překrývají, avšak v referenčním materiálu NIST1573a je stanovení obsahu zinku obdobně jako stanovení selenu zcela vyhovující. Intervaly spolehlivosti při stanovení selenu v referenčním materiálu CRM H281 se nepřekrývají, ale leží v těsné blízkosti. Vzhledem k velmi malým obsahům selenu v CRM H281 lze také stanovení selenu, obdobně jako stanovení zinku považovat za správné.

5.2 Pokus č.1: Obsahy selenu a jódu ovčím a kozím mléce

5.2.1 Monitoring obsah jódu a selenu v ovčím mléce

Stanovené obsahy selenu a jódu v ovčím mléce jsou uvedeny v tabulkách 15 a 16. Průměrný obsah jódu v ovčím mléce ze všech farem byl 148,7 ± 193,6 µg.kg^{-1}. Rozsah stanovených hodnot byl 15,04 – 203,9 µg.kg^{-1}. Na malých rodinných farmách, kde se neprovádí jodová suplementace, byl průměrný obsah jódu 47,99 ± 11,45 µg.kg^{-1}. Rozsah stanovených hodnot byl 15,04 – 197,7 µg.kg^{-1}. Podle Groppela (1993) je tento stav jódu v mléce ovcí již podlimitní a značí jódový deficit. Průměrný obsah jódu v mléce z komerčně zaměřených farem E a F, kde měly ovce k dispozici minerální lizy s obsahem jódu, byl 350,1 ± 226,6 µg.kg^{-1}, tedy statisticky významně vyšší, než na rodinných farmách. Naměřené hodnoty obsahu jódu v mléce na každé jednotlivé farmě vykazují velkou variabilitu během sledovaného období. Variabilita na farmě C dosahuje až 80 %.

Hodnoty jódu naměřené v ovčím mléce odpovídají hodnotám, které stanovili další autoři. Trávníček a Kursa (2001) uvádějí obsah jódu v ovčím mléce 105,5 µg.l^{-1}, Hejtmánková et al.(2008) v rozsahu 62,6-366 µg.kg^{-1}, Hampel (2004) stanovil 520 ± 60 µg.kg^{-1} a Ferri (2003) dokonce 675 ± 154 µg.kg^{-1}. Podle Schöna a Rajendrama (2009) je však koncentrace jódu v mléce vyšší než 500 µg.l^{-1} již nežádoucí.

Farma	*Průměr*	*SD*	*CV%*	*min*	*max*	*Medián*	*n*
A	34.92	12.71	36.4	15.04	49.63	37.52	23
B	62.23	38.05	61.15	22.7	141.1	52.14	14
C	56.12	45.00	80.2	20.23	197.7	38.14	12
D	38.69	20.7	53.6	23.32	89.6	29.52	5
E	576.7	261.2	45.3	348.8	1398	503.9	13
F	123.5	51.06	41.7	47.08	203.9	65.16	10

Tabulka 15: *Obsah jódu (µg.kg^{-1}) v ovčím mléce z různých farem*

Obsahy selenu v ovčím mléce byly změřeny pouze ve vzorcích z farem A-D (tabulka 16). V době analýz vzorků mléka z farem E a F nebyla metodika pro stanovení selenu validována. Naměřené hodnoty selenu v ovčím mléce z malých rodinných farem byly průměrně 7,54 ± 3,16 µg.kg^{-1}. Naměřené hodnoty byly v rozsahu 2,91 – 33,38 µg.kg^{-1}. Statisticky významné rozdíly v obsahu selenu v mléce z různých farem nebyly zjištěny. Stanovené průměrné hodnoty obsahu selenu v ovčím mléce jsou pouze nepatrně nižší, než publikoval Hampel et al. (2004), který zjistil průměrnou hodnotu selenu v ovčím mléce 14 ± 3 µg.kg^{-1}. Koutník et al. (1996) v kravském mléce stanovil naopak cca trojnásobně vyšší hodnoty selenu, a to v rozsahu 32,2-39,5 µg.l^{-1}.

Farma	*Průměr*	*SD*	*CV%*	*min*	*max*	*Medián*	*n*
A	10.89	8.23	75.53	3.54	33.38	7.59	23
B	5.28	3.00	56.81	2.91	11.34	3.97	14
C	6.20	1.38	22.39	4.42	8.59	6.12	12
D	7.80	1.74	22.41	5.79	9.82	7.79	5

Tabulka 16: *Obsahy selenu (µg.kg^{-1}) v ovčím mléce z různých farem*

5.2.2 **Monitoring obsah jódu a selenu v kozím mléce**

Kozí mléko pochází z farem, které se chovem zabývají profesionálně a jsou zaměřeny komerčně. Kozy měly k dispozici kvalitní minerální lizy s obsahem jódu i selenu. Experimentálně získané výsledky odpovídají této skutečnosti a hodnoty obsahu jódu nalezené v kozím mléce jsou statisticky významně vyšší než obsahy jódu v ovčím mléce z farem A-D a F, jsou však nižší než obsahy jódu stanovené v ovčím mléce z farmy E, kde také byl do krmiva přidáván minerální liz s obsahem jódu a selenu. Stanovená průměrná hodnota jódu v kozím mléce byla 458,7 ± 89,25 µg.kg^{-1}. Naměřené hodnoty byly v rozsahu 120 – 940 µg.kg^{-1}. To znamená, že stanovené průměrné obsahy jódu nejsou deficitní podle Groppela (1993), ale některé hodnoty jsou příliš vysoké podle Schöna a Rajendrama (2009).

V tabulce 17 jsou uspořádány hodnoty jódu na jednotlivých farmách. Hladiny jódu v kozím mléce podle ostatních autorů značně kolísají. Trávníček a Kursa (2001) uvádějí hodnoty obsahu jódu nalezené v kozím mléce 31,6 µg.l^{-1} v prvním roce měření a 63 µg.l^{-1} v následujícím roce měření. Paulíková (2008) nalezla v kozím mléce průměrně 68 µg.l^{-1} jódu. Nudda et al. (2009) nalezli v kozím mléce bez jodové suplementace 60,1 ± 50,05 jódu. Nízké obsahy jódu v kozím mléce udávané Trávníčkem a Kursou (2001) a také Paulíkovou (2008) byly stanoveny v mléce koz, kterým nebyly podávány minerální lizy.

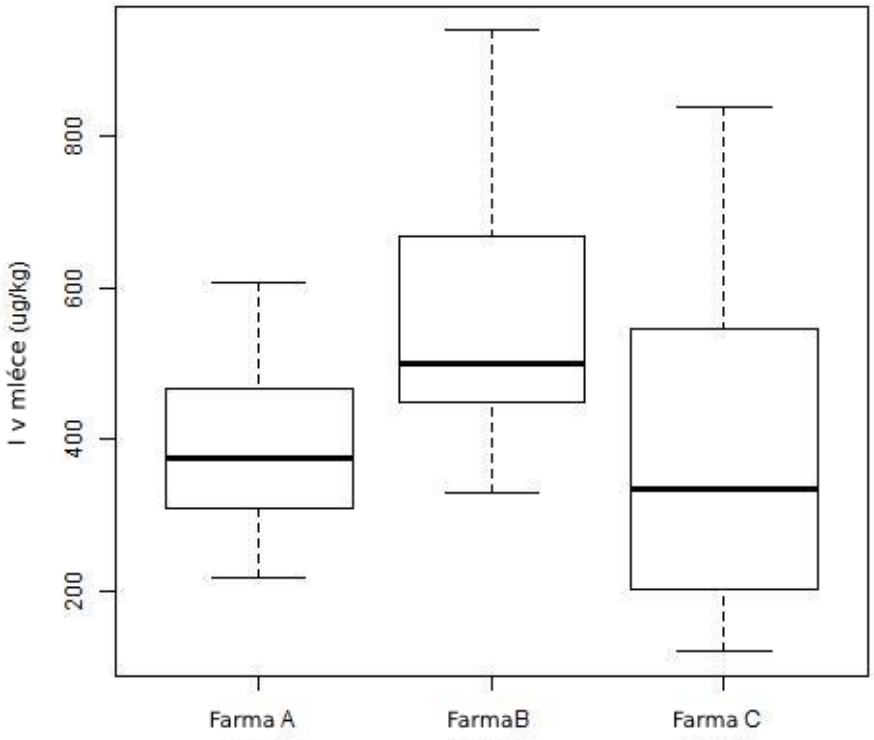
Výsledky pokusu lépe odpovídají hladinám jódu v kravském mléce, naměřenými různými autory, který měly také k dispozici minerální suplementy s obsahem jódu. Třináctý et al. (2001) naměřil v kravském mléce 594 ± 178,1 µg.l^{-1}, Trávniček et al. (2006) publikoval průměrnou hodnotu jódu v kravském mléce 442,5 ± 185,6 µg.l^{-1}, Hejtmánková et al. (2006) 225 ± 109 µg.kg^{-1} a Paulíková et al. (2008) 136,9 ± 258,2 µg.l^{-1}.

Farma	*Průměr*	*SD*	*CV%*	*min*	*max*	*Medián*	*n*
A	393	111	28.2	217	606	376	24
B	584	186	31.9	329	940	492	11
C	397	223	56.1	120	838	333	13

Tabulka 17: *Obsah jódu (µg.kg^{-1}) v kozím mléce z různých farem*

Na farmě A byl obsah jódu nejnižší: 393,6 ± 111,2 µg.kg^{-1}, na farmě B nejvyšší: 584,9 ± 186,9 µg.kg^{-1} a na farmě C 397,6 ± 223,4 µg.kg^{-1}. Rozdíly v obsahu jódu byly statisticky

významné (obrázek 3). ANOVA a Tukey HSD test prokázaly rozdíly v obsahu jódu mezi farmami A a B ($p<0.01$) a B a C ($p<0.05$). Rozdíly v obsahu jódu mezi farmami A a C nebyly statisticky významné.



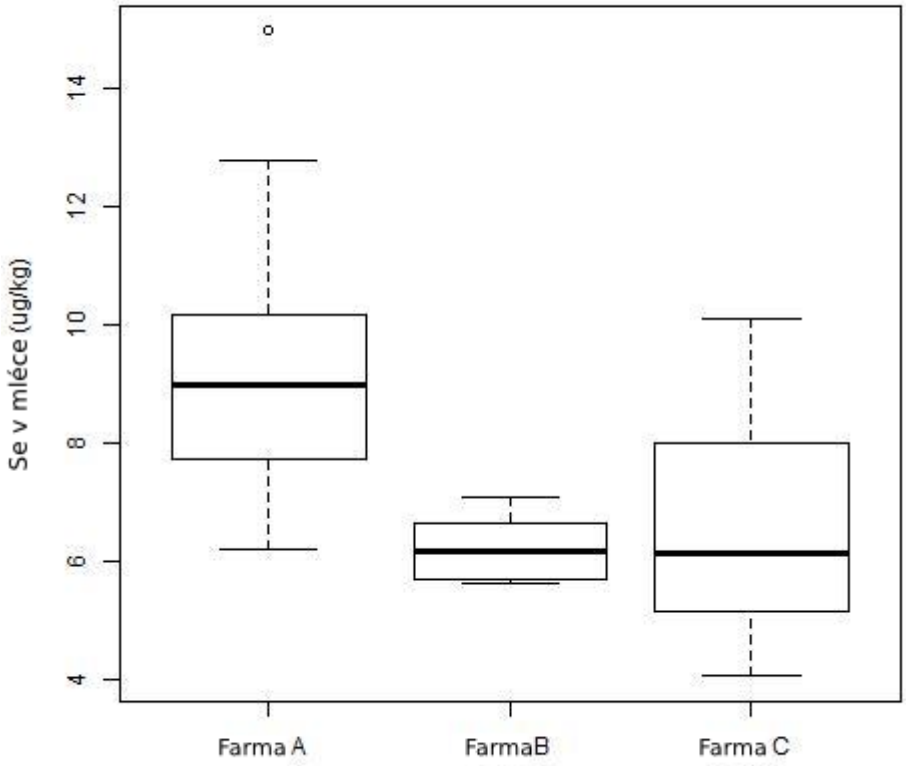
Obrázek 3: *Obsah jódu (µg.kg^{-1}) v kozím mléce z různých farem*

Stanovené hodnoty obsahu selenu v kozím mléce byly průměrně 7,32 ± 1,62 µg.kg^{-1} V tabulce 18 jsou uvedeny hodnoty selenu na jednotlivých farmách. Petrera et al. (2009) nalezli v kozím mléce bez suplementace krmiva průměrnou hodnotu selenu 23,31 µg.l^{-1}. Rozdíl může být způsoben tím, že tato studie pocházela ze severní Itálie, kde se může selenový status zvířat lišit. Pavlata et al. (2002) uvádí, že mezi oblasti v Evropě s největším deficitem selenu v půdách patří skandinávské země, jižní Francie, balkánské země, severní Anglie a Skotsko. V jejich studii, která obnášela měření selenového statusu v krvi krav po celém území ČR, prohlásili Českou republiku jako další ze zemí s nedostatkem selenu. Na základě tohoto výzkumu doporučili sledovat stav selenu v tělech a tělních tekutinách všech kategorií hospodářských zvířat, aby bylo možné zvolit vhodný způsob suplementace.

Farma	*Průměr*	*SD*	*CV%*	*min*	*max*	*Medián*	*n*
A	9.19	2.17	23.7	6.2	14.9	8.98	24
B	6.2	0.53	8.62	5.62	7.06	6.15	8
C	6.58	1.91	29.1	4.05	10.1	6.11	13

Tabulka 18: *Obsahy selenu (µg.kg^{-1}) v kozím mléce z různých farem*

Na farmě A byl obsah selenu nejvyšší: 9,19 ± 2,17 µg.kg^{-1}, na farmě B nejnižší: 6,20 ± 0,53 µg.kg^{-1} a na farmě C 6,57 ± 1,91 µg.kg^{-1}. Test jednofaktorová ANOVA prokázal významný rozdíl v obsahu selenu na jednotlivých farmách ($p<0.001$). Tukey HSD test ukázal, že obsah selenu na farmě A a B ($p<0.01$) a A a C ($p<0.001$) se významně lišil (obrázek 4).



Obrázek 4: *Obsah selenu (µg.kg^{-1}) v kozím mléce z různých farem*

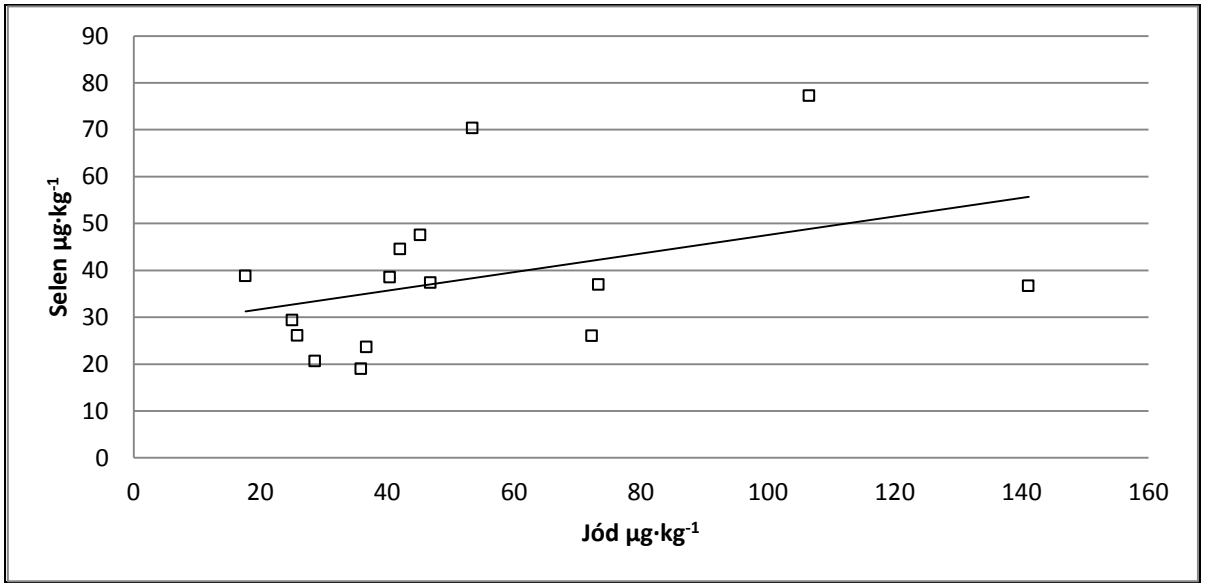
5.2.3 **Porovnání kvality ovčího a kozího mléka z hlediska obsahu jódu a selenu**

Obsah selenu v kozím mléce je mírně vyšší, než v ovčím mléce. Statistickým zhodnocením dat za pomoci t-testu ale nebyl prokázán signifikantní rozdíl mezi obsahem selenu v kozím a ovčím mléce ($p>0,05$). Obdobně v kozím mléce bylo stanoveno více jódu než v ovčím mléce. Na základě t-testu rovněž nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v obsahu jódu mezi ovčím a kozím mlékem. P hodnota (0,052) je však v těsné blízkosti kritické hodnoty 0,05.

Porovnáním obsahů sledovaných prvků v kozím a ovčím mléce je patrné, že kozí mléko je v současnosti lepším zdrojem jódu i selenu. Na základě dosažených výsledků kozí mléko obsahuje dvakrát více jódu než mléko ovčí a 1,5krát více selenu. Tato skutečnost souvisí s tím, že na kozích farmách, které jsou primárně určeny k produkci mléka, je podáváno krmivo obohacené minerálními lizy, zatímco na ovčích farmách, kde produkce mléka je pouze doplňkovou činností, minerální lizy zvířatům podávány nejsou.

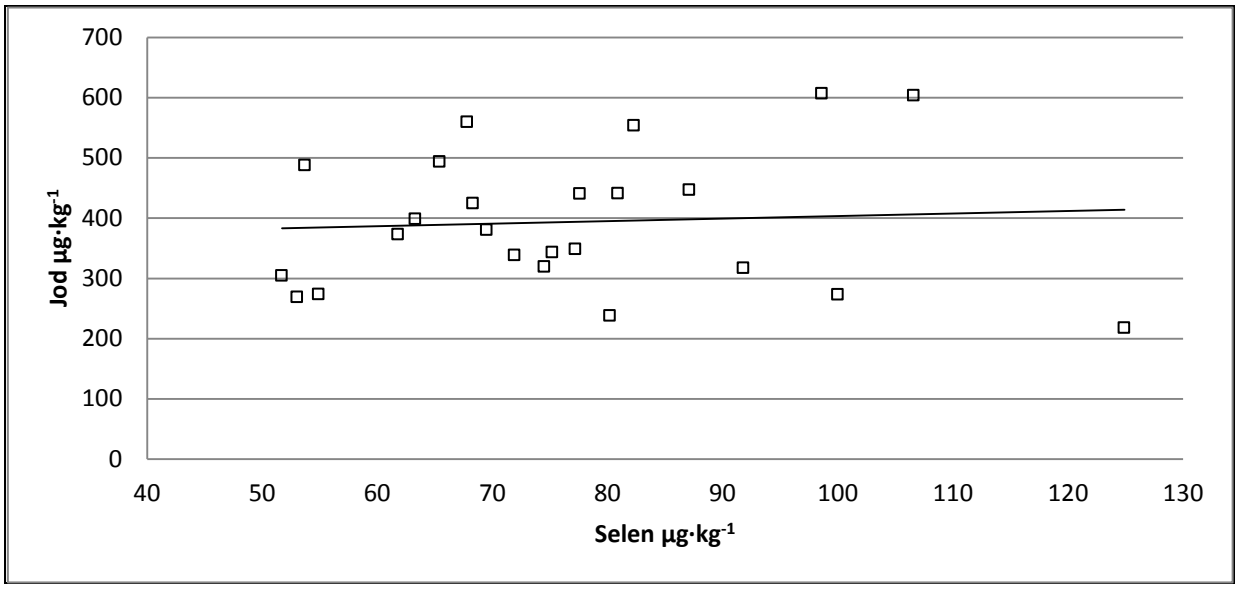
5.2.4 **Korelace mezi selenem a jódem v ovčím a kozím mléce**

Obrázek 5 znázorňuje závislost mezi obsahem selenu a jódu v ovčím mléce. Korelace byly testovány pomocí Pearsonova korelačního koeficientu s předchozím otestováním rovnoměrné distribuce pomocí Scatterplot. Graf je proložen přímkou lineární regrese. Hodnota korelačního koeficientu je 0.39, což značí slabou těsnost vztahu mezi obsahem selenu a jódu v ovčím mléce.



Obrázek 5: *Korelace obsahů selenu a jódu v ovčím mléce*

Závislost mezi obsahy selenu a jódu v kozím mléce je vynesena na obrázku 6. Graf je proložen přímkou lineární regrese. Hodnota korelačního koeficientu je 0.06. Mezi proměnnými je jen velmi slabý vztah, korelace nebyla prokázána.



Obrázek 6: ***Korelace obsahů selenu a jódu v kozím mléce***

5.2.5 **Vliv ročního období a fáze laktace na obsah minerálních látek**

V ovčím a kozím mléce byl sledován vliv ročního období na obsahy selenu a jódu. Vzorky mléka pro tento pokus byly odebrány v letech 2008-2010 z různých farem v ČR.

Z tabulky 19 je patrný trend zvyšování obsahu selenu i jódu v zimním období. Hodnoty obou prvků v mléce odebraném v zimním období (říjen-březen) jsou téměř dvojnásobné, než v mléce odebraném v letním období (duben-září). Rozdíl je statisticky signifikantní ($p<0.05$). Výsledky ukazují podobný trend, který byl dříve popsán v literatuře (Paulíková 2008, Herzig et al. 1995). Dahl et al. (2003) tyto sezónní rozdíly vysvětluje jako důsledek rozdílného způsobu krmení. Uvádí, že přes léto je hlavním zdrojem potravy pastva, kdežto přes zimu mají zvířata větší podíl předpřipravených krmiv, která jsou často fortifikována jódem. Binnerts (1979) předpokládá, že vyšší koncentrace jódu v zimním období může být způsobena sníženou mléčnou výtěžností. Khan et al. (2006) nenalezl žádné rozdíly v obsahu selenu v ovčím mléce v zimním a letním období. Rozdíl bude pravděpodobně způsoben tím, že studie probíhala v Pákistánu, který má velmi rozdílné klimatické podmínky.

Prvek	*Roční období*	*Průměr*	*SD*	*CV%*	*Medián*	*Min*	*Max*	*n*
Se	zima	11,62	7,4	64,04	8,78	4,37	29,41	15
	léto	5,21	8,3	27,11	5,00	2,56	8,64	38
I	zima	75,42	46,4	61,48	60	29,08	197,6	15
	léto	37,84	16,1	46,64	29,93	197,6	89,66	38

Tabulka 19: *Obsah selenu a jódu (µg.kg^{-1}) v ovčím mléce v závislosti na ročním období*

Byl sledován vliv fáze laktace na obsah selenu a jódu v kozím a ovčím mléce. Z výsledků v tabulce 20 je patrné, že průměrný obsah selenu v mléce se v průběhu laktace mírně zvyšuje ze 7,44 µg.kg^{-1} na hodnotu 11,1 µg.kg^{-1}. Po otestování pomocí jednofaktorové ANOVA a Tukey HSD testu se prokázalo, že obsah selenu v pozdní fázi laktace je statisticky významně vyšší ($p<0.001$), než v časné a prostřední fázi laktace. Obsah jódu v kozím mléce v průběhu laktace kolísá a není patrný jednoznačný trend ve změnách obsahu jódu. Statisticky významný vliv fáze laktace na obsah jódu v kozím mléce nebyl prokázán ($p>0.05$).

Prvek	*Laktační fáze*	*Průměr*	*SD*	*CV%*	*Medián*	*Min*	*Max*	*n*
Se	časná	7.44	1.2	16.2	7.42	6.20	9.87	9
	střední	9.25	1.31	14.1	9.26	7.84	11.8	7
	pozdní	11.1	2.08	18.7	10.7	8.94	14.9	8
I	časná	399	105	26.3	380	268	559	9
	střední	441	84	19	440	338	606	7
	pozdní	344	118	34.2	318	217	603	8

Tabulka 20: *Obsah selenu a jódu (µg·kg^{-1}) v kozím mléce v závislosti na fázi laktace*

5.2.6 **Porovnání hladin jódu v kozím a ovčím mléce v chovech na stejné ekofarmě**

Tento pokus měl za cíl porovnat hladiny jódu v mléce koz a ovcí, které pocházely ze dvou stejných ekofarem v severních (farma A) a východních (farma B) Čechách a byly chovány a krmeny ve stejných podmínkách. Ovce i kozy měly přístup ke stejnému minerálnímu lizu. Na farmě A se obsah jódu v minerálním lizu nepodařilo zjistit, na farmě B byl ovcím i kozám k dispozici minerální liz s obsahem jódu 110 mg.kg^{-1}. Vzorky z první farmy byly odebírány jednou měsíčně v průběhu celé laktační sezóny od března do října. Na druhé farmě byly odebrány třikrát za celou laktační sezónu, v dubnu, červenci a září, během jednoho roku. Na obou farmách byla chována plemena koza krátkosrstá bílá a hnědá a Východofríská ovce. Výsledky z první farmy jsou patrné z obrázku 7 a tabulky 21.

Farma	*Mléko*	*Průměr*	*SD*	*CV%*	*min*	*max*	*Medián*	*n*
Farma A	Ovčí	1089	331.1	30.4	497.3	1459	1107	7
	Kozí	1370	444.7	32.4	740.8	2152	1356	7
Farma B	Ovčí	576.6	271.8	47.1	372.2	1398	503.9	13
	Kozí	393.6	113.6	28.8	217.5	606.3	376.5	24

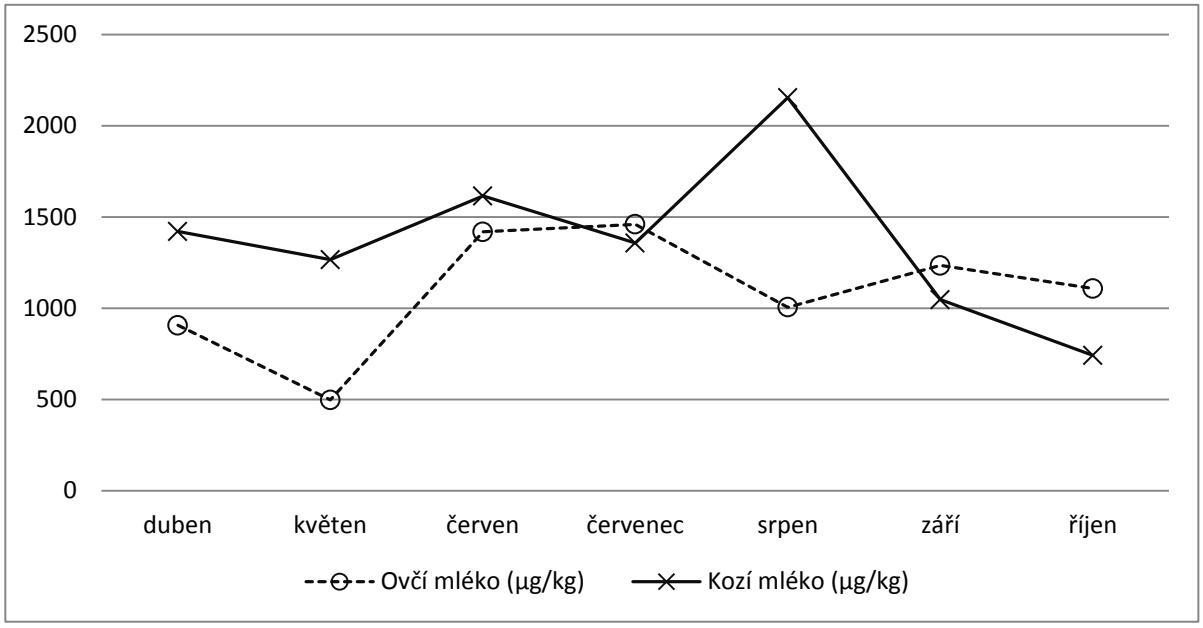
Tabulka 21: *Porovnání obsahů jódu v kozím a ovčím mléce v chovech na stejných farmách, krmených stejným způsobem a s přístupem ke stejnému minerálnímu lizu.*

V ovčím mléce z farmy A bylo nalezeno průměrně 1089 ± 331 µg.kg^{-1} jódu a v kozím mléce 1370 ± 444 µg.kg^{-1} jódu. Vyšší průměrná hodnota jódu byla nalezena v kozím mléce,

ale rozdíl nebyl statisticky signifikantní (ANOVA, p>0.05). V ovčím mléce z farmy B byl naopak nalezen průměrně vyšší obsah jódu (576 ± 271 µg.kg^{-1}) než v mléce kozím (393 ± 113 µg.kg^{-1}), ale rozdíl také nebyl statisticky signifikantní (ANOVA, p>0.05).

Vzorky kozího a ovčího mléka na farmě A byly odebírány vícekrát v průběhu jara a léta, a tak bylo možné porovnat hodnoty jódu v těchto ročních obdobích. V hodnotách jódu v kozím i ovčím mléce byly nalezeny mírné rozdíly mezi jarním a letním obdobím, ale nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl. Mezi hodnotami jódu v kozím a ovčím mléce nebyla nalezena žádná korelace (Pearsonův korelační koeficient, p>0.05).

Na základě tohoto pokusu lze konstatovat, že v mléce koz a ovcí, chovaných na stejné farmě při stejných podmínkách, a s přístupem ke stejnému minerálnímu lizu, nebyl prokázán žádný statisticky významný rozdíl v obsahu jódu.



Obrázek 7: *Obsahy jódu v ovčím a kozím mléce chovaných za stejných podmínek na jedné farmě*

5.3 Distribuce sledovaných prvků v mléce

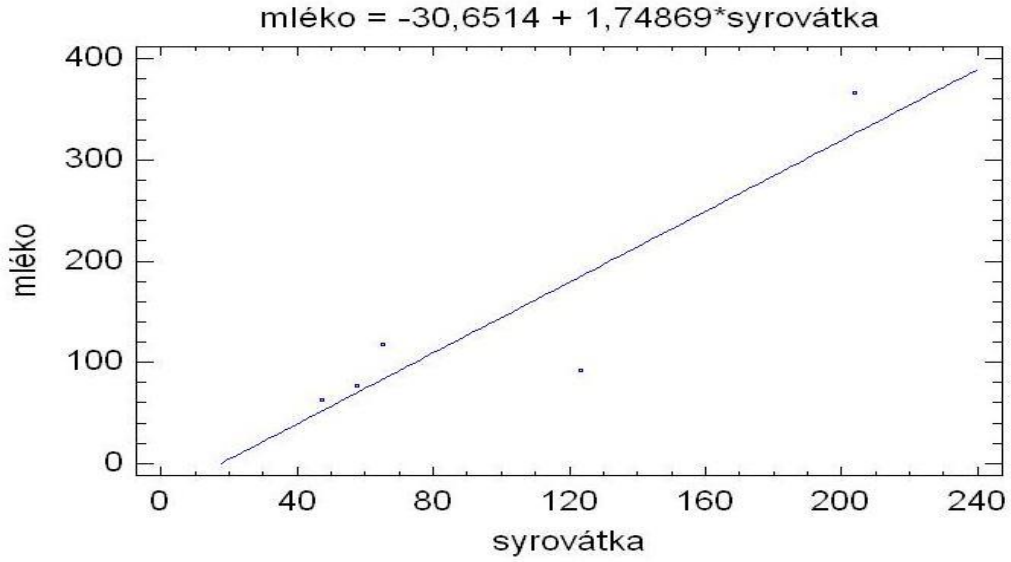
5.3.1 Distribuce sledovaných prvků v ovčím mléce

Pro sledování distribuce jódu a zinku v ovčím mléce a syrovátce byly použity vzorky ovčího mléka a syrovátky z farmy F (tabulka 22). V ovčím mléce bylo naměřeno průměrně 143,1 ± 113,1 µg.kg^{-1} jódu (rozsah hodnot 73,7 – 366,5 µg.kg^{-1}) a v syrovátce průměrně 99,38 ± 58,58 µg.kg^{-1} jódu (rozsah hodnot 57,4 – 203,9 µg.kg^{-1}). Z toho vyplývá, že z celkového obsahu jódu v mléce cca 70 % po vysrážení kaseinu přechází do syrovátkové frakce.

Frakce	*Prvek*	*Průměr ($\mu g.kg^{-1}$)*	*SD*	*CV%*	*% v mléce*
mléko	I	143.1	113.1	79	
syrovátka	I	99.38	58.58	58.9	69.4
mléko	Zn	4.37	0.58	13.4	
syrovátka	Zn	0.21	0.07	32.4	4.86

Tabulka 22: *Distribuce jódu a zinku v ovčím mléce a syrovátce*

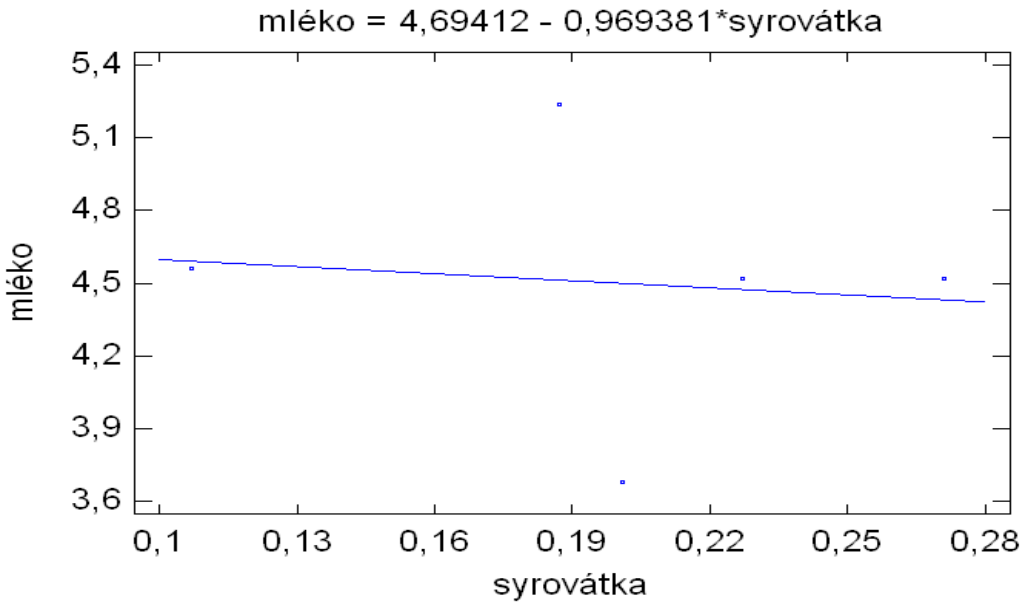
Vztah mezi obsahem jódu nalezeným v ovčím mléce a syrovátce je zobrazen na obrázku 8. Ze sklonu přímky a hodnoty regresního koeficientu (b = 1,74) vyplývá, že hodnoty jódu nalezené v mléce a syrovátce spolu významně korelují.



Obrázek 8: *Vztah mezi stanoveným obsahem jódu v ovčím mléce a syrovátce*

V ovčím mléce bylo dále nalezeno průměrně 4,37 ± 0,58 $mg.kg^{-1}$ zinku (rozsah hodnot 3,38 – 5,23 $mg.kg^{-1}$) a v syrovátce 0,21 ± 0,07 $mg.kg^{-1}$ (rozsah hodnot 0,11 – 0,34 $mg.kg^{-1}$). Z celkového obsahu zinku v mléce odchází do syrovátkové frakce jen necelých 5 %. Zinek je tedy na rozdíl od jódu mnohem více vázán na kaseinovou frakci mléka. Lze tedy předpokládat, že sýry na rozdíl od syrovátky budou mnohem lepším zdrojem zinku, než jódu.

Porovnání hodnot zinku nalezených v ovčím mléce a syrovátce je zobrazeno na obrázku 9. Ze sklonu přímky a hodnoty regresního koeficientu (b = - 0,96) vyplývá, že hodnoty jódu nalezené v mléce a syrovátce spolu jen mírně negativně korelují. To je zřejmě důsledek toho, že pouze minimální množství zinku je přítomno v syrovátce a nízké obsahy analytů jsou více zatíženy experimentálními chybami.



Obrázek 9: *Vztah mezi stanoveným obsahem zinku v ovčím mléce a syrovátce*

5.3.2 Distribuce sledovaných prvků v kozím mléce

Většina mléka na sledovaných farmách byla zpracovávána na mléčné produkty, zvláště sýry, a proto byly spolu se vzorky mléka odebírány také vzorky syrovátky. Pro sledování distribuce prvků v kozím mléce a syrovátce byly použity vzorky kozího mléka a syrovátky z farem B a C. V kozím mléce z farmy B bylo nalezeno průměrně 584,9 ± 186,9 µg.kg^{-1} jódu a v syrovátce 467,5 ± 165,8 µg.kg^{-1} (tabulka 23). To znamená, že v syrovátkové frakci bylo nalezeno 79,9 % jódu z celkového množství jódu obsaženého v mléce. Obdobně v kozím mléce z farmy C bylo nalezeno 397,6 ± 223,3 µg.kg^{-1} jódu a v syrovátce 291,5 ± 119,1 µg.kg^{-1}. To znamená, že do syrovátky přešlo 73,3 % jódu, obsaženého v mléce. V průměru bylo v syrovátce stanoveno 76,3 % z celkového množství jódu přítomného v kozím mléce a výsledky odpovídají procentuálnímu zastoupení jódu v syrovátce připravené z ovčího mléka a jsou rovněž v souladu s prací Rudolfové et al. (2000).

Farma	*Frakce*	*Prvek*	*Průměr (µg.kg^{-1})*	*SD*	*CV%*	*% v mléce*
B	mléko	Se	6.58	1.91	29.1	
	syrovátka	Se	1.56	0.46	29.3	23.6
B	mléko	I	585	186	31.9	
	syrovátka	I	467	165	35.4	79.9
C	mléko	Se	6.21	0.54	8.62	
	syrovátka	Se	1.49	0.74	49.6	23.9
C	mléko	I	397	223	56.1	
	syrovátka	I	291	119	40.8	73.3

Tabulka 23: *Distribuce selenu a jódu v kozím mléce a syrovátce*

Výsledky jsou v souladu s tvrzením Sancheze a Szpunara (1999), kteří uvádějí, že v syrovátce je 78-89 % jódu z jeho celkového obsahu v mléce, z čehož 72-98 % připadá na jód ve formě anorganického jodidu. To samé tvrdí Gushurst et al. (1984).

Flynn a Power (1985) uvádějí, že 80-90 % jódu je obsaženo v syrovátce a méně než 13 % je vázáno na bílkoviny.

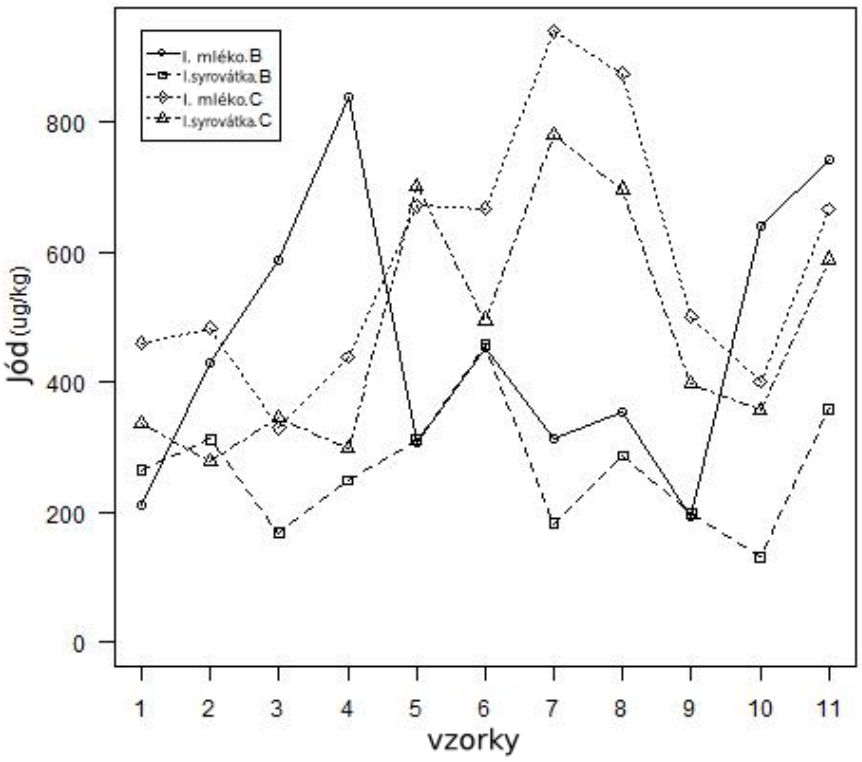
Podle Rudolfové et al. (2000) je nejvíce jódu v mléce obsaženo v plazmě (92,2 %). Jódu vázaného na kaseinovou frakci nalezli 5,3 % a jódu vázaného na syrovátkové bílkoviny 2,5 %. V tuku se jód prakticky nevyskytuje.

Isaac-Olive et al. (2008) publikovali, že v syrovátkové frakci kravského mléka je jód přítomen hlavně v podobě jodidu (89-96 %) a v mnohem menší míře též ve formě jodičnanu a jódu vázaného na syrovátkové bílkoviny. Shodně s ostatními autory Isaac-Olive et al. (2008) udávají, že v tukové frakci se nalézá nízký obsah jódu, a to 4,2 % jódu z celkového obsahu v mléce.

Dahl et al. (2003) předpokládá vyšší obsah jódu v syrovátkových sýrech než v kaseinových, z důvodu dobré rozpustnosti většiny sloučenin jódu ve vodě.

Z toho vyplývá, že mléčné výrobky, které obsahují téměř výhradně tuk (máslo), nejsou dobrým zdrojem jódu. Pro příjem jódu je tedy ideální mléko (i sušené), dále fermentované mléčné nápoje nebo jogurty a syrovátka. Značný obsah jódu je také v sýrech, vzhledem k vysokému zastoupení bílkovin.

Porovnání obsahu jódu v kozím mléce a syrovátce z farem B a C je znázorněno na obrázku 10.



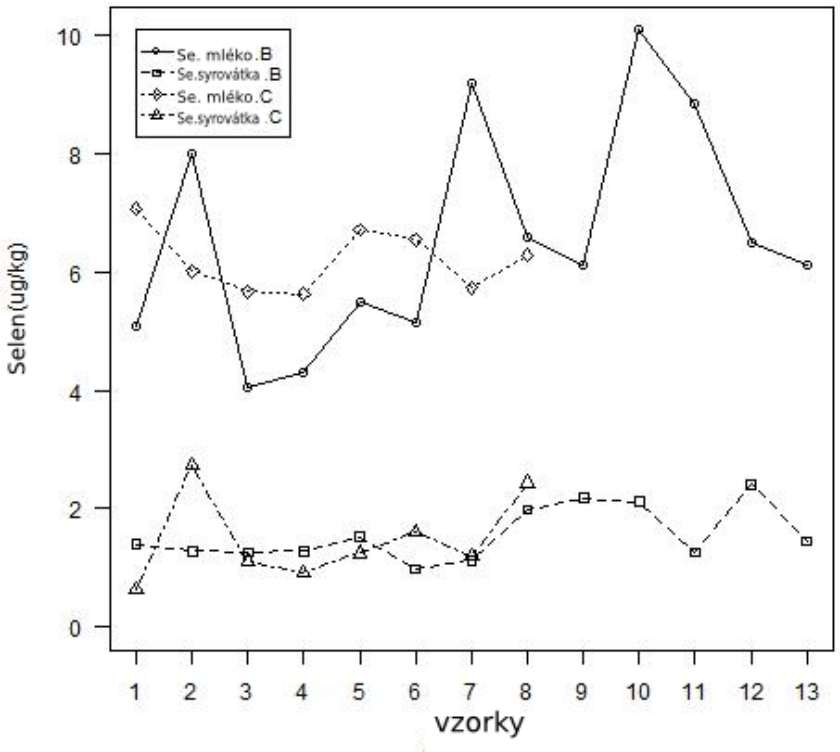
Obrázek 10: *Porovnání obsahu jódu v kozím mléce a syrovátce z farem B a C*

Vzorky kozího mléka a syrovátky z farmy B a C byly analyzovány rovněž na obsah selenu. Na rozdíl od jódu (nekov) zůstává většina selenu (polokov) navázána na kaseinovou frakci a nepřechází do syrovátky. V kozím mléce z farmy B bylo nalezeno 6,57 ± 1,91 µg.kg^{-1} selenu a v syrovátce 1,55 ± 0,45 µg.kg^{-1}, což je 23,6 % z celkového množství selenu přítomného v mléce. V kozím mléce z farmy C bylo nalezeno 6,21 ± 0,53 µg.kg^{-1} a v kozí syrovátce 1,48 ± 0,73 µg.kg^{-1} selenu. V syrovátce bylo tedy obsaženo 23,9 % selenu, z celkového množství obsaženého v mléce.

Výsledky jsou v souladu s tvrzením Knowlesové et al. (1999), kteří nalezli v syrovátkové frakci 17-38 % selenu. Dále uvádějí, že nejvíce selenu v mléce je vázáno na kaseinovou frakci (55-75 %). V tuku nalezli jen malé množství selenu (7 %).

Muniz et al. (2005) nalezli v syrovátkové frakci více selenu (47-74 %). Naopak starší studie (Allen et Miller, 1980; Debski et al., 1987) uvádějí, že většina selenu se vyskytuje v syrovátkové frakci (75 %) a ve vysráženém kaseinu se nalezli jen 20 % selenu. Všichni autoři se shodli na tom, že v tukové frakci je velice nízká koncentrace selenu.

Z toho vyplývá, že do syrovátkové frakce odchází po vysrážení kaseinu průměrně 23,75 % selenu. Porovnání obsahu selenu v kozím mléce a syrovátce z farem B a C je znázorněn na obrázku 11.



Obrázek 11: *Porovnání obsahu selenu v kozím mléce a syrovátce z farem B a C*

Na základě experimentálních výsledků lze předpokládat, že syrovátka bude dobrým zdrojem jódu. Hampel (2004) však ve své studii uvádí vyšší obsah jódu v čerstvém ovčím sýru, než v ovčím mléce. Vzhledem k tomu, že pro výrobu 1 kg sýra je potřeba 11-15 litrů mléka a cca 30 % jódu je vázáno na kaseinovou frakci, je obsah jódu v sýrech vyšší než ve stejné hmotnosti mléka. Je pravděpodobné, že při porovnání obsahu jódu ve stejném množství syrovátky, která se vyloučila při výrobě sýra, by původní poměr zůstal zachován. Zcela nevhodným zdrojem jódu budou mléčné výrobky s vysokým obsahem tuku a nízkým obsahem bílkovin, například máslo. Ke stejnému závěru dospěla i Rudolfová (2000).

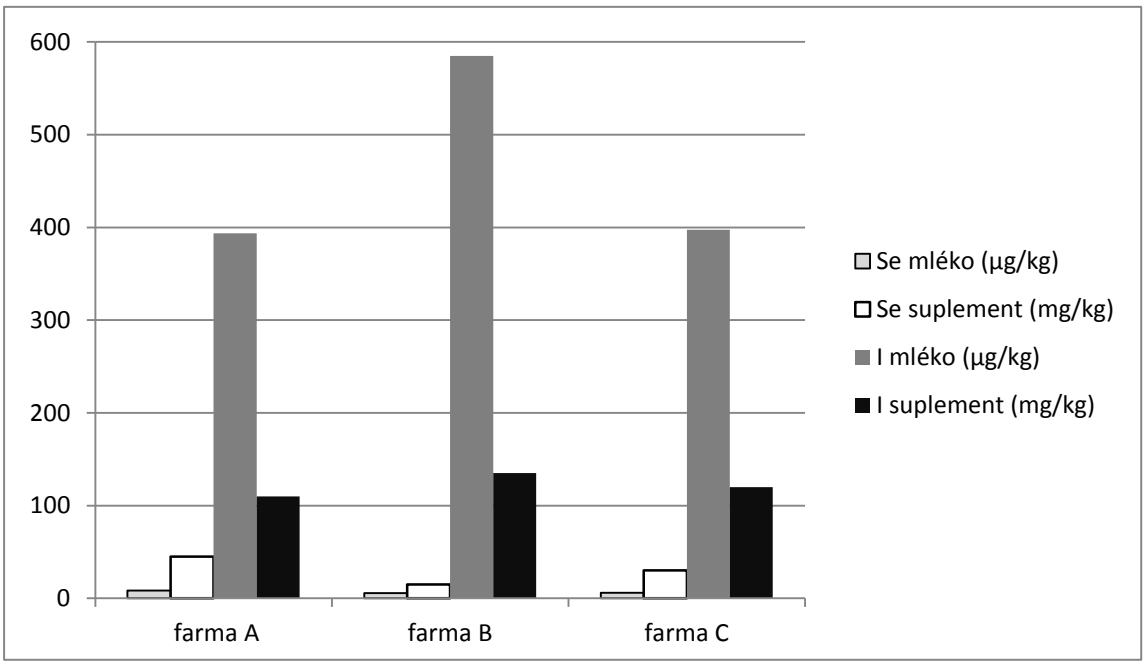
Naopak velmi dobrým zdrojem selenu a zinku (případně dalších kovových prvků) jsou na rozdíl od syrovátky sýry, neboť tyto prvky jsou vázány především na kaseinovou frakci bílkovin.

5.4 Pokus č.2: Vliv koncentrace Se a I v suplementu na hladiny selenu a jódu v kozím mléce

5.4.1 Porovnání hladin selenu a jódu v mléce s jejich koncentrací v suplementu

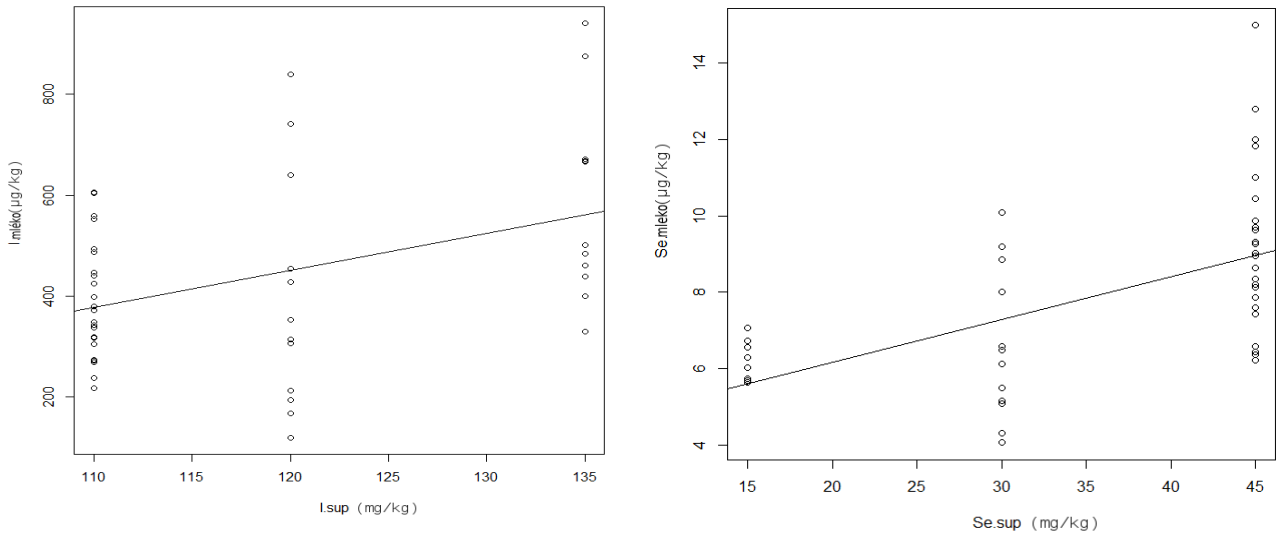
Pro tento pokus byly odebrány vzorky kozího mléka na třech různých farmách v průběhu celé laktační sezóny roku 2008. Cílem pokusu bylo ověřit, zda jsou hladiny selenu a jódu v kozím mléce ovlivněny obsahy těchto prvků v minerálním lizu, který měly kozy k dispozici.

Stanovené obsahy selenu a jódu v mléce korelují se stavem minerálního suplementu, který měly kozy k dispozici (obrázek 12). Na farmě B byly stanovené hodnoty obsahu jódu v kozím mléce nejvyšší (584,9 ± 196,1 $\mu g.kg^{-1}$). Kozy na této farmě měly zároveň k dispozici minerální liz s nejvyšším obsahem jódu, a to 135 $mg.kg^{-1}$. Na farmě A a C minerální liz obsahoval 110 resp. 120 $mg.kg^{-1}$ jódu. Průměrný obsah jódu v mléce na farmě A byl 393,6 ± 113,6 $\mu g.kg^{-1}$, na farmě C 397,6 ± 214,7 $\mu g.kg^{-1}$. Minerální liz dostupný na farmě A se naopak vyznačoval zvýšeným obsahem selenu (45 $mg.kg^{-1}$). V mléce koz z farmy A bylo také nalezeno nejvyšší množství selenu (9,19 ± 2,17 $\mu g.kg^{-1}$). Na farmě B a C lizy obsahovaly pouze 15 a 30 $mg.kg^{-1}$ selenu. Průměrný obsah selenu v mléce na farmě B činil 6,20 ± 0,53 $\mu g.kg^{-1}$, na farmě C 6,58 ± 2,29 $\mu g.kg^{-1}$.



Obrázek 12: *Obsah selenu a jódu v kozím mléce a v minerálním suplementu*

Po statistickém zhodnocení dat pomocí analýzy více proměnných (Multi-variable Analysis) byla stanovena významná korelace mezi obsahem selenu v mléce a v minerálním lizu (hodnota korelačního koeficientu 0,91). V případě jódu byla hodnota korelačního koeficientu 0,92. I v tomto případě se jedná o velmi silnou korelaci (obrázek 13).



Obrázek 13: *Vztah mezi jódem a selenem nalezeným v kozím mléce a jejich obsahem v minerálním suplementu*

5.4.2 **Vliv plemene a rodové linie na obsah selenu a jódu**

Vzorky kozího mléka pro porovnání plemen a rodových linií byly odebrány z farmy A v průběhu roku 2008 a farem D a E v průběhu roku 2010. Výsledky analýz mléka z farmy A jsou uvedeny v tabulce 24. Odebíráno bylo mléko plemene koza krátkosrstá bílá a koza krátkosrstá hnědá. Bílé plemeno bylo zastoupeno rodovými liniemi Emil, Mohykán a Ferda. Hnědé plemeno bylo zastoupeno rodovými liniemi Ještěd, Othello a Hansi.

Průměrný obsah selenu v mléce plemene koza krátkosrstá bílá byl 9,31 ± 2,45 µg.kg^{-1} a v mléce plemene koza krátkosrstá hnědá 9,07 ± 1,97 µg.kg^{-1}. Průměrný obsah jódu v mléce plemene koza bílá byl 367,1 ± 102,0 µg.kg^{-1} a v mléce plemene koza hnědá 408,0 ± 111,1 µg.kg^{-1}. Pro statistické zhodnocení dat byla použita analýza rozptylu (ANOVA, dvoufaktorová). Rozdíly v obsahu sledovaných prvků v mléce těchto dvou plemen jsou nepatrné a statisticky nevýznamné. Z toho vyplývá, že s velkou pravděpodobností sledovaná plemena a jejich rodové linie, které jsou nejrozšířenější v České republice, nemají žádný vliv na hladiny selenu a jódu v mléce v kozím mléce.

Plemeno	*Rodová linie*	*Se průměr ($\mu g.kg^{-1}$)*	*SD*	*CV%*	*I průměr ($\mu g.kg^{-1}$)*	*SD*	*CV%*
Koza krátkosrstá bílá	Emil	9.73	3.24	32.2	384	131	34.2
	Mohykán	8.55	1.93	22.6	352	71.3	20.2
	Ferda	9.23	1.8	19.5	346	22.8	6.61
Koza krátkosrstá hnědá	Ještěd	8.6	3.02	35.2	325	53.1	16.4
	Othello	8.23	1.55	18.2	415	70.9	17.1
	Hansi	9.69	1.88	19.5	421	127	30.2

Tabulka 24: *Obsah selenu a jódu v kozím mléce v závislosti na plemeni a rodové linii*

5.5 Pokus č. 3: Vliv intenzivního a extenzivního systému chovu na minerální složení kozího mléka

V průběhu roku 2010 bylo odebíráno kozí mléko plemene koza krátkosrstá bílá na dvou farmách, které se lišily způsobem chovu (farma A = intenzivní chov, farma B = extenzivní). Pokus byl inspirován studií Morand-Fehra et al. (2007), kteří zaznamenali rozdíly v mléčné výtěžnosti a složení mléka koz, které byly chovány různými způsoby. Rozdíly se projevily zvláště mezi intenzivními krytými a extenzivními pastevními chovy, ale také mezi pastevním způsobem chovu koz v rovině, kopcích a v horách.

V tomto pokusu bylo stanoveno 6 minerálních biogenních či stopových prvků (selen, jód, vápník, hořčík, zinek a měď) a jeden rizikový prvek (rtuť). Hodnoty jejich obsahů v mléce byly porovnány z hlediska celkových průměrů v průběhu celé laktační sezóny, z hlediska laktačních fází. Vyhodnoceny byly také vzájemné korelace mezi jednotlivými prvky stanovenými v mléce. Zároveň byly hledány souvislosti mezi obsahy jednotlivých prvků v mléce a obsahy těchto prvků v dostupných minerálních lizech.

5.5.1 Průměrné hladiny vybraných minerálních látek v mléce

Přehled všech hodnot je uveden v tabulce 25. Průměrné hladiny jódu nalezené v mléce byly na farmě A 1621 ± 569 $\mu g.kg^{-1}$ a na farmě B 42,84 ± 21,11 $\mu g.kg^{-1}$. Takto velký rozdíl v průměrném obsahu jódu v mléce na sledovaných farmách a zároveň skutečnost, že na farmě A byl průměrný obsah jódu statisticky významně vyšší než průměrný obsah jódu v mléce na farmě B, byl velmi překvapivý, a to z toho důvodu, že na farmě A byl k dispozici minerální liz s nižším obsahem jódu (40 $mg.kg^{-1}$) než na farmě B (100 $mg.kg^{-1}$). Ostatní podmínky chovu byly srovnatelné. Pravděpodobné vysvětlení je možné hledat v rozdílné pastevní ploše, kterou měly kozy k dispozici. Na farmě A byly kozy chovány na menším prostoru kolem farmy a zůstávaly v blízkosti vodního zdroje a krmiva, včetně minerálního lizu. Naopak kozy na farmě B, které byly chovány na velkých plochách, měly vodní zdroj a minerální liz k dispozici pouze na jednom místě, což mělo pravděpodobně za následek jejich mnohem nižší využití

v případě, že se stádo pohybovalo ve větší vzdálenosti. Vliv rozdílného způsobu chovu zvířat na obsah jódu v mléce popisuje také Morand-Fehr et al. (2007). Rozsah naměřených hodnot jódu v kozím mléce byl v souladu hodnotami publikovanými ostatními autory v kozím mléce (Meschy, 2000; Paulíková et al., 2008; Nudda et al., 2009).

Prvek	*Farma*	*Průměr*	*SD*	*CV%*	*Medián*	*min*	*max*	*n*	*p*
I	A	1621	569	35.1	1501	543.3	3363	65	<0.001
$\mu g.kg^{-1}$	B	42.84	21.1	49.2	37.6	17.86	125.3	57	***
Se	A	8.52	2.62	30.7	7.82	4.28	17.36	65	>0.05
$\mu g.kg^{-1}$	B	6.95	1.59	22.8	6.4	4.01	12.32	58	
Zn	A	2.75	0.51	18.5	2.79	1.29	4.7	65	<0.01
$mg.kg^{-1}$	B	3.28	0.59	17.9	3.28	1.39	4.78	58	**
Mg	A	104.2	12.7	12.1	102	56.82	148.9	65	>0.05
$mg.kg^{-1}$	B	109.9	19.7	17.9	103	62.21	173.1	58	
Ca	A	854.4	110	12.9	853	529.3	1274.5	65	>0.05
mg,kg^{-1}	B	915.2	120	13.1	920	576.4	1314	58	
Cu	A	300.7	13.2	43.8	28.4	1.12	79.9	65	>0.05
$\mu g.kg^{-1}$	B	270.3	11.6	43.1	24.3	2.41	84.99	58	
Hg	A	2.84	1.01	35.5	2.22	1.11	1744	65	<0.05
$\mu g,kg^{-1}$	B	1.33	0.53	39.8	1.14	0.35	5.91	58	*

Tabulka 25: *Přehled hodnot I, Se, Zn, Mg, Ca, Cu a Hg nalezených v kozím mléce z farem A a B*

Hladiny selenu v mléce z obou farem vykazovaly podobné výsledky. Průměrné hladiny selenu v mléce stanovené na farmě A byly 8,52 ± 2,62 $\mu g.kg^{-1}$ a na farmě B 6,96 ± 1,59 $\mu g.kg^{-1}$. Mezi stanovenými průměrnými obsahy selenu v mléce nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl, přestože minerální liz dostupný kozám na farmě B obsahoval 200x více selenu než minerální liz na farmě A. Jedno z možných vysvětlení je, že selen v obou minerálních lizech byl přítomen v anorganické formě, což několik autorů považuje za nepříliš efektivní způsob využití selenu organismem, a následné obohacení mléka selenem (Pehrson et al. 1999; Pechová et al., 2008a,b; Petrera et al., 2009). Další možnou příčinou je opět dostupnost minerálního lizu na farmách. Kozy na farmě B (extenzivní chov) se mohou nacházet ve velké vzdálenosti od minerálního lizu. V porovnání s ostatními autory, kteří se zabývali hladinami selenu v mléce, se hodnoty stanovené na farmě A i B pohybují na spodní hranici. Khan et al., 2006; Guler, 2007; Petrera et al., 2009 uvádí hodnoty selenu v kozím mléce v rozsahu 7,59 - 23,31 $mg.kg^{-1}$.

Průměrné hladiny zinku v mléce naměřené na farmě A byly 2,75 ± 0,51 $mg.kg^{-1}$ a na farmě B 3,2 ± 0,59 $mg.kg^{-1}$ jsou v souladu s hodnotami, které v kozím mléce stanovili jiní autoři. Guéguen (1997), Hejtmánková et al. (2002), Herrera et al. (2006), Guler (2007) a Sanz

Ceballos et al. (2009) uvádí hodnoty zinku v kozím mléce v rozsahu 1,37 - 7 $mg.kg^{-1}$. Rozdíl mezi farmami je statisticky signifikantní ($F=10,44$, $p<0,01$). V tomto případě jsou naopak naměřené hodnoty obsahu zinku v mléce vyšší na farmě B (extenzivní způsob chovu). V minerálním lizu na farmě B bylo však téměř 3x více zinku než než v minerálním lizu na farmě A.

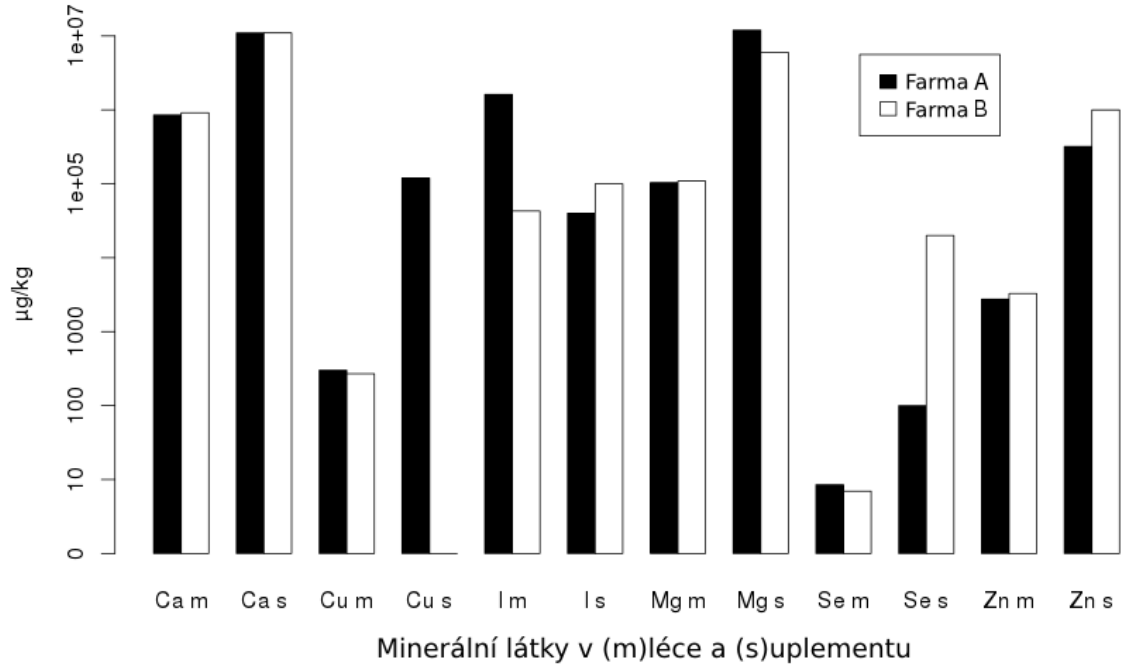
Rozdíly mezi hladinami hořčíku v mléce stanovenými na obou farmách nebyly statisticky významné. Na farmě A byl stanoven průměrný obsah 104,2 ± 12,7 $mg.kg^{-1}$ a na farmě B 109,9 ± 19,7 $mg.kg^{-1}$ hořčíku v mléce, přestože obsah hořčíku v minerálním lizu na farmě B byl oproti farmě A dvojnásobný. Na obou farmách byly také v mléce stanoveny velmi podobné průměrné obsahy vápníku (854,5 ± 110,4 $mg.kg^{-1}$ na farmě A a 915,2 ± 120,4 $mg.kg^{-1}$ na farmě B) a mědi (300,1 ± 131,9 $\mu g.kg^{-1}$ na farmě A a 270,3 ± 116,4 $\mu g.kg^{-1}$ na farmě B). Oba minerální lizy obsahovaly stejné množství vápníku, ale lišily se v obsahu mědi: (120 $mg.kg^{-1}$ na farmě A versus liz bez mědi na farmě B). Stanovené hodnoty obsahu vápníku, hořčíku a mědi v mléce jsou srovnatelné s hodnotami, které v kozím mléce uvádějí i jiní autoři (Guéguen, 1997; Hejtmánková et al., 2002; Herrera et al., 2006; Sanz Ceballos et al., 2009). Hodnoty hořčíku v kozím mléce uvedených autorů je v rozsahu 70 - 220 $mg.kg^{-1}$, hodnoty vápníku v rozsahu 830-1610 $mg.kg^{-1}$ a hodnoty mědi v rozsahu 30 – 330 $\mu g.kg^{-1}$.

Na základě předchozích výsledků lze konstatovat, že největší vliv dostupnosti minerálního lizu pro kozy se projevil v případě hladin jódu v mléce. Pro ostatních stanovené prvky nebyly nalezeny tak velké rozdíly mezi jejich obsahy v mléce na obou farmách, což může být způsobeno jejich dostupností z jiných zdrojů než z minerálního lizu a tedy nízkou potřebou zvířat využívat dostupný minerální liz.

Kozí mléko z obou farem bylo také testováno na obsah rizikového prvku - rtuti. Všechny testované vzorky, s výjimkou jediného vzorku z farmy A, byly pod povoleným limitem (0,1 $mg.kg^{-1}$) pro maximální obsah rtuti v potravinách jiných než ryby a další produkty rybolovu (Nařízení komise (ES) č. 1881/2006). Nadlimitní vzorek kozího mléka obsahoval 1,7 ± 0,008 $mg.kg^{-1}$ rtuti. Tuto skutečnost je možné s vysokou pravděpodobností vysvětlit náhodnou otravou dojené kozy po požití kontaminovaného materiálu, např. malé baterie. Ve vzorku mléka odebraného podojením stejné kozy v následném odběru za 14 dní hodnota obsahu rtuti v mléce klesla na běžnou úroveň (2,8 $\mu g.kg^{-1}$) hluboko pod hygienický limit. Průměrný obsah rtuti v mléce na farmě A (s vyloučením zmíněné nadlimitní hodnoty) byl zhruba dvojnásobný (2,84 ± 1,01 $\mu g.kg^{-1}$) než na farmě B (1,33 ± 0,53 $\mu g,kg^{-1}$), ale stále hluboko pod maximální povoleným hygienickým limitem. Obdobné hodntoty obsahu rtuti v kozím a kravském mléce < 0,002 $mg.kg^{-1}$ Stanovil také Mitchell (1981).

5.5.2 **Porovnání hladin minerálních prvků v mléce s dostupným minerálním lizem**

Na každé z farem (A i B) byl k dispozici jiný minerální liz. Obsahy prvků stanovené v kozím mléce a deklarované v minerálním lizu jsou znázorněny na obrázku 14. Mezi obsahem jódu v mléce a v suplementu byla nalezena silná negativní korelace (sklon = -26,3, r^2=0,88, p<0.001), kterou lze vysvětlit jako důsledek rozdílné dostupnosti minerálního lizu na obou farmách (viz kapitola 5.5.1). Nebyl zjištěn žádný významný vztah mezi obsahy dalších sledovaných prvků v mléce a deklarovanými obsahy těchto prvků v minerálním lizu.

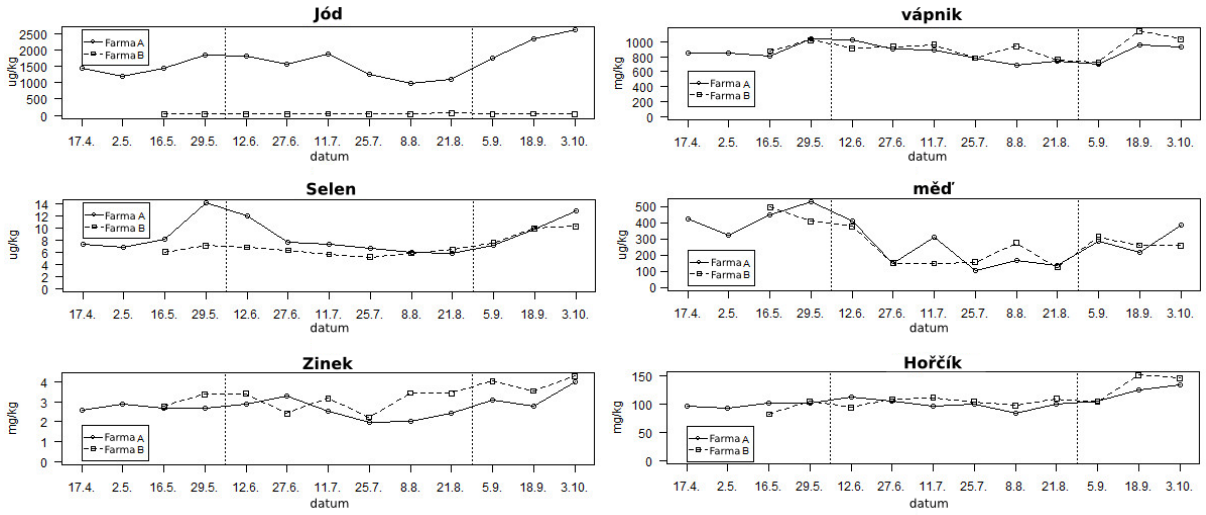


Obrázek 14: *Průměrné obsahy prvků v kozím mléce versus obsahy deklarované v minerálním lizu.. Měřítko je logaritmické a všechny hodnoty byly převedeny na µg.kg^{-1}. Minerální liz na farmě B je bez mědi. Farma A = intenzivní způsob chovu, farma B = extenzivní způsob chovu.*

5.5.3 **Vzájemné vztahy mezi minerálními prvky přítomnými v mléce**

Bylo sledováno šest vybraných prvků (Ca, Mg, Zn, Cu, Se a I) v kozím mléce na obou farmách v průběhu celé laktační sezóny (duben až říjen). Stanovené hodnoty sledovaných prvků v mléce v průběhu laktace jsou znázorněny na obrázku 15. Poměrně silná korelace byla nalezena mezi většinou sledovaných prvků. Nejvyšší korelační koeficienty byly nalezeny mezi obsahy Ca a Se (r = 0,83; r^2 = 0,56; p < 0,01), Zn a Mg (r = 0,74; r^2 = 0,58; p < 0,01) a Se a I (r = 0,73; r^2 = 0,54; p < 0,01) a Ca a Mg (r = 0,51). Výsledky jsou v souladu s publikací Gambella et al. (1999), který rovněž zjistil silnou korelaci (r= 0,73) mezi obsahy Ca a Se v mléce a dále mezi Ca a Mg (r = 0,75). Středně silnou korelaci (r = 0,54) stanovil Gambelli et al. (1999) mezi Zn a Mg v mléce, jód nebyl předmětem jejich výzkumu. K obdobným

závěrům došli také Navarro-Alarcon et al. (2011), kteří stanovili Se, Zn, Mg a Ca v kozích a kravských fermentovaných mléčných produktech. Tito autoři pozorovali významnou korelaci mezi Zn a Mg (r= 0,554) a středně silnou korelaci mezi Ca s Mg (r = 0,344).



Obrázek 15: *Obsahy sledovaných prvků v mléce v průběhu laktace (duben až říjen). Farma A = intenzivní způsob chovu, farma B = extenzivní způsob chovu. Vertikální tečkované čáry vyznačují hranice mezi laktačními fázemi.*

Naopak nebyly potvrzeny v literatuře uváděné (Gambelli et al., 1999) významné korelace mezi Ca se Zn a Se se Zn. Nejslabší korelace mezi obsahy sledovaných prvků v mléce byly pozorovány mezi mědí a všemi ostatními prvky, i když Park a Chukwu (1989) zjistili pozitivní korelaci mezi zinkem a mědí v mléce koz alpínského a anglo-nubijského plemene a Almeida et al. (2008) zjistili významnou korelaci mezi selenem a mědí v mateřském kolostru. Zároveň uvedli, že korelace mezi prvky v mléce se mění v průběhu laktace. Negativní korelace mezi obsahem selenu a zinku v kozím mléce nebyla prokázána, ačkoli byla popsána Kachueem et al. (2013) v kozím krevním séru, obdobně jako autory deklarovaná pozitivní korelace mezi hladinami selenu a mědi v krevním séru. V kozím kolostru však tyto korelace také nebyly stejnými autory potvrzeny. Je tedy pravděpodobné, že v různých tělních tekutinách nemusí být zachovány stejné poměry sledovaných prvků.

5.5.4 **Rozdíly mezi laktačními fázemi**

Celé laktační období (duben – říjen) bylo rozděleno do tří laktačních fází: časné (duben až květen), střední (červen až srpen) a pozdní (září až říjen). Z tabulky 26 je patrné, že kozí mléko v pozdní fázi laktace je velmi často bohatší na minerální látky. Významné zvýšení v pozdní fázi laktace bylo statisticky prokázáno v obsahu jódu v mléce na farmě A, selenu na

farmě B a zinku i hořčíku na obou farmách. Současně ve střední fázi laktace měly prvky tendenci nejnižšího výskytu. Tento již dříve pozorovaný jev, vysvětlil Slacanac et al., (2010) jako důsledek poklesu obsahu celkové sušiny v mléce uprostřed laktace. Navarro-Alarcon et al. (2011) studovali vztah mezi obsahy zinku, hořčíku a vápníku a obsahem bílkovin v mléce. Nejvyšší hodnoty obsahu mědi v mléce byly zjištěny v časné fázi laktace (statisticky významné na obou farmách), kdy je také v mléce vyšší procentuální zastoupení bílkovin. Hodnoty obsahu vápníku v mléce vykazovaly také v souladu s touto prací menší pokles uprostřed laktačního období, ale tento pokles nebyl statisticky významný.

Prvek	*Laktační fáze*	*Farma A*			*Farma B*		
		Průměr	*SD*	p	Průměr	SD	p
I	časná	1464[a]	266.4		38.62[a]	7.72	
µg.kg^{-1}	střední	1426[a]	381.1		44.77[a]	11.20	
	pozdní	2222[b]	443.2	<0.001	42.31[a]	3.53	
Se	časná	9.04[a]	3.36		6.51[a]	0.74	
µg.kg^{-1}	střední	7.49[b]	2.30	<0.05	5.98[a]	0.59	
	pozdní	9.91[a]	2.84		9.21[b]	1.49	<0.001
Zn	časná	2.69[a]	0.14		3.08[a]	0.43	
mg.kg^{-1}	střední	2.52[a]	0.52		3.02[a]	0.56	
	pozdní	3.30[b]	0.64	<0.05	3.97[b]	0.38	<0.01
Ca	časná	882.7[a]	105.8		946.7[a]	102.3	
mg.kg^{-1}	střední	834.1[a]	125.0		880.1[a]	88.08	
	pozdní	857.6[a]	143.2		964.5[a]	216.2	
Cu	časná	43.27[a]	8.45	<0.01	45.35[a]	6.22	<0.01
µg.kg^{-1}	střední	21.37[b]	12.28		20.52[b]	10.08	
	pozdní	29.88[b]	8.49		27.83[b]	3.01	
Mg	časná	98.32[a]	4.21		92.98[a]	16.19	
mg.kg^{-1}	střední	99.41[a]	9.57		103.8[a]	7.00	
	pozdní	121.5[b]	14.85	<0.001	133.3[b]	25.73	<0.001

Tabulka 26: *Obsahy I, Se, Zn, Ca, Cu a Mg v kozím mléce z farem A (intenzivní chov) a B (extenzivní chov) v průběhu laktačních fází. Hodnoty s rozdílnými indexy se statisticky významně liší.*

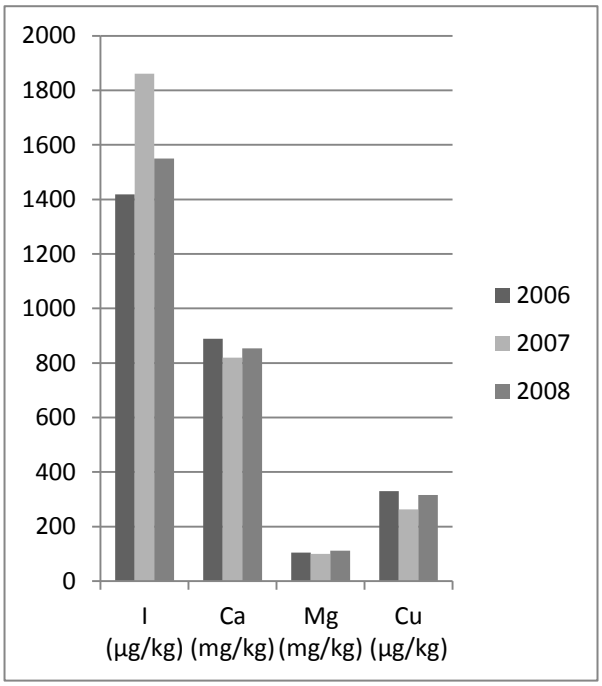
Hejtmánková et al. (2002) uvádí nejvyšší hodnoty vápníku a zinku v časné fázi laktace a naopak vzrůstající obsah hořčíku v pozdní fázi laktace. V souladu s touto studií byl nalezen nejvyšší obsah vápníku v časné fázi laktace na farmě A (rozdíl ale nebyl statisticky významný) a nejnižší obsah hořčíku v pozdní fázi laktace. V případě zinku se tato tendence nepotvrdila. Meschy (2002) také nalezl nejvyšší obsah vápníku v časné fázi laktace.

Nejvyšší hodnoty mědi byly naměřeny v časné fázi laktace (statisticky významné na obou farmách), což je v souladu s tím, co naměřila Hejtmánková et al. (2002) v kozím mléce. Hodnoty vápníku měly také menší pokles uprostřed laktace, ale ne statisticky významně.

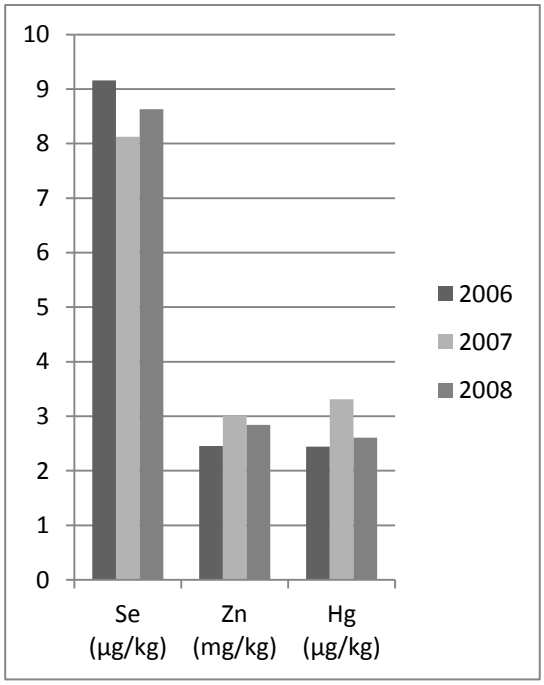
Mestawet et al. (2012), sledovali minerální složení kozího mléka v průběhu celé laktace v prostředí, kde nedocházelo ke změnám ve způsobu krmení (Etiopie). Shodně s výše uvedenými výsledky zjistili pokles obsahu vápníku uprostřed laktace, dále zvyšování obsahu hořčíku v průběhu laktační sezóny a naopak významný pokles obsahu zinku v mléce v průběhu laktace.

5.5.5 **Vliv roku narození koz (pořadí laktace)**

Byl sledován případný vliv roku narození koz a s ním související pořadí laktace na minerální složení kozího mléka. Kozy z farmy A se narodily v letech 2006, 2007 a 2008 a kozy z farmy B v letech 2002, 2003, 2005 a 2008. První laktace všech koz proběhla vždy v následujícím roce po narození. To znamená, že kozy narozené v roce 2008 měly již druhou laktaci, koz narozené v roce 2007 apod. Nejstarší kozy, narozené v roce 2002, měly již osmou laktaci v řadě za sebou. Výsledky sledování obsahu prvků v mléce z farmy A jsou znázorněny na obrázcích 16 a 17. Obsahy jódu a zinku jsou nejvyšší u koz narozených v roce 2007 a obsahy vápníku, hořčíku, mědi a selenu jsou naopak nejnižší v roce 2007. Obsahy vápníku a selenu byly nejvyšší v mléce koz narozených v roce 2006. Z výsledků ale není patrný významný rozdíl v obsahu minerálních látek v kozím mléce v závislosti na roku narození zvířete.

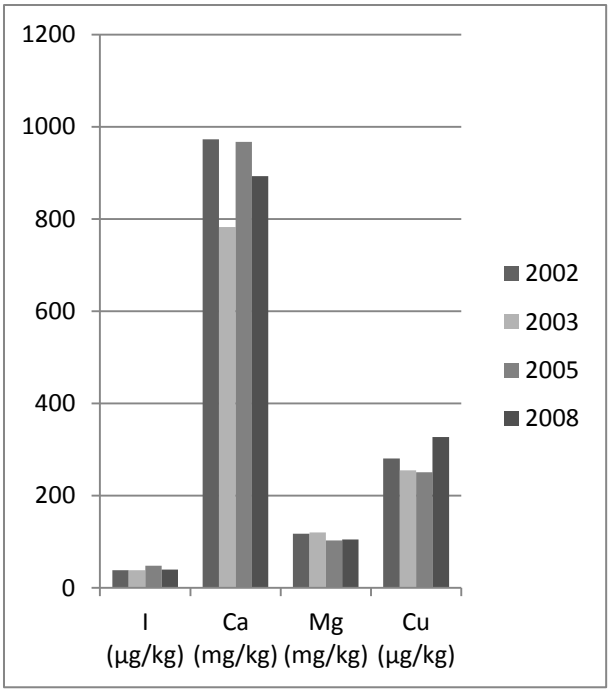


Obrázek 16: *Obsahy jódu, vápníku, hořčíku a mědi v kozím mléce z farmy A v závislosti na roku narození koz*

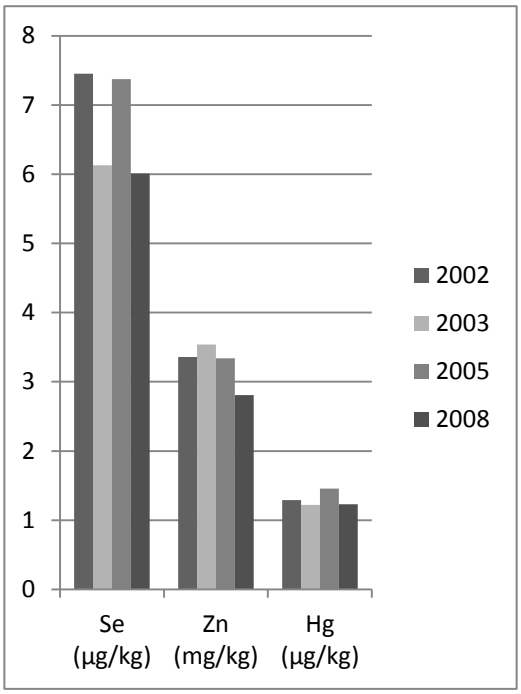


Obrázek 17: *Obsahy selenu, zinku a rtuti v kozím mléce z farmy A v závislosti na roku narození koz*

Na obrázcích 18 a 19 jsou zobrazeny hladiny minerálních látek v kozím mléce z farmy B v závislosti na roku narození koz. Obsah jódu byl nejvyšší v mléce koz narozených v roce 2005, obsah vápníku a selenu byl nejvyšší v roce 2002, obsah hořčíku a zinku v roce 2003 a obsah mědi byl nejvyšší v roce 2008. Obsah selenu a zinku byly nejnižší v roce 2008 a obsahy hořčíku a mědi v roce 2005. Obsahy jódu a vápníku byly nejnižší v mléce koz narozených v roce 2003. Ani zde ale nebyly patrné žádné významné rozdíly v obsahu sledovaných minerálních látek v závislosti na roce narození koz.



Obrázek 18: *Obsahy jódu, vápníku, hořčíku a mědi v kozím mléce z farmy B v závislosti na roku narození koz*



Obrázek 19: *Obsahy selenu, zinku a rtuti v kozím mléce z farmy B v závislosti na roku narození koz*

Z výsledků je patrné, že obsahy prvků v závislosti na roku narození koz, a tedy ani počtu laktací nebyly na farmě A nalezeny žádné statisticky významné rozdíly. To znamená, že stáří koz ani počet laktací neovlivňuje minerální složení mléka. Tyto závěry byly potvrzeny výsledky analýz mléka na obsah sledovaných prvků na farmě B.

5.6 Pokus č.4: Vliv přídavku řasy *Chlorelly* do krmné dávky na minerální složení kozího mléka

Při pokusu, ve kterém byly kozy krmeny přídavkem jednobuněčné sladkovodní řasy *Chlorelly* byl sledován obsah selenu, zinku a jódu v kozím mléce. Doucha (1998) uvádí poměrně vysoký obsah zinku v *Chlorelle* (110 $mg.kg^{-1}$) a také zmiňuje, že minerální látky jsou v *Chlorelle* biologicky vázané a dobře využitelné organismem: koncentrace a způsob vazby se dá do značné míry ovlivnit, což otevírá možnost získat biomasu řas s definovaným obsahem požadovaných prvků nebo jejich směsi v přirozené organické formě. Obohacování *Chlorelly* minerálními látkami, jako je selen a jód (Trávníček et al., 2010), a její využití jako minerálního suplementu je v současnosti předmětem výzkumů.

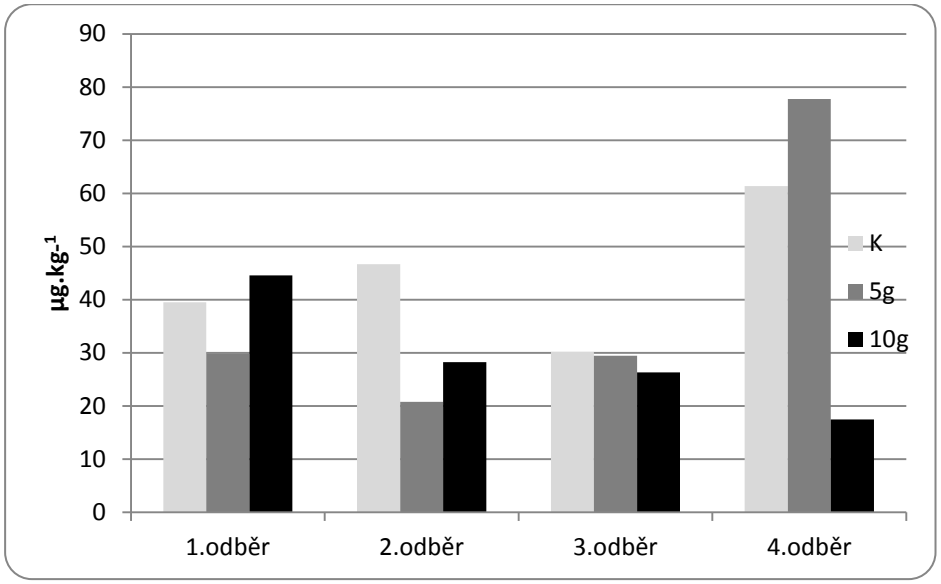
Kozy byly rozděleny do 3 skupin. První skupina koz byla kontrolní a jejich krmná dávka neobsahovala žádnou řasu. Ve druhé skupině koz krmná denní dávka obsahovala 5 g řasy *Chlorelly*, ve třetí skupině koz krmná denní dávka zahrnovala 10 g řasy *Chlorelly.* První

odběr byl proveden 15. 3. 2010, druhý odběr 28. 3. 2010, třetí odběr 11. 4. 2010 a čtvrtý odběr 26. 4. 2010, tzn. odběry byly prováděny přibližně ve 14 denních intervalech. Výsledky pokusu s obohacením krmné dávky o řasu *Chlorellu* jsou uvedeny v tabulce 27.

Prvek	*Skupina*	*1. odběr*	*2. odběr*	*3. odběr*	*4. odběr*	*n*
Selen	Kontrolní	39,53 ± 2,81	46,66 ± 0,97	30,18 ± 0,95	61,33 ± 5,83	30
($\mu g.kg^{-1}$)	5g/kus/den	29,85 ± 2,28	20,80 ± 1,67	29,46 ± 3,52	77,75 ± 4,64	27
	10g/kus/den	44,56 ± 1,71	28,23 ± 3,34	26,34 ± 2,67	17,49 ± 2,43	27
Zinek	Kontrolní	4,08 ± 0,12	3,39 ± 0,15	4,88 ± 0,86	3,44 ± 0,06	30
($mg.kg^{-1}$)	5g/kus/den	3,77 ± 0,26	1,97 ± 0,22	4,40 ± 0,57	4,30 ± 0,09	27
	10g/kus/den	3,32 ± 0,25	3,10 ± 0,37	4,49 ± 0,06	2,79 ± 0,41	27
Jód	Kontrolní	1019 ± 312	633,8 ± 214	626,2 ± 197	-	27
($\mu g.kg^{-1}$)	5g/kus/den	836,4 ± 277	781,7 ± 163	528,6 ± 217	-	24
	10g/kus/den	1115 ± 549	668,4 ± 252	512,0 ± 94,9	-	24

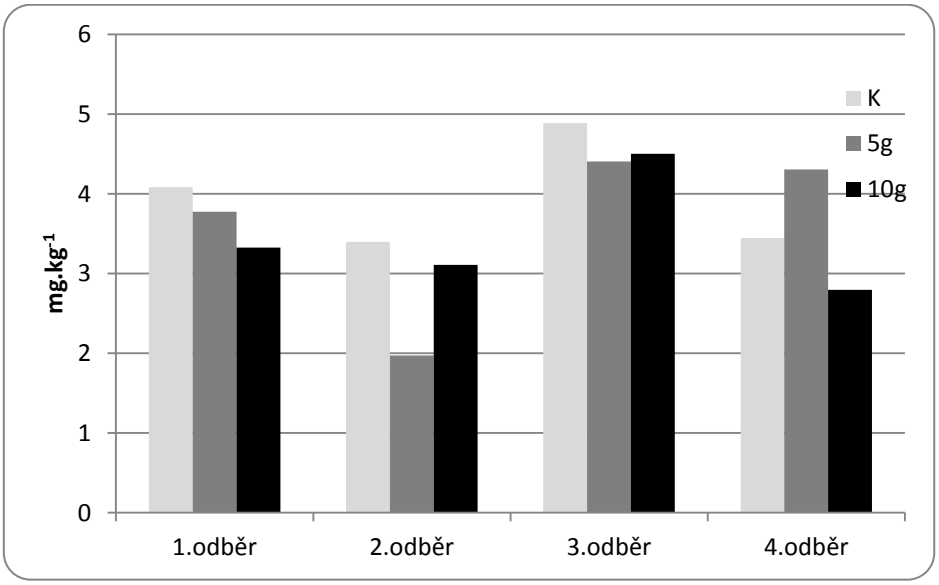
Tabulka 27: *Obsahy selenu, zinku a jódu v kozím mléce v pokusu s příkrmem Chlorellou*

Hodnoty obsahu selenu v mléce v průběhu pokusu značně kolísaly a je těžké určit jejich jednoznačný trend (obrázek 20). V kontrolní skupině koz hodnoty obsahu selenu v mléce kolísaly mezi 30,18 a 61,33 µg.kg-1, ve skupině krmené 5 g *Chlorelly* denně docházelo spíše k zvyšování obsahu selenu v mléce v průběhu sledovaného období a ve skupině koz s denním příkrmem 10 g *Chlorelly* byl naopak pozorován trend postupného snižování obsahu selenu v mléce v průběhu laktace. Celkově byl patrný sestupný trend obsahu selenu v mléce v závislosti na množství přidané řasy *Chlorelly* do krmné dávky. Kontrolní skupina koz měla v mléce za celé sledované období průměrně 44,42 ± 13,13 µg.kg-1 selenu, skupina koz krmená 5 g *Chlorelly* 39,46 ± 25,86 µg.kg-1 selenu a skupina koz krmená 10 g *Chlorelly* 29,15 ± 11,2 µg.kg-1. Výsledky jsou v rozporu s publikací Trávníčka et al. (2008), kteří pozorovali pozitivní efekt chlorellového příkrmu na hladiny selenu v ovčím mléce a nalezli zvýšené hodnoty selenu v mléce ovcí, jejichž krmivo bylo suplementováno řasou oproti skupině kontrolní.



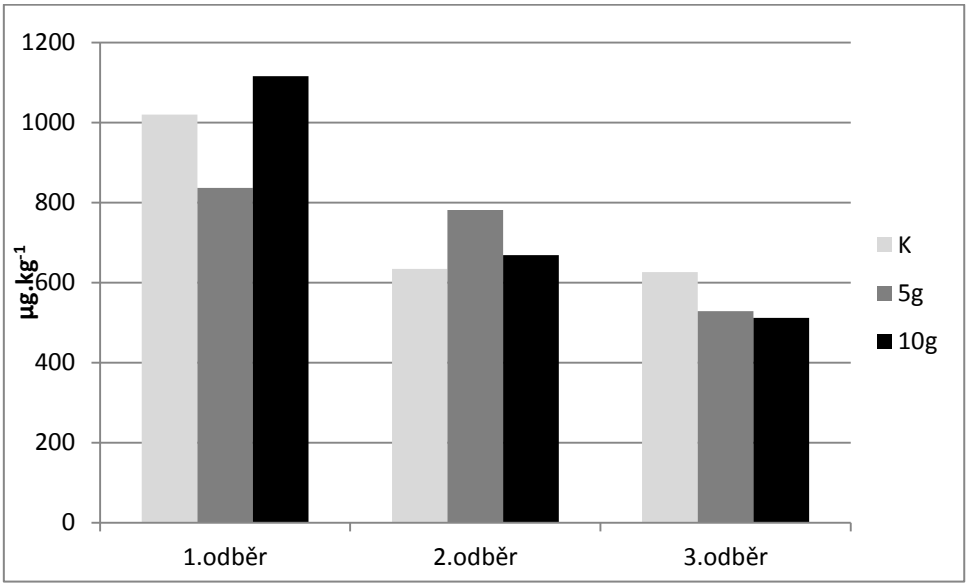
Obrázek 20: *Obsah selenu v mléce koz přikrmovaných Chlorellou. K= kontrolní skupina, 5g = kozy krmené 5g Chlorelly/den/kus, 10g = kozy krmené 10g Chlorelly/den/kus*

Obdobné změny v minerálním složení mléka byly pozorovány i v případě zinku (obrázek 21). Průměrný celkový obsah zinku v kozím mléce kontrolní skupiny koz za celé období byl 3,95 ± 0,69 $mg.kg^{-1}$, ve skupině koz krmených přídavkem 5 g *Chlorelly* denně byl 3,61 ± 1,12 $mg.kg^{-1}$ a ve skupině koz krmených přídavkem 10 g *Chlorelly* denně činil 3,43 ± 0,74 $mg.kg^{-1}$. Z obrázku 21 je patrný nižší obsah zinku v mléce ve skupinách koz s příkrmem řasou v prvních třech odběrech mléka v porovnání s kontrolní skupinou koz bez příkrmu. Nebyla nalezena žádná literatura, která by se zabývala vlivem chlorellového příkrmu na hladiny zinku v kozím mléce.



Obrázek 21: O*bsah zinku v mléce koz přikrmovaných Chlorellou. K= kontrolní skupina, 5g = kozy krmené 5g Chlorelly/den/kus, 10g = kozy krmené 10g Chlorelly/den/kus*

Z obrázku 22 jsou patrné obdobné změny v obsahu jódu v mléce po příkrmu koz řasou *Chlorellou* jako v případě selenu. Obsah jódu byl stanoven pouze ve 3 odběrech mléka, z důvodu nedostatku materiálu ze 4. odběru pro měření jódu. Hodnoty obsahu jódu v kozím mléce postupně klesaly ve všech třech skupinách koz od cca 800-1200 $\mu g.kg^{-1}$ v prvním odběru mléka až k cca 500-630 $\mu g.kg^{-1}$ v třetím odběru mléka, což je pokles zhruba o polovinu. K nejvýraznějšímu poklesu obsahu jódu došlo ve skupině koz přikrmovaných 10 g *Chlorelly* denně. Průměrný celkový obsah jódu v mléce kontrolní skupiny koz byl 759,8 ± 224 $\mu g.kg^{-1}$, v mléce skupiny koz s příkrmem 5 g *Chlorelly* denně 715,5 ± 164 $\mu g.kg^{-1}$ a v mléce skupiny koz s příkrmem 10 g *Chlorelly* denně 765,2 ± 313 $\mu g.kg^{-1}$. Z výsledků není patrný jednoznačný pozitivní vliv příkrmu řasou *Chlorellou* na obsah jódu v mléce tak, jak byl publikován Trávníčkem et al. (2010), který sledoval vliv *Chlorelly* obohacené jódem a selenem na hladiny jódu v ovčím mléce. V analýzách kozího mléka zejména z prvního ale i druhého odběru je však také patrný vyšší obsah jódu v mléce ve skupině koz krmených 10 g řasy *Chlorelly* v denní krmné dávce ve srovnání s mlékem koz kontrolní skupiny. Vyšší je i obsah jódu v mléce koz krmených 5 g řasy *Chlorelly* v denní krmné dávce ve srovnání s mlékem koz kontrolní skupiny ve druhém odběru.



Obrázek 22: *Obsah jódu v mléce koz přikrmovaných Chlorellou. K= kontrolní skupina, 5g = kozy krmené 5g Chlorelly/den/kus, 10g = kozy krmené 10g Chlorelly/den/kus*

V rozporu se zjištěním Trávníčka et al. (2010) nebyl v kozím mléce prokázán žádný významný pozitivní vliv příkrmu sladkovodní řasou *Chlorellou* na hladiny selenu, zinku a jódu, naopak ve většině případů byly pozorovány mírné poklesy obsahů všech sledovaných

prvků v mléce. Vzhledem k tomu, že obsahy selenu, zinku a jódu v mléce neodpovídaly výši příkrmu řasou, jsou zde pravděpodobně přednostně uplatňovány jiné vlivy, např. sezónní, související s přechodem ze suchých krmiv na pastvu a případnou změnou pastevního porostu. Jiným vysvětlením může být skutečnost, že řasa *Chlorella* přidávaná do krmné dávky nebyla kultivována v živném médiu obsahujícím zvýšená množství selenu a jódu (analýza řasy na obsah těchto prvků nebyla prováděna a o jejím původu nám nebylo nic známo, k dispozici jsme měly pouze zprostředkovaně jednotlivé vzorky mléka) nahrazovala v krmné dávce část krmiva, ve kterém byl naopak vyšší obsah těchto prvků, v tomto případě by byl pokles sledovaných prvků po příkrmu řasou vysvětlitelný.

Závěrem lze konstatovat, že náhrada části krmiva řasou *Chlorellou* skutečně může zvýšit obsah selenu a jódu, případně i dalších prvků v mléce, musí být však s velkou pravděpodobností sama při své kultivaci o tyto prvky obohacena.

5.7 **Pokus č. 5: Obsah selenu a jódu v bio kravském mléce**

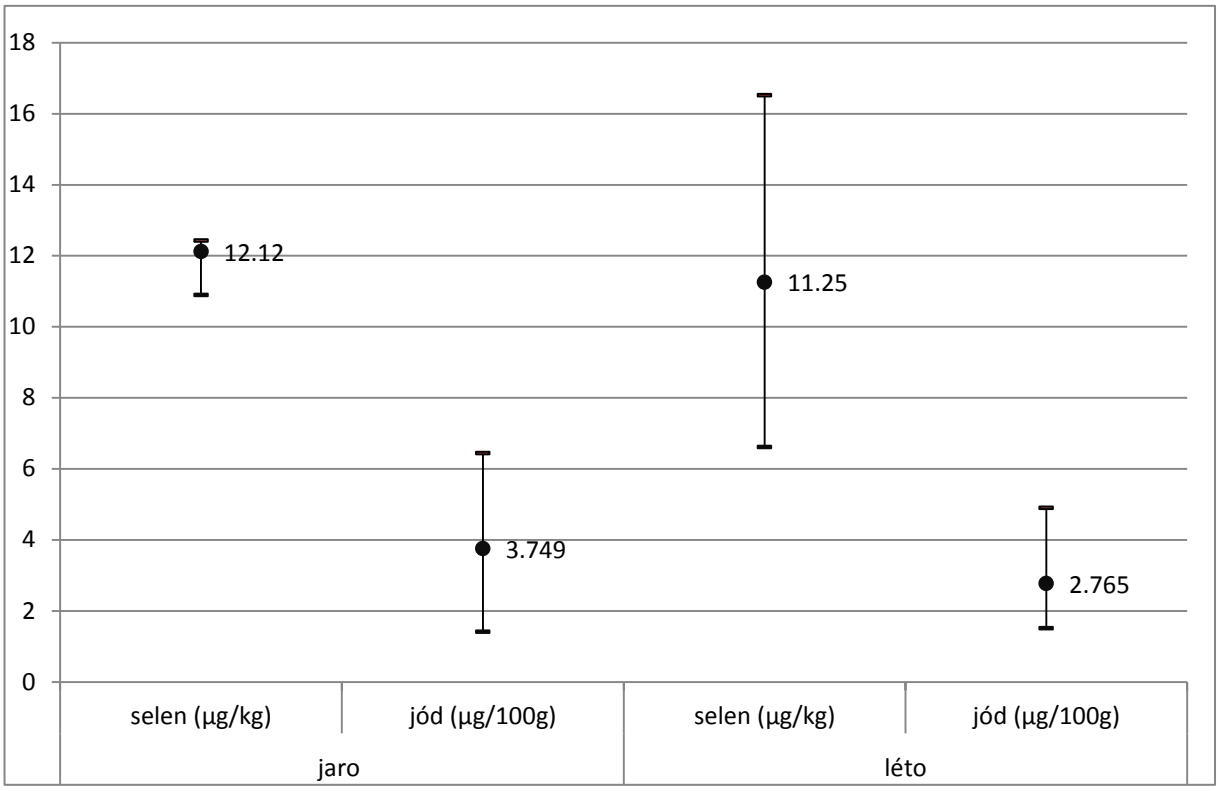
Celkový průměrný obsah jódu a selenu v kravském biomléce z osmi různých ekofarem na území České republiky byl 325,7 ± 49,25 µg.kg^{-1} resp. 11,68 ± 3,18 µg.kg^{-1}. V tabulce 28 jsou uvedeny hodnoty selenu a jódu v mléce z jednotlivých farem. V obsahu jódu v mléce byly stanoveny výrazně větší rozdíly než v obsazích selenu v mléce. Z výsledků je patrné, že nejnižší obsah selenu i jódu v mléce byl zjištěn na farmě F2. Nejvyšší obsah selenu v mléce byl zjištěn na farmě F3 a nejvyšší obsah jódu v mléce na farmě F5.

Farma	*Selen*			*Jód*		
	průměr	SD	CV%	průměr	SD	CV%
F1	13.47	0.65	4.88	268.0	109.0	40.66
F2	6.61	0.27	4.20	156.9	22.24	14.17
F3	16.52	0.76	4.61	349.7	179.43	51.29
F4	9.96	1.31	13.19	249.6	102.9	41.21
F5	11.00	2.01	18.34	532.6	186.3	34.98
F6	12.51	0.36	2.95	427.3	115.1	26.95
F7	11.08	0.29	2.65	387.5	95.09	24.53

Tabulka 28: *Obsahy selenu a jódu v kravském biomléce v µg.kg^{-1} na různých farmách v ČR*

Na obrázku 23 jsou znázorněny průměrné obsahy a rozpětí stanovených hodnot jódu a selenu v kravském biomléce z jarního (březen až červen) a letního (červenec až září) období. Obsahy selenu i jódu v mléce stanovené v jarním období jsou mírně vyšší než hodnoty stanovené v letním období, ale rozdíl není statisticky významný. Mezi obsahy jódu ani selenu

nebyla nalezena žádná korelace. Z obrázku 23 je zároveň patrné, že hodnoty jódu mají tendenci výrazně kolísat.



Obrázek 23: *Obsahy selenu a jódu v kravském mléce v jarním (březen-červen) a letním období (červenec-září).*

Stanovené obsahy obou prvků v kravském biomléce odpovídají hodnotám publikovaným v české i zahraniční literatuře. Obsah jódu v kravském mléce se podle různých autorů ve světě velmi liší a nachází se v rozsahu od 10 do 2000 µg.l^{-1}. V České republice byly nalezeny koncentrace jódu v kravském mléce podle různých autorů v rozmezí 34,8 - 605 µg.kg^{-1} (Třináctý et al., 2001; Kursa et al., 2005; Hejtmánková et al., 2006; Trávníček et al, 2006; Paulíková et al., 2008). Hladinami selenu v kravském mléce v ČR se zabýval Koutník et al. (1996) který stanovil průměrný obsah 37,0 µg.l^{-1}, tzn. s výjimkou farmy F3 přibližně třikrát více než bylo stanoveno v mléce, které bylo nadojeno na sledovaných ekofarmách. Na farmě F3 byl obsah selenu v mléce ve srovnání s údajem Koutníka et al. (1996) cca poloviční.

6 ZÁVĚR

Byly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi obsahy jódu v mléce koz a ovcí chovaných na jednotlivých farmách. Obsahy jódu nalezené v ovčím mléce se pohybovaly v rozsahu 20,2 - 1398 $mg.kg^{-1}$ a v kozím mléce v rozsahu 120 - 940 $mg.kg^{-1}$. Obsahy selenu v ovčím mléce se pohybovaly v rozsahu 2,91-33,4 $mg.kg^{-1}$ a v kozím mléce v rozsahu 4,05 - 14,9 $mg.kg^{-1}$. Z rozsahů je patrné, že hodnoty selenu i jódu v ovčím mléce kolísají mnohem více než v mléce kozím. Stanovená množství jódu a selenu odpovídala úrovni minerální suplementace, dostupné kozám i ovcím ve formě minerálních lizů. Na farmách, kde měly ovce k dispozici pouze solné lizy, byly zejména obsahy jódu v mléce velice nízké až podlimitní. Na farmách, kde byly kozám i ovcím dostupné minerální lizy s přídavkem selenu a jódu, zjištěné hodnoty selenu a jódu v mléce byly statisticky významně vyšší.

Obsahy jódu v kozím a ovčím mléce, pocházejícím od zvířat ze stejných farem, které měly stejné krmivo i minerální liz, nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly. Z výsledků vyplývá, že pokud jsou ovce a kozy chovány za stejných podmínek, jejich mléko obsahuje srovnatelné množství jódu.

Byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi hladinami selenu a jódu v mléce v zimním a letním období. Více selenu a jódu obsahovalo kozí a ovčí mléko vždy v zimním období. Tato skutečnost je pravděpodobně důsledkem změny krmiva z čerstvého na sušené.

Nebyl prokázán statisticky významný vliv kozího plemene ani rodové linie na obsah selenu a jódu v mléce.

Pokus se sledováním minerálního složení kozího mléka, odebraného v průběhu laktační sezóny 2010 na farmách s rozdílným způsobem chovu (intenzivní versus extenzivní), prokázal významné rozdíly v obsahu jódu a zinku na obou farmách. Z výsledků je patrné, že na obsah jódu a zinku v mléce má větší vliv dostupnost minerálního lizu pro zvířata na farmě (lepší je v intenzivním způsobu chovu) než deklarovaný obsah jódu v minerálním lizu.

Na základě uvedených dílčích výsledků lze konstatovat, že nejvýznamnějším faktorem ovlivňujícím obsahy selenu a jódu v kozím a ovčím mléce je způsob chovu koz i ovcí na jednotlivých farmách a zároveň i specifické podmínky jednotlivých farem pro chov drobných hospodářských zvířat.

Byl prokázán statisticky významný vliv pokročilosti laktace na obsah minerálních látek v kozím mléce. Kozí mléko v pozdní fázi laktace je velmi často bohatší na minerální látky. Nejvyšší obsahy minerálních látek se v mléce nacházejí v pozdní fázi laktace a nejnižší uprostřed laktačního období.

Při pokusu v průběhu laktační sezóny roku 2008 byla nalezena jen slabá korelace mezi selenem a jódem v kozím mléce a žádná korelace mezi selenem a jódem v ovčím mléce. Při pokusu s kozím mlékem odebraným v průběhu laktační sezóny roku 2010 byly nalezeny silné korelace mezi některými prvky přítomnými v kozím mléce, a to vápníkem a selenem, zinkem a hořčíkem, a selenem a jódem. Naopak nebyly nalezeny žádné korelace mezi mědí a ostatními sledovanými prvky.

Průměrné hodnoty rizikového prvku rtuti stanovené v kozím mléce na farmách s intenzivním i extenzivním způsobem chovu jsou pod maximálním limitem stanoveným Evropským úřadem pro bezpečnost potravin pro rtuť v potravinách, který je 0,1 $mg.kg^{-1}$.

Většina kozího i ovčího mléka se zpracovává na sýry. Byla sledována distribuce jódu, selenu a zinku v mléce. Za tímto účelem byly zároveň se vzorky mléka odebírány i vzorky syrovátky. Z výsledků vyplynulo, že z mléka přechází průměrně 75 % jódu 23,7 % selenu do syrovátky. Zinek je vázán téměř výhradně na kaseinovou frakci, do syrovátky přechází necelých 5 %. Syrovátka je dobrým zdrojem jódu, avšak dobrým zdrojem selenu a zinku jsou naopak sýry.

Optimálním řešením pro získání požadovaných hodnot jódu a selenu v kozím mléce i ovčím mléce je stanovení obou prvků v mléce hospodářských zvířat individuálně na každé farmě a podle výsledků analýz mléka zvolit vhodnou formu minerální suplementace, s ohledem na to, že jedním z faktorů může být i dostupnost minerálního lizu pro zvířata.

7 LITERATURA

Abilleira E., Virto M., Nájera A.I., Salmorón J., Albisu M., Pérez-Elortondo F.J., Ruiz de Gordoa J.C., de Renobales M., Barron L.J.R. 2010. Effects of seasonal changes in feeding management under part-time grazing on the evolution of the composition and coagulatin properties of raw milk from ewes. Journal of Dairy Science 93: 3902-3909.

Aganga A.A., Amarteifio J.O., Nkile N. 2002. Effect of stage of lactation on nutrient composition of Tswana sheep and goat´s milk. Journal of Food Composition and Analysis 15: 533-543.

Alférez M.J.M. 2003. Effect of dietary inclusion of goat milk on the bioavailability of zinc and selenium in rats. Journal of Dairy Research 70:181-187.

Allen J.C., Miller W.J. 1980. Selenium binding and distribution in goat and cow milk. Journal of Dairy Science 63:526-531.

Almeida A.A., Lopes C.M.P.V., Silva A.M.S, Barrado E. 2008. Trace elements in human milk: Correlation with blood levels, inter-element correlations and changes in concentration during the first month of lactation. Journal of trace elements in medicine and biology 22(3): 196-205.

Anděl M., Bayer M., Dlouhý P., Dostálová J., Drbohlav J., Kunešová M., Nevoral J., Tláskal P. 2010. Mléko a mléčné výrobky ve výživě. Česká technologická platforma pro potraviny ve spolupráci s Potravinářskou komorou České Republiky, 1.vydání, Praha, ISBN 978-80-254-9012-9.

Arthur J.R. 2003. Selenium supplementation? Does soil supplementation help and why? Proceedings og the Nutrition society 62:393-397.

Azuolas J.K., Caple I.W. 1984: The iodine status of grazing sheep as monitored by concentrations of iodine in milk. Aust Vet J 61: 223-227.

Babička L., Kouřimská L. 2006. Balíček hygienických opatření. In: Den mléka 2006, Sborník referátů z konference, Česká zemědělská univerzita v Praze

Barrionuevo M., Alferez M.J.M., Lopez Aliaga I., Sanz Sampelayo M.R., Campos M.S. 2002. Beneficial effect of goat milk on nutritive utilization of iron and copper in malabsorption syndrome. Journal of Dairy Science 85: 657-664.

Barrionuevo M., López Aliaga I., Alférez M.J.M., Mesa E., Nestáres T., Campos M.S. 2003. Beneficial effect of goat milk on bioavailability of copper, zinc and selenium in rats. J.Physiol.Biochem. 59 (2): 111-118 .

Binnerts W.T. 1989. Milk analysis for the iodine status of dairy cows. Z.Des.Hyg.35:12-15.

Bobek S., 1998: Iodine prophylaxis in animals. Med Weter, 54: 80-86

Braun J.P., Trumel C., Bézille P. 2010. Clinical biochemistry in sheep: A selected review. Small Ruminant Research 92(1-3): 10-18.

Brigelius-Flohé R. 2008. Selenium compounds and selenoproteins in cancer. Chemistry and Biodiversity 5:389-395.

Brown K.M.et Arthur J.R. 2001. Selenium, selenoproteins and human health: a review. Public Health Nutrition 4 (2B):593-599.

Burk R.F., Hill K.E., Motley A.K. 2001. Plasma selenium in specific and nonspecific forms. Biofactors 14: 107-114.

Cashman K.D. 2006. Milk minerals (including trace elements) and bone health. International Dairy Journal 16: 1389-1398.

Ceballos A., Sanchez J., Stryhn H., Montgomery J.B., Barkema H.W., Wichtel J.J. 2009. Meta-analysis of the effect of oral supplementation on milk selenium concentration in cattle. Journal of Dairy Science 92(1): 324-342.

Combs GF. 2001. Selenium in global food systems. Br J Nutr. 85: 517-547.

Coni E., Bocca A., Coppolelli P., Caroli S., Cavalucci C., Marinucci M. 1996. Minor and trace element content in sheep and goat milk and dairy products. Food Chemistry 57 (2): 253-260.

Černohorský T. 2003. Atomová absorpční spektrometrie I: základní kurz. Praha, Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-7080-513-7.

Černohorský T. 2006. Atomová absorpční spektrometrie II: kurz pro pokročilé. Brno, Spektroskopocká společnost Jana Marka Marci. ISBN 80-903732-0-8.

Černohorský T., Jandera P. 1997. Atomová spektroskopie. Pardubice, Univerzita Pardubice. ISBN 80-7194-114-X.

Český statistický úřad. Spotřeba konzumního mléka a sýrů (na obyvatele za rok) v letech 1993-2011 [cit. 2013-02-13] <http://www.czso.cz/csu/2012edicniplan.nsf/tab/C40050A1E0>.

Český statistický úřad. Spotřeba potravin a nealkoholických nápojů (na obyvatele za rok) v letech 2003 – 2011. [cit. 2013-02-13] <http://www.czso.cz/csu/2012edicniplan.nsf/t/C40050A1DB/$File/21391201.pdf>.

Čurda L., Rudolfová J. 2000. Changes of iodine content in milk of cows treated with Betadine. Czech J. Food Sci. 18 (1): 5-8.

Dahl L., Opsahl J.A., Meltzer H.M., Julshamn K. 2003. Iodine concentration in Norwegian milk and dairy products. Br J Nutr 90: 678-685.

Debski B., Picciano M.F., Milner J.A. 1987. Selenium content and distribution of human, cow and goat milk. The journal of nutrition 117:1091-1097.

Dědina J. 2006. Generování těkavých sloučenin. In: Černohorský T..Atomová absorpční spektrometrie II: kurz pro pokročilé. Brno, Spektroskopocká společnost Jana Marka Marci. ISBN 80-903732-0-8.

Dědina J., Fara M., Kolihová D., Korečková J., Musil J, Plško E., Sychra V. 1987. Vybrané metody analytické atomové spektromerie. Československá spektroskopická společnost, Sekce optické atomové spektroskopie, Praha.

Díaz-Castro J., Munoz-Alferez M.J., Lopez-Aliaga I., Nestares T., Campos M.S. 2011. Effect of calcium-fortofied milk-rich diets (either goat´s or cow´s milk) on copper bioavailability in iron-deficient anemia. Dairy Science and Technology 91: 203-212.

Donaldson M.S. 2004. Nutrition and cancer: A review of the evidence for an anti-cancer diet. Nutrition Journal 3:19.

Dostálová J. 2004. Srovnání výživové hodnoty kozího a kravského mléka. In: Den mléka 2004. Sborník referátů z konference s mezinárodní účastí. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha. 39-41.

Doucha J. 1998. Program *Chlorella* v České republice. Mikrobiologický ústav AV ČR Třeboň.

Drbohlav J., Vodičková M. 2001. Tabulky látkového složení mléka a mléčných výrobků. ÚZPI, Praha.

Eichler Š., Mestek O. 2011. Validace stanovení a speciační analýza selenu v moči užitím kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem. Chemické Listy 105:200-206.

Ellis D.R et Salt D.E. 2003. Plants, selenium and human health. Curent opinion in plant biology 6:273-279.

Elmastas M., Can M., Uzun S., Aboul-Enein H.Y. 2005. Determinations of copper, zinc, cadmium and nickel in cow´s, goat´s ewe´s and human milk samples using flame atomic absorption spectrometry (FAAS) microwave digestion. Analytical letters 38: 157-165.

Ferri N., Ulisse S., Aghini-Lombardi F., Graziano F.M., Di Mattia T., Russo F.P., Arizzi M., Baldini E., Trimboli P., Attanasio D., Fumarola A., Pinchera A., D'Armiento M. 2003. Iodine supplementation restores fertility of sheep exposed to iodine deficiency. J Endocrinol Invest 26: 1081-1087.

Fiedlerová V. 1998. Spectrophotometric determination of iodine and it´s content and stability in selected food raw materials and products.Czech J. Food Sci. 16, 163-167.

Flynn A., Power P. 1985. Nutritional aspect of minerals in bovine and human milks. In: Fox P.F. (ed): Developments in Dairy chemistry – 3.Elsevier, London, 183-215.

Fuente M.A., Olano A., Juarez M. 1997. Distribution of calcium, magnesium, phosphorus, zinc, manganese, copper and iron between the soluble and colloidal phases of ewe´s and goat´s milk. Lait 77(4): 515-520.

Gajdůšek S. 2003. Laktologie.Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 1.vyd., 84s. ISBN: 80-7157-657-3.

Gambelli L., Belloni P., Ingrao G., Pizzoferrato L., Santaroni G.P. 1999. Minerals and Trace Elements in some Italian Dairy Products. Journal of Food Composition and Analysis 12: 27-35.

Graham T.W. 1991. Trace element deficiencies in cattle. Vet Clin N Am-Food Anim Pract 7: 153-215.

Groppel B., Anke M. 1991. Iodine content in foodstuffs and iodine intake of adult in central Europe. In: Momčilovič B. (ed.): Trace elements in man and animals, Zagreb. 7: 981-985.

Groppel B. 1993. Jodmangel beim Tier. In: Anke M., Gürtler H. (eds.): Mineralstoffe und Spurelemente in der Ernährung. Verlag Media Touristik, Gersdorf .127-156.

Guler Z. 2007. Levels of 24 minerals in local goat milk, its strained yoghurt and salted yoghurt (tuzlu yoghurt). Small Ruminant Research 71(1-3): 130-137.

Guégen, L. 1997. La valeur nutritionelle minérale du lait de chevre. In: Intérets nutritionel et diététique du lait de chevre. Niort, Ed INRA, Paris Colloques 7. Novembre 1996, pp. 67-80.

Gushurst C.A., Müller J.A., Gren J.A., Sedor F. 1984. Breast milk iodide – reassessment in the 1980s. Pediatrics 73:354-357.

Haenlein G.F.W. 2001. Past, present, and future perspectives of small ruminant dairy research. Journal of Dairy Science 84, 2097-2115.

Haenlein G.F.W. 2004. Goat milk in human nutrition. Small Ruminant Research 51: 155-163.

Haenlein G.F.W. 2007. About the evolution of goat and sheep milk production. Small Ruminant Research 68(1-2): 3-6.

Haenlein G.F.W., Anke M. 2011. Mineral and trace element research in goats: A review. Small uminant Research 95: 2-19.

Hampel K, Schöne, F., Böhm V., Leiterer M., Jahreis G. 2004. Zusammensetzung und ernährungsphysiologische Bedeutung von Schafmilk und Schafmlkproduktion. Dtsch.Lebensm.Rdsch 11: 425-430

Harper H.A. 1977. Přehled fysiologické chemie. Praha, Avicenum. ISBN 08-051-77

Hejtmánková A., Kučerová J., Miholová D., Kolihová D., Orsák M. 2002. Levels of selected macro- and microelements in goat milk from farms in the Czech Republic. Czech Journal of Animal Science 69: 253-260.

Hejtmánková A., Miholová D., Kolihová D. 2008. Obsah vybraných minerálních látek v ovčím mléce a syrovátce. In: Den mléka 2008: sborník referátů z mezinárodní konference, 116-118.

Hejtmánková A., Táborský J., Dragounová H., Novotný O. 2009. Variability of unsaturated fatty acids in milk from different farms of the Czech Republic. Scientia Agriculturae Bohemica 40: 204-211.

Hejtmánková A., Vejdová M., Trnková E. 2005. Stanovení jódu v biologickém materiálu metodou HPLC e elektrochemickým detektorem. Chem.listy 99:657-660.

Hejtmánková A., Žabová V., Trnková E., Dragounová H., Louda F. 2000. Stanovení jódu v mléce a mléčných výrobcích metodou HPLC. In: Den mléka 2000: sborník referátů z mezinárodní konference, 65-67.

Hemken R.W. 1979. Factors that influene the iodine content of milk and meat: a review. Journal of Animal Science 48: 981-985.

Hermansen J.E., Aaes O., Ostersen S., Vestergaard M. 1995. Rapeseed products for dairy cos – milk Seld and milk quality. Forskningsrapport fra Statens Husdurbrugsforsog 29: 1-31.

Herrera M.I., Pelaez P., Fresno M., Rodriguez E., Darias J., Diaz C. 2006. Mineral and trace element concentrations of dairy products from goat´s milk produced in Tenerife (Canary Islands). International Dairy Journal 16(2), 182-185.

Herzig I., Písaříková B., Kursa J., Říha J. 1999. Defined iodine intake and changes of its concentration in urine and milk of dairy cows. Vet.Med. – Czech. 44(2):35-40.

Herzig I., Říha J., Písaříková B. 1995. Urinary iodine level as an intake indicator in dairy cows. Vet. Med. –Czech. 41(4):97-101.

Herzig I., Suchý P. 1996. Current views on the importance iodine for animals. Vet Med-Czech, 41: 379-386.

Hilali M., El-Mayda E., Rischkowsky B. 2011. Characteristics and utilization of sheep and goat milk in the Middle East. Small Ruminant Research 101(1-3): 92-101.

Hojerová H. 2003. Účinné látky kozieho mlieka v kozmetike. Mliekarstvo 34 (4):46-48.

Christophersen O.A et Haug A. 2005. Possible roles of oxidative stress, local circulatory failure and nutrition factors in the pathogenesis of hypervirulent influenza: Implications for therapy and global emergency preparedness. Microbial Ecology in Health and Disease 17:189-199.

International IDF Standard 167:1994: Milk and dried milk – Determination of iodine content. High performance liquid chromatographic method. Dostupné z < /www.fil-idf.org/>.

Isaac-Olive K., Acharya R., Chatt A. 2008. Fractionation analysis of iodine in bovine milk by preconcentration neutron activation analysis. Talanta 77: 827-832.

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

Janczyk P., Franke H., Souffrant W.B. 2007. Nutritional value of Chlorella vulgaris: Effects of ultrasonication and electroporation on digestibility in rats. Animal Feed Science and Technology 132(1-2): 163-169.

Jiang X.M., Cao X.M., Jiang J.Y. 1997. Dynamics of environmental supplementaion of Iodine: four years of experience of iodination of orrigation water in Hotien, Xinjiang, China. Arch Environ Health 52:399-408.

Ježková A., Sheinherrová K., Dragounová H., Štolc L. 1999. Kvalita kozího mléka – obsah složek, výtěžnost při výrobě sýrů. In: Den mléka 1999. Sborník referátů z konference s mezinárodní účastí zaměřený na současné problémy výroby a odbytu mléka. Česká zemědělská univerzita v Praze, 41-42.

Kachuee R., Moeini M.M., Souri M. 2013. The effect of dietary organic and inorganic selenium supplementation on serum Se, Cu, Fe and Zn status during the late pregnancy in Merghoz goats and their kids. Small Ruminant Research 110: 20-27.

Kajaba I. 1995. Význam jódu vo výžive obyvateľstva. Výživa a zdravie 40(1-2):3-4.

Kalous V. 1987. Metody chemického výzkumu, Praha SNTL/ALFA,. ISBN 04-617-87.

Kaufmann S., Kursa J., Kroupová V., Rambeck W.A. 1998. Iodine in milk by supplementing feed: An additional strategy to erase iodine deficiency. Vet.Med.-Czech. 43(6):173-178.

Khan Z.I., Ashraf M., Hussain A., McDowell L.R., Ashraf M.Y. 2006. Concentrations of minerals in milk of sheep and goats grazing simile pastures in a semiarid region of Pakistan. Small Ruminant Research 65:274-278.

Kirchgessner M. 1959. Z. Thierphysiol 14, 165.

Klouda, P. 2003. Moderní analytické metody, 2. vyd., Ostrava, 132 s. ISBN 80-86369-07-2

Knowles S.O., Grace N.D., Wurms K., Lee J. 1999. Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk and casein selenium concentrations in grazing cows. Journal of Dairy Science 82:429-437.

Köhrle J., Gärtner R. 2009. Selenium and thyroid. Best Practice&Research clinical endocrinology and metabolism, Berlin, Germany 23: 815-827.

Komárek J. 2000. Atomová absorpční spektrometrie. Brno, Masarykova univerzita. ISBN 80-210-2500-X.

Komárek a Červenka. Stanovení rtuti a jejích forem technikami AAS a AFS. In: Černohorský T. 2006. Atomová absorpční spektrometrie II: kurz pro pokročilé. Brno, Spektroskopocká společnost Jana Marka Marci. ISBN 80-903732-0-8.

Kondyli E., Katsiari M.C., Voutsinas L.P. 2007. Variations of vitamin and mineral contents in raw goat milk of the indigenous Greek breed during lactation. Food Chemistry 100: 226-230.

Kouřimská L., Kovářová E., Dragounová H., Babička L. 2006. Změny kvality kozího mléka a sýrů v průběhu laktace. Den mléka 2006: sborník referátů z mezinárodní konference, 119-120.

Kouřimská L. 2007. Úvod do mlékařství – Laboratorní cvičení. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.

Koutník V., Kourek B., Havlíček Z.1996. Selenium content in milk of some dairy cattle herds in the south Moravian region. Živočišná výroba 41: 473-474.

Křivda B. 2006 (a). Alergie na kravské mléko. Den mléka 2006: sborník referátů z mezinárodní konference, 164-165.

Křivda B. 2006 (b). Kozí mléko – srovnání s mlékem kravským. Den mléka 2006: sborník referátů z mezinárodní konference, 166-167.

Kuchtík J. 2008-2009. Chov koz v České republice – minulost, současnost a budoucnost. In: Chov koz v systému trvale udržitelného zemědělství. Program rozvoje venkova ČR. 13-17.

Kursa J., Herzig I., Trávníček J., Kroupová V. 2005. Milk as a food sourse of iodine for human consumption in the Czech Republic. Acta Vet. Brno 74:255-264.

Kursa J., Trávníček J., Rambeck W.A., Kroupová V., Vítovec J. 2000. Goitrogenic effects of extracted rapeseed meal and nitrates in sheep and their progeny. Veterinární Medicína 45(5):129-140.

Kvíčala J.2010. Selen a jeho význam pro lidský organismus. In: Mikroelementy 2010, Sborník přednášek XLIII.semináře o metodice stanovení a významu stopových prvků v biologickém materiálu a v životním prostředí. 2 THETA, 10.-12.května 2010, Valtice. 14-24.

Lamand, M.1981. Metabolisme et besoins en oligo-elements. In: Morand-Fehr, P., Bourbouze, A., de Simiane, M. Nutrition and systems of goat feeding. Symposium International, Tours, France, May12-15, 1981, Intra-Itovic, Paris, France, 1:210-217.

Legarová V. 2011. Posouzení kvality sladké syrovátky vzhledem k možnosti využití pro potrravinářské účely. Dizertační práce. Česká zemědělská univerzita v Praze. Fakulta agrobiologie, přírodních a potravinových zdrojů. Praha. 126s.

Lei X.G., Cheng W.H., McClung J. 2007. Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1. Annu. Rev. Nutr. 27:41-61.

Leitner G., Merin U., Silanikove N. 2004. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats. Journal of Dairy Science 87: 1719-1726.

Lengemann F.W. 1979. Effect on low and high ambient temperatures on metabolism of radioiodine by the lactating goat. J Dairy Sci 62: 412-417.

Liesegang A., Risteli J., Wanner M. 2006. The effects of first gestation and lactation on bone metabolism in dairy goats and milk sheep. Bone 38(6): 794-802.

Luty-Frackiewicz A. 2005. The role of selenium in cancer and viral infection prevention. Int.J.of occupational medicine and environmental health, 18(4): 305-311.

Lužová T., Šustová K. 2008-2009: Sortiment výrobků z kozího mléka. Chov koz v systému trvale udržitelného zemědělství. Program rozvoje venkova ČR. 27-32.

Lyons G.H., Stangoulis J.C.R., Graham R.D. 2004. Exploiting micronutrient interaction to ooptimize biofortification programs: The case for Inclusion of Selenium and Iodine in the HarvestPlus program. Nutrition Reviews v.62 n.6 247-252.

Malá G., Švejcarová M. 2009. Kvalita mléka ovcí a prostředí chovu. Agroweb, internetový zemědělský portál. [cit. 2011-03-21] Dostupné z <http://www.agroweb.cz/Kvalita-mleka-ovci-a-prostredi-chovu__s414x34784.html>.

Mareš V. 2008-2009. Legislativa týkající se chovu ovcí a koz. Chov koz v systému trvale udržitelného zemědělství. Program rozvoje venkova ČR. 52-58.

Mareš,V. 2008-2009. Chov koz obecně. Chov koz v systému trvale udržitelného zemědělství. Program rozvoje venkova ČR. 7-12.

Mayer H.K., Fiechter G. 2012. Physical and chemical characteristics of sheep and goat milk in Austria. International Dairy Journal 24(2): 57-63.

Mee J.F., Rogers Pam. 1996. prevalence of iodine, selenium, copper and kobalt deficiencies on Irish farms. Irish Vet J 49: 160-164.

Meschy F. 2000. Recent assessment of mineral requirements of goats. Livestock Production Science. Paris, France. 64:9-14.

Mestawet T.A., Girma A., Adnoy T., Devold T.G., Narvhus J.A., Vegarud G.E. 2012. Milk production, composition and variation at different lactation stages of four goat breeds in Ethiopia. Small Ruminant Research 105(1-3): 176-181.

Michaelidou A.M. 2008. Factors influencing nutritional and health profile of milk and milk products. Small Ruminant Research 79: 42-50.

Mitchell G. 1981. Trace metal levels in Queensland dairy products. Aust. J. Dairy Technol. 36: 70-73.

Morand-Fehr P., Boutonnet J.P., Devendra C., Dubeuf J.P., Haenlein G.F.W., Holst P., Mowten L., Capote J. 2004. Strategy of goat farming in the 21st century. Small Ruminant Research 51(2), 175-183.

Morand-Fehr P., Fedele V., Decandia M., Le Flileux Y. 2007. Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. Small Ruminant Research 68(1-2), 20-34.

Nařízení komise (ES) č. 1459/2005 ze dne 8. září 2005, kterým se mění podmínky pro povolení některých doplňkových látek v krmivech, které patří do skupiny stopových prvků. Úřední věstník Evropské unie. [cit. 2011-03-31] Dostupné z < http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:233:0008:0010:CS:PDF>.

Nařízení komise (ES) č. 178/2002 ze dne 28. ledna 2002 kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin, Úřední věstník Evropské unie L 31.

Nařízení komise (ES) č. 852/2004 ze dne 29. dubna 2004 o hygieně potravin. Úřední věstník Evropské unie L139.

Nařízení komise (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví specifické hygienické předpisy pro potraviny živočišného původu. Úřední věstník Evropské unie L 139.

Nařízení komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19.prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. Úřední věstník Evropské unie L 364/5 [cit. 2013-03-05] Dostupné z < http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:CS:PDF>

Navarro-Alarcon M., Cabrera-Vique C., Ruiz-Lopez D., Olalla M., Artacho R., Gimenez R., Quintana V., Bergillos T. 2011. Levels of Se, Zn, Mg and Ca in commercial goat and cow milk fermented products: Relationship with their chemical composition and probiotic starter culture. Food Chemisrty 129(3): 1126-1131.

Nestares T., Diaz-Castro J., Alferez M.J.M., Lopez-Aliaga I., Barrionuevo M., Campos M.S. 2008. Calcium-enriched goat milk, in comparison with similarly enriched cow milk, favours magnesium bioavailability in rats with nutritional ferropenic anaemia. Journal of the Science of Food and Agriculture 88:319-327.

Nudda A., Battacone G., Decandia M., Acciaro M., Aghini-Lombardi F., Frigeri M., Pulina G. 2009. The effect of dietary iodine supplementation in dairy goats on milk production traits and milk iodine content. Journal of Dairy Science 92(10): 5133-5138.

Nudda A., Battacone G., Bomboi G., Floris B., Decandia M., Pulina G. 2013. Effect of dietary iodine on thyroid hormones and energy blood metabolites in lactationg goats. Animal 7(1): 60-65.

Odstrčil J., Odstrčilová M. 2006. Chemie potravin. Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů v Brně, Brno, 154s.

Ošancová K. 1990. Doporučené výživové dávky zemí EHS In: Nove odporúčané výživové dávky pre dojčatá , deti a dospievajúce obyvateľstvo ČSFR. Čs. Pediat., 45 (12):746-747.

Official Journal of the European Union, 2006, Commision regulation (EC) No1750/2006 of 27.November 2006 concerning the authorisation of selenomethionine as feed additive. 28.November

2006, L 330/9-11. Dostupné z <http://www.milkproduction.com/Library/Scientific-articles/Nutrition/Minerals>.

Pandya A.J., Ghodke K.M. 2007. Goat and sheep milk products other than cheeses and yoghurt. Small Ruminant Research 68: 193-206.

Park Y.W. 2007. Rheological characteristics of goat and sheep milk. Small Ruminant Research 68(1-2): 73-87.

Park Y.W., Chukwu H.I. 1989. Trace mineral concentrations in goat milk from French-Alpine and Anglo-Nubian breeds during the first 5 months of lactation. Journal of Food Composition and Analysis 2(2): 161-169.

Park Y.W., Juarez M., Ramos M., Haenlein G.F.W. 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. Small Ruminant Research 68(1-2): 88-113.

Paulíková I., Seidel H., Nagy O., Kováč, G. 2008. Milk Iodine Content in Slovakia, Acta Vet. Brno, 77; 533-538.

Pavlata L., Mišurová L., Pechová A., Dvořák R. 2012. Comparison of organic and inorganic forms of selenium in the mother and kid relationship in goats. Czech Journal of Animal Science 57(5): 361-369.

Pehrson B., Ortman K., Madjid N., Trafikowska U. 1999. The influence of dietary selenium as selenium yeats or sodium selenite on the concentration of selenium in the milk of Suckler cows and on the selenium status of their calves. J Anim Sci 77: 3371-3376.

Pechová A., Janstová B., Dračková M., Vorlová L., Pavlata L.2008. Impact of supplementation of various selenium forms in goats on quality and composition of milk, cheese and yoghurt. Acta Vet. Brno 77:407-414.

Pechová A., Misurová L., Pavlata L., Dvořák R. 2008. Monitoring of changes in selenium concentration in goat milk during short-term supplemetation of various forms of selenium. Biol.Trace Elem. Res 121:180-191.

Petrera F., Calamari L., Bertin G. 2009. Effect of either sodium selenite or Se-yeast supplementation on selenium status and milk characteristics in dairy goats. Small Rimunant Research, Italy. 82:130-138.

Prokš J. 1964. Mlékařství, díl I., Státní nakladatelství technické literatury.

Rayman M.P., Infante H.G., Sargent M. 2008. Food-chain selenium and human health: spotlight on speciation. British Journal of Nutrient 100:238-253

Raynal-Ljutovac K., Gaborit P., Lauret A. 2005. The relationship between quality citeria of goat milk, its technological properties and the quality of the final products. Small Ruminant Research 60: 167-177.

Richardson G.H.(ed.) 1990. Dairy products-Sampling. In: Helrich K.(ed.): AOAC Official Methods of Analysis, 15th.Ed.Vol.2, 802-804. USA ISBN:0-935584-42-0

Rodríguez R.E.M., Alaejos M.S., Romero C.D. 2002. Mineral content in goat´s milks. Journal of food quality 25:343-358.

Rodriguez F., Castro N., Hernandez T., Briggs H., Capote J., Arguello A. 2008. Effects of three different pre-milking teat preparation on bacteriological and iodine milk content and skin udder condition in Majorera goats. Milchwissenschaft-Milk Science International 63(4): 356-359.

Rudolfová J., Čurda L., Koplík R. 2000. Distribuce jodu mezi hlavní složky mléka. Mikroelementy 2000, Sborník přednášek XXXIV. semináře o metodice stanovení a významu stopových prvků v biologickém materiálu. Liblice .73-77.

Ruvuna F., Kogi J., Taylor J., Mkuu S. 1995. Lactation curves among crosses of galla and east-african with toggenburg and anglo-nubian goats. Small Ruminant Research 16(1):1-6.

Růžičková M., Hejtmánková A. 2012. Kvalita kozího mléka Anglonubijského plemene. Diplomová práce. Česká zemědělská univerzita v Praze. Fakulta agrobiologie, přírodních a potravinových zdrojů. Praha.

Ryšavá L., Kříž J. 2010. Organizace a výsledky prevence jódového deficitu z hlediska státní správy. Státní zdravotní ústav. Sborník z mezinárodní konference Den Jódu 2010. 5-6.

Sanchez J., Montes P., Jimenez A., Andres S. 2007. Prevention of clinical mastitis with barium selenate in dairy goats from a selenium-deficient area. J.Dairy Sci. 90:2350-2354.

Sanchez L.F., Szpunar J. 1999. Speciation analysis for iodine in milk by size-exclusion chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection (SEC-ICP MS). J.Anal.At.Spectrom. 14:1697-1702.

Sanz Ceballos L., Ramos Morales E., de la Torre Adarve G., Diaz Castro J., Perez Martinez L., Sanz Sampelayo M. 2009. Composition of goat and cow milk prosuced under similar conditions and analyzed by identical methodology. Journal of Food Composition and Analysis 22(4), 322-329.

Sanz Sampelayo M.R., Chilliard Y., Schmidely P., Boza J. 2007. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. Small Ruminant Research 68: 42-63.

Sedlák J. 2008-2009. Analýza současného stavu v chovu koz v ČR. Chov koz v systému trvale udržitelného zemědělství. Program rozvoje venkova ČR. 4-7.

Schöne F., Rajkumar Rajendram 2009. Iodine in farm Animals. In: Preedy, V.R., Burrow G.N., Watson R.R. (editors.) Comprehensive Handbook of Iodine: Nutritional, Biochemical, Pathological and Therapeutic aspects. Elsevier, , USA. ISBN:978-0-12-374135-6

Schrauzer G.N. 2003 The nutritional significance, metabolism and toxicology of selenomethionin. Advanced Food Nutrition Research 47: 73-112.

Shi L., Xun W., Yue W., Zhang C., Shi L., Wang Q., Yang R., Lei, F. 2011. Effect of sodium selenite, Se-yeast and nano-elemental selenium on growth performance, Se concentration and antioxidant status in growing male goats. Small Ruminant Research 96(1): 49-52.

Slacanac V., Bozanic R., Hardi J., Szabo J.R., Lucan M., Krstanovic V. 2010. Nutritional and therapeutic value of fermented caprine milk. International Journal of Dairy Technology 63(2), 171-189.

Sojková K., Říha J., Hanuš O., Jedelská R., Kopecký J. 2008. Analysis of Relationships between Mineral Composition and Other Quality Indicators in Goat and Sheep milk. Den mléka 2008: sborník referátů z mezinárodní konference, 110 – 115.

Soriguer F., Gutierrez-Repiso C., Gonzalez-Romero S., Olveira G., Garriga M.J., Velasco I., Santiago P., de Escobar G.M., Garcia-Fuentes E. 2011. Iodine concentration in cow´s milk and its relation with urinary iodine concentrations in the population. Clinical Nutrition 30 (1), 44-48.

Soryal K., Beyene F.A., Zeng S., Bah B., Tesfai K. 2005. Effect of goat breed and milk composition on yield, sensory quality, fatty acid concentration of soft cheese during lactation. Small Ruminant Research 58(3):275-281

Spallholz J.E., Boylan L.M., Larsen H.S. 1990. Advances in understanding selenium´s role in the imune system. Ann NY Acad. Sci. 587:123-139.

Střítecká H., Hlubik P., Nováková J. 2009. Serum selenium status in a group of 386 volunteers from the Czech Republic Rescue Fire Brigades. Mediterr. J. Nutr. Metab. 2:133-138.

Střítecká, H., Hlúbik, P. 2007. Nutrition problem of selenium. In. Mikroelementy 2007. Český Těšín: 2 THETA, s. 126–132.

Suchý P., Straková E., Herzig I., Skřivanová E., Zapletal D. 2011. Výživa a dietetika. II.díl – Výživa přežvýkavců. Veterinární a Farmaceutická Univerzita, Brno, ISBN 978-80-7305-599-8.

Száková J. a Kolihová D. Technika generování hydridů studených par. In: Černohorský T. Atomová absorpční spektrometrie I: základní kurz. 2003. Praha, Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-7080-513-7.

Száková J., Tlustoš P., Kolihová D. 2005. Použití instrumentálních analytických technik pro stanovení rizikových prvků v zemědělských materiálech. Česká zemědělská univerzita v Praze, Katedra agrochemie a výživy rostlin. ISBN: 80-213-1407-9.

Šantavý F. a kolektiv. 1975. Biochemie pro studující medicíny. Praha, Avicenum. ISBN 08-066-75.

Štolc L., Nohejlová L. 2006. Mléčná plemena ovcí a jejich využití v ČR. Den mléka 2006: sborník referátů z mezinárodní konference, 171-172.

Štolcová J., Štolc L., Homolka J. 2006. Ovčí mléko v podmínkách České republiky. Den mléka 2006: sborník referátů z mezinárodní konference, 168-170.

Šustová K. 2008-2009. Kozí mléko a jeho zpracování na sýry. Chov koz v systému trvale udržitelného zemědělství. Program rozvoje venkova ČR. 21-26.

Todini L., Salimei E., Malfatti A., Ferraro S., Fantuz F. 2012. Thyroid hormones in milk and blood of lactating donkeys as affected by stage of lactation and dietary supplementation with trace elements. Journal od Dairy Research 79(2): 232-237.

Trávníček J., Herzig J., Kursa J., Kroupová V., Navrátilová M. 2006. Iodine content in raw milk. Vet Med-Czech 51: 448-453.

Trávníček J., Kursa J. 2001. Iodine concentration in milk of sheep and goats from farms in South Bohemia. Acta Vet Brno 70: 35-42.

Trávníček J., Kroupová V., Konečný R., Staňková M., Šťastná J., Hasoňová L., Mikulová M. 2010. Iodine status in ewes with the intake of iodine enriched alga Chlorella. Czech Journal of Animal Science 55(20): 58-65.

Trávníček J., Racek J., Trefil L., Rodinová H., Kroupová V., Illek J., Doucha J., Písek L. 2008. Activity of glutathione peroxidase (GSH-Px) in the blood of ewes and their lambs receiving the selenium-enriched unicellular alga Chlorella. Czech Journal of Animal Science 53(7): 292-298.

Třináctý J., Šustala M., Vrzalová D., Kudrna V., Lang P. 2001. Milk iodine content in goats fed rapeseed meal iodine supplement. In: Book of abstracts of th 52nd Annual Meeting of the European Association for Animal Production, 26-29 August 2001, 106-110.

Turek B. 2000. Mléko ve výživě člověka. Státní zdravotní ústav Praha. [cit. 2008-11-30] Dostupné z <http://www.zdrav.cz/modules.php?op=modload&name=News&file=article&sid=4072"sid=4072>.

Urbiené S., Ciuckinas A., Margelyté J. 1997. Physical and chemical properties and the biological value of goat´s, cow´s, and human milk. Milchwissenschaft 52(8):427-430.

USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 21. [cit. 2008-12-11] Dostupné z <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>.

Velíšek J. 1999. Chemie Potravin, OSSIS Tábor, 1.vyd.,352s. ISBN 80-902391-3-7.

Vyhláška č. 298/1997 Sb. Ministerstvo vnitra ČR, [cit. dne 2008-12-08]. Dostupné z <http://aplikace.mvcr.cz/archiv2008/sbirka/1997/sb099-97.pdf>.

Vyhláška ze dne 30. března 2004, kterou se mění vyhláška č. 147/1998 Sb., o způsobu stanovení kritických bodů v technologii výroby, ve znění vyhlášky č. 196/2002 Sb. [cit 2011-04-11] Dostupné z <http://www.epravo.cz/v01/index.php3?s1=Y&s2=6&s3=1&s4=0&s5=0&s6=0&m=1&typ=predpisy&recid_zak=5024 >.

Weiss W.P. , Hogan J.S. 2005. Effect of selenium source on selenium status, neutrophil function, and response to intramammary endotoxin challenge of dairy cows. Journal of Dairy Science 88(12): 4366-4374.

Wichtel J.J. 1998. A review of selenium deficiency in grazing ruminants part 1: New roles for selenium in ruminant metabolism. New Zealand Veterinary Journal 46(2): 47-52.

Williams J.C. 1993. Influence of farm, parity, season and litter size on the lactation curve parameters of white british dairy goats. Animal Production 57(1):99-104.

Yalcin O. 2003. The levels of glutahtione peroxidase, vitamin A, E, C and lipid peroxidation in patients with transitional cell carcinoma of the bladder. BJU International 93: 863-866.

Yanardag R., Orak H. 1998. Selenium content of milk and milk products of Turkey. Biological Trace Element Research 68:79-95.

Zamrazil V., Bílek R., Cerovská J., Delange F. 2004. The elimination of iodine deficiency in the Czech Republic: The steps toward success. Thyroid 14/1, p 49-56.

Zeng S.S., Escobar E.N. 1996. Effect of breed milking method on somatic cell count, standard plate count and composition of goat milk. Small Ruminant Research 19(2):169-175.

Zimmermann M.B., Köhrle J. 2002. The impact of iron and selenium deficiencies on iodine and thyroid metabolism: Biochemistry and relevance to public health. Thyroid 12:867-878.

8 PŘÍLOHY

Příloha 1: Publikace v časopise „Scientia Agriculturae Bohemica“
Selenium and iodine content in sheep milk from farms in Central and East Bohemia
L. Rozenská, A. Hejtmánková, D. Kolihová, D. Miholová
Přijato k publikaci: 1. listopadu 2011

Příloha 2: Publikace v časopise „Czech Journal of Food Science“
Effect of lactation stage, breed and lineage on selenium and iodine content in goat milk
L. Rozenská, A. Hejtmánková, D. Kolihová, D. Miholová
Přijato k publikaci: 2. dubna 2013

SELENIUM AND IODINE CONTENT IN SHEEP MILK FROM FARMS IN CENTRAL AND EAST BOHEMIA*

L. Rozenská, A. Hejtmánková, D. Kolihová, D. Miholová

Czech University of Life Sciences Prague, Faculty of Agrobiology, Food and Natural Resources, Department of Chemistry, Prague, Czech Republic

Selenium and iodine content was analyzed in sheep milk from 4 and 6 different farms in central and east Bohemia. Samples had been collected monthly in two years period. Iodine was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with electrochemical detection and selenium using electrothermal atomization atomic absorption spectrometry (ETA-AAS) with hydride generation. The average levels of selenium and iodine in milk from small family farms were 39.09 ± 12.77 µg/kg and 47.99 ± 13.24 µg/kg, respectively. On the big farm focused on commercial breeding the average values were significantly higher (576.7 ± 261.2 µg/kg). Significant differences in levels of both elements were found between summer and winter period. In the winter period, the average level of selenium was 68.33 ± 43.75 µg/kg and in the summer period 30.67 ± 8.31 µg/kg. Levels of iodine show the same tendency: 72.42 ± 64.37 µg/kg in the winter and 37.84 ± 16.09 µg/kg in the summer period. Moderately strong correlation (r = 0.39) was found between selenium and iodine content in sheep milk. The comparison of iodine and selenium content in sheep milk and whey implies that 69.4% of iodine is transferred to the whey fraction.

trace elements; ewe's milk; whey; HPLC with electrochemical detection; hydride generation

INTRODUCTION

Milk and milk products are considered a good source of selenium and iodine, i.e. minerals, which are highly important for thyroid gland function (Kvíčala, 2010).

Selenium, 40 years ago considered as toxic, nowadays is recognized as an essential trace element with a high impact in human health and currently is in the center of research focus. In organisms it appears in the form of proteins and, in some cases, as a sugar. Selenium is a part of enzymes glutathione peroxidase, deiodinase, thioredoxin reductase, selenium phosphate synthetase, selenium protein P and others, whose functions have not been yet clarified (Kvíčala, 2002). Selenium influences a wide range of hormones, especially the biochemistry of those in the thyroid gland, whereby, to a certain point, can influence the metabolism of iodine. Optimal intake of selenium is recommended in the range of 20–50 µg per day (Ošancová, 1990). A scientific committee for food suggests as a suitable daily intake 40 µg of selenium for men and 30 µg for women (Brown et al., 2001).

Iodine is a necessary element for thyroid hormones – thyroxine and triiodthyronine, which are participating in metabolism speed regulation. According to the newest attitude of the Interdepartmental commission for iodine deficiency solution (National Institute of Public Health in Prague) about half of European population is considered to have an insufficient iodine intake (Ryšavá, Kříž, 2010). In Czech Republic the iodine supply is satisfactory and according to WHO criteria the past iodine deficiency can now be considered as fixed, thanks to salt iodization and iodine supplementation of dairy cows (Zamrazil et al., 2004). EU regulations warn against health risks sequent to exceeding limit values of 0.008–0.010 mg/kg of body weight of daily iodine intake, or intake lower than daily optimum 150–300 µg (notice of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, No. 446/2004). The optimal concentration of iodine in milk for human nutrition is in the range from 200 to 300 µg/l.

The relationship between selenium and iodine was reviewed by Zimmermann, Köhrle (2002). Selenium deficiency leads to decreased activity of glutathione peroxidase (GPx) and deiodinase (DI). GPx causes increased levels of hydrogen peroxide and DI catalyzes the activation of prohormone T4 to the active thyroid hormone T3. Both enzymes are influencing the efficiency of thyroid hormone synthesis and thus metabolism of iodine.

Common levels of iodine found in sheep milk by different authors are in the range of 48–829 µg/l (Herzig et al., 1995; Ferri, 2003; Hampel et al., 2004; Paulíková, 2008). Number of studies, which are engaged in researching levels of selenium in sheep milk, is much lower. The range of values is 14–37 µg/l of selenium in sheep milk (Koutník et

* Supported by the internal grant of Faculty of Agrobiology, Food and Natural Resources CULS Prague, Project No. 21120/1312/3114, and by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic, Project No. MSM 6046070901.

al., 1996; Yanardag and Orak, 1998; Hampel et al., 2004).

There are various factors, which can influence the content of selenium and iodine in milk, e.g., the way of feeding, including mineral supplementation, locality, breed, application of disinfectants containing iodine etc. Levels of iodine in milk taken from animals in winter period are higher than in summer period (Herzig et al., 1995; Paulíková, 2008). Levels of iodine in milk are influenced also by presence of goitrogens in fodder. For example rapeseed cake, which is known for its high content of goitrogenic substances, was proved to cause decreased absorption of iodine (Hermansen et al., 1995; Třináctý et al., 2001).

Due to the increasing popularity of farmers markets and interest in local groceries, sheep milk is recently more available. However, the intake of selenium and iodine from sheep milk, while used as a substitute of cow milk, is not well known yet. This situation leads us to believe that there is an urgent need for analytical determination of sheep milk nutrients, especially trace elements. The aim of this study is to observe the natural occurrence of selenium and iodine in sheep milk of the most commonly kept breeds in the different localities of the Czech Republic.

MATERIAL AND METHODS

Levels of selenium and iodine were determined in sheep milk samples taken from four different farms (A–D) and from two more farms (E and F) only for iodine, of central and east Bohemia. Samples had been collected repeatedly once a month during the years 2007–2008, including the winter period. In the farms A–D the samples were obtained every time from the same animals, while in the farms E and F the samples were taken from pool milk. From the farm F, simultaneously with milk, samples of whey were also collected. In total, 77 samples were collected to the clean, plastic sampling flasks of 100 ml volume, frozen as soon as possible, transferred to the lab in thermo boxes and stored in the freezers with highest temperature less than –20°C.

Farm characteristics

Farm A: small family farm, herd of 30 heads (12 lactating ewes), breed Merino. Keeping: all year outdoor, with free entrance to the barn. Feeding: pasture, old bread, beet root, apples, hay and straw freely available.

Farm B: small family farm, herd of 25 heads (8 lactating ewes), breed Merino. Keeping: all year outdoor, free entrance to the shed, in a barn overnight. Feeding: pasture, old bread, straw, occasionally apples.

Farm C: small family farm, herd of 15 heads (6 lactating ewes), breed Merino. Keeping: during the summer period outdoor, overnight in a barn, in the winter period continually in a stable, occasionally outside. Feeding: pasture, grains, salt licks, hay, straw, old bread, occasionally beet root and apples.

Farm D: small family farm, herd of 20 heads (8 lactating sheep), breed Romanov sheep. Keeping: all year outdoor with possibility of a shed. Feeding: pasture, grains, salt licks, hay, straw, old bread, beet root, apples, corn.

Farms A–D are localized in central Bohemia, loamy sand to sand soils, typical crop potatoes, altitude 400–600 m a.s.l.

Farm E: big commercially focused farm with 300 lactating sheep and 100 lambs, breed East Friesian Milk sheep, localized in east Bohemia. Keeping: during the summer period all day long outdoor, in the winter period in a stable. Feeding: in the summer pasture, in the winter hay and grains. Molassesed mineral lick for organic farming available: Natumel (Iframix). Iodine content: 110 mg/kg, selenium content: 45 mg/kg.

Farm F: commercially focused farm localized in east Bohemia, keeping the breed East Friesian Milk sheep. Feeding: hay, straw, pasture, pressed oat and barley. Mineral lick Biosaxon was available, with iodine content 120 mg/kg and selenium content 30 mg/kg.

Samples of milk for iodine determination were dried and prepared using alkalic ashing, in the presence of potassium hydroxide and zinc sulfate, in accordance with a method after Fiedlerová (1998). Supernatants were filtered and iodine was analyzed using high performance liquid chromatography with electrochemical detection (HPLC-ED, Waters) on reversed phase column NOVA-PAK C-18 (Hejtmánková et al., 2005), due to modified procedure in accordance with IDF technical standard 167:1994, which describes direct determination of iodine content in fresh or dried refreshed milk.

Milk samples for determination of selenium were exposed, after lyophilization, to acid treatment of concentrated nitric acid (2 ml) and hydrogen peroxide 30% (3 ml) overnight. Afterwards were wet-ashed in microwave mineralizer MW-3^{+} Speedwave (Berghof). Selenium was reduced from oxidation form VI to IV by exposition to concentrated hydrochloric acid. The analysis was performed by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization (Varian) and generator of hydrides (GH-AAS).

All the samples were measured in triplicates. Results were processed in Microsoft Excel and statistically evaluated in Statgraphics. For the evaluation of average variability of selenium and iodine values, the One-Way ANOVA was used. For the comparison of samples and for the evaluation of correlations, Multiple Sample Comparison and Multiple Variable Analysis were respectively used.

Table 1. Analytical results of certified reference material

	R	*BCR 063* I (mg/kg)	*H 281* Se (mg/kg)
Measured values (n = 6)	average	0.82	0.022
	uncertainty	0.07	0.001
Certified values	average	0.81	0.028
	uncertainty	0.05	0.004

Table 2. Iodine content (µg/kg) in sheep milk from the different farms

	Mean	Min. value	Max. value	St. dev.	CV (%)	Median	Samples
Farm A	34.92	15.04	49.63	12.71	36.4	37.52	23
Farm B	62.23	22.7	141.1	38.05	61.15	52.14	14
Farm C	56.12	20.23	197.7	45.00	80.2	38.14	12
Farm D	38.69	23.32	89.6	20.7	53.6	29.52	5
Farm E	576.7	348.8	1398	261.2	45.3	503.9	13
Farm F	123.5	47.08	203.9	51.06	41.7	65.16	10

Table 3. Selenium content (µg/kg) in sheep milk from different farms

	Mean	Min. value	Max. value	St. dev.	CV (%)	Median	Samples
Farm A	27.36	15.07	58.78	14.39	52.6	20.61	23
Farm B	40.41	30.00	50.86	7.84	19.4	40.4	14
Farm C	32.13	22.94	44.54	6.72	20.94	31.75	12
Farm D	56.46	18.37	173.0	41.37	73.27	39.37	5

RESULTS AND DISCUSSION

Quality control of analytical data was verified by simultaneous analysis of certified reference material BCR 063 (skim milk, iodine) and BCR H281 (ray grass, selenium) (Table 1).

Determined average levels of selenium and iodine in sheep milk, obtained from different farms, are shown in the Tables 2 and 3. Average content of selenium in milk from small family farms A–D was 39.09 ± 12.77 µg/kg and average content of iodine was 47.99 ± 13.24 µg/kg. According to Groppel (1993), levels of iodine in sheep milk below 79 µg/l are already deficient. Thus, on farms A–D, the status of iodine was below recommended limit. Differences in content of iodine and selenium in sheep milk from small farms were not statistically significant, even though on the farm D a different breed was kept (Romanov sheep, farm A–C Merino).

The determined content of iodine in sheep milk was found within the range 15.04–203.9 µg/kg whereas the selenium content interval was 15.07–173 µg/kg. On both commercially focused farms E and F the same breed (East Friesian Milk sheep) was kept, but the content of iodine was significantly different. The high levels of iodine in milk of ewes from farm E are apparently a consequence of iodine mineral lick intake, which was not applied on the small farms. It is highly probable that the crucial factor for iodine content in milk is the way of keeping and feeding, regardless of the kept breed.

Studies about iodine in sheep milk were conducted also by Trávníček, Kursa (2001), who determined an average concentration of iodine of 105.5 µg/l, Hejtmánková et al. (2008) found out on average 214.3 µg/kg, Hampel (2004) 520 ± 60 µg/kg and Ferri (2003) even 675 ± 154 µg/kg. Azuolas, Caple (1984) published results from measuring iodine in sheep milk in range 79–1931 µg/l. On commercially oriented farms E and F the determined average levels of iodine in sheep milk were higher, namely 576.7 ± 261.2 µg/kg and 123.5 ± 51.06 µg/kg and significantly higher ($P < 0.05$) content of iodine in milk from farm E in comparison with other farms was confirmed. However, Schöne, Rajendram (2009) consider iodine concentrations in milk higher than 500 µg/l as undesirable.

Several Czech authors analyzed the iodine content in cow milk. For instance Třináctý et al. (2001) found an average content of iodine in cow milk 594 ± 178.1 µg/kg, Trávníček et al. (2006) published 442.5 ± 185.6 µg/l, Hejtmánková et al. (2006) 225 ± 109 µg/kg and Paulíková et al. (2008) 136.9 ± 258.2 µg/l. Thus, it was not confirmed that levels of iodine in sheep milk could be so significantly higher than in cow milk, as Hampel et al. (2004) presented in his work.

Table 4. Selenium and iodine content (µg/kg) in sheep milk in summer and winter period

Element	Period	Mean	Min. value	Max. value	St. dev.	CV (%)	Median	Samples
Selenium	winter	68.33	25.74	173.0	43.75	64.04	51.66	15
	summer	30.67	15.06	50.86	8.31	27.11	29.44	38
Iodine	winter	75.42	29.08	197.6	46.37	61.48	60.00	15
	summer	37.84	15.04	89.66	16.09	46.64	29.93	38

On the other hand, the average content of selenium in sheep milk 14 ± 3 µg/kg, determined by Hampel et al. (2004), is about half the average content of selenium in sheep milk determined in this work and which nicely corresponds with selenium content in cow milk 32.2–39.5 µg/l (Koutník et al., 2005).

Contents of iodine and selenium in sheep milk, obtained in the winter period (October–March) and in the summer period (April–September) are presented in Table 4. The results imply that in the winter period the levels of both elements are significantly higher ($P < 0.05$) and in the summer period decrease roughly to half. Groppel, Anke (1991), Dahl et al. (2003) and Trávníček et al. (2006) share the opinion that it is a consequence of differences in summer and winter fodder. The reason for these differences is a lower content of iodine in summer feeding (pasture). Concentration of iodine increases with decreasing concentration of water in plant tissues. Thus, hay and silage contain higher concentrations of iodine (Herzig, Suchý, 1996; Bobek, 1998).

Another reason could be the presence of goitrogens in the summer fodder. It is expectable, that fresh fodder contains goitrogenic substances, which are responsible for decreased levels of iodine in milk. The values found in milk in this work are in accordance with those investigated by Paulíková (2008), who determined an average iodine concentration of 197.6 µg/kg in sheep milk in the winter period and of 56.0 µg/kg in the summer period. Levels of selenium determined in sheep milk were significantly higher ($P < 0.05$) in the winter period than in the summer period as well.

Fig. 1 shows the correlation between the contents of selenium and iodine in sheep milk. The graph is interlaid with linear regression line. Statistical evaluation of data resulted to moderately strong correlation ($r = 0.39$).

The distribution of iodine in milk fractions was also observed. For this purpose, the milk and whey obtained from the farm F was analyzed. In milk and whey was found, on average, 143.1 ± 113.1 µg/kg and 99.38 ± 58.58 µg/kg of iodine, respectively. This implies that 69.4% of iodine in the milk moved to the whey fraction. Thus, whey could be considered not only as a source of nutritionally valuable proteins, but of iodine as well. Transfer of iodine to whey was confirmed also by Rudolfová et al. (2000). The relationship between iodine content found in sheep milk and whey is depicted in Fig. 2. The slope of the line and values of regression coefficient ($b = 1.74$) implies that the values of iodine determined in milk and whey are significantly correlated.

CONCLUSION

Statistically significant differences of iodine content in sheep milk from different farms were confirmed. Concentration of iodine in sheep milk obtained from small family farms were below the required limit for iodine in milk. On the other hand, the content of iodine in milk from farm E was above the optimal range. The levels of iodine and selenium determined in sheep milk were comparable with the amounts commonly found in cow milk. In the winter period the concentration

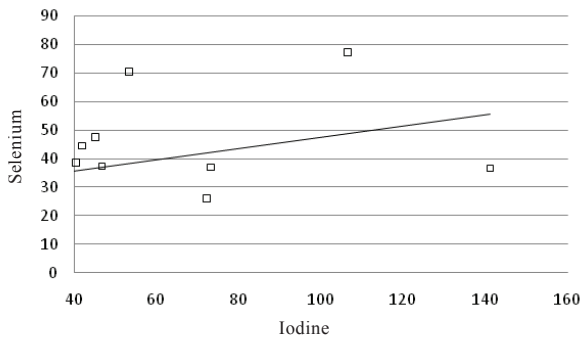


Fig. 1. Correlation of selenium and iodine contents in sheep milk (µg/kg)

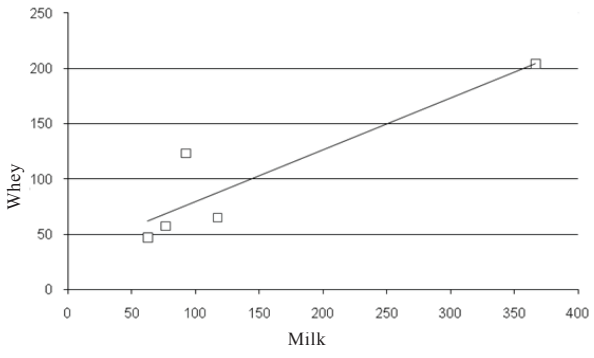


Fig. 2. Comparison of iodine values found in sheep milk and whey (µg/kg)

of both iodine and selenium was significantly higher than in the summer period. Moderately strong correlation was found between iodine and selenium contents. Approximately 70% of the iodine in milk transfers to the whey fraction, and thus whey, not only milk, is a good source of iodine in nutrition.

REFERENCES

AZUOLAS, J.K. – CAPLE, I.W.: The iodine status of grazing sheep as monitored by concentrations of iodine in milk. Australian Veterinary Journal, *61*, 1984: 223–227.

BOBEK, S.: Iodine prophylaxis in animals. Medycyna Weterynaryjna, *54*, 1998: 80–86. (in Polish)

BROWN, K.M. – ARTHUR, J.R.: Selenium, selenoproteins and human health: a review. Public Health Nutrition 4 (2B), 2001: 593–599.

DAHL, L. – OPSAHL, J.A. – MELTZER, H.M. – JULSHAMN, K.: Iodine concentration in Norwegian milk and dairy products. British Journal of Nutrition, *90*, 2003: 678–685.

FERRI, N. – ULISSE, S. – AGHINI-LOMBARDI, F. – GRAZIANO, F.M. – DI MATTIA, T. – RUSSO, F.P. – ARIZZI, M. – BALDINI, E. – TRIMBOLI, P. – ATTANASIO, D. – FUMAROLA, A. – PINCHERA, A. – D'ARMIENTO, M.: Iodine supplementation restores fertility of sheep exposed to iodine deficiency. Journal of Endocrinological Investigation, *26*, 2003: 1081–1087.

FIEDLEROVÁ, V.: Spectrophotometric determination of iodine and its content and stability in selected food raw materials and products. Czech Journal of Food Science, *16*, 1998: 163–197.

GROPPEL, B. – ANKE, M.: Iodine content in foodstuffs and iodine intake of adult in central Europe. In: Momčilovič B. (ed.): Trace Elements in Man and Animals. *7*, 1991, Croatia, Zagreb, 981–985.

GROPPEL, B.: Iodine deficiency in animals. In: Anke M., Gürtler H. (eds.): Minerals and Trace Elements in Nutrition. Verlag Media Touristik, 1993, Germany, Gersdorf, 127–156. (in German)

HAMPEL, K. – SCHÖNE, F. – BÖHM, V. – LEITERER, M. – JAHREIS, G.: Composition and nutritional importance of sheep milk and sheep milk products. Deutsche Lebensmittel Rundschau, *11*, 2004: 425–430. (in German)

HEJTMÁNKOVÁ, A. – KUKLÍK, L. – TRNKOVÁ, E. – DRAGOUNOVÁ, H.: Iodine concentrations in cow's milk in Central and Northern Bohemia. Czech Journal of Animal Science, *51*, 2006: 189–195.

HEJTMÁNKOVÁ, A. – MIHOLOVÁ, D. – KOLIHOVÁ, D.: Content of selected minerals in sheep milk and whey. In: Day of milk 2008. Proceedings from international conference, 23th September 2008, Prague, Czech Republic, pp. 116–118. (in Czech)

HEJTMÁNKOVÁ, A. – VEJDOVÁ, M. – TRNKOVÁ, E.: Determination of iodine in biological samples by high–performance liquid chromatography with electrochemical detection. Chemické Listy, *99*, 2005: 657–660. (in Czech)

HERMANSEN, J.E. – AAES, O. – OSTERSEN, S. – VESTERGAARD, M.:. Rapeseed products for dairy cost – milk sold and milk quality. Forskningsrapport fra statens husdurbrugsforsog, *29*, 1995: 1–31.

HERZIG, I. – SUCHÝ, P.: Current views on the importance iodine for animals. Veterinary Medicine–Czech, *41*, 1996: 379–386.

KOUTNÍK, V. – KOUREK, B. – HAVLÍČEK, Z.: Selenium content in milk of some dairy cattle herds in the south Moravian region. Živočišná výroba, *41*, 1996: 473–474. (in Czech)

KVÍČALA, J.: Selenium and its impact on human organism. In: Microelements 2010, Collection of papers from XLIIIthseminar about methodics of determination and impact of trace elements in biological material and environment. 2 THETA, 10.–12.May 2010, 14–24, Valtice. (in Czech)

OŠANCOVÁ, K.: Recomended nutritional rations of EEC countries. In: New recommended nutritional rations for newborns, children and adolescents of CSFR. Časopis Pediatr, *45*, 1990: 746–747. (in Czech)

PAULÍKOVÁ, I. – SEIDEL, H. – NAGY, O. – KOVÁČ, G.: Milk iodine content in Slovakia. Acta Veterinaria Brno, *77*, 2008: 533–538.

REGULATION NO. 446/2004, Nutritional supplements and food additives. Collection of Laws. 2004, part 149 (cit. 2011–04–01). Available at http://www.sagit.cz/pages/sbirkatxt.asp?cd=76&typ=r&zdroj=sb04446 (in Czech)

RYŠAVÁ, L. – KŘÍŽ, J.: Organization and results of iodine deficiency prevention in terms of public. In: Collection from international conference Day of Iodine 2010, Public Health Institute, 2010: 5–6. (in Czech)

SCHÖNE, F. – RAJKUMAR RAJENDRAM: Iodine in farm Animals. In: Preedy, V.R. – Burrow G.N. – Watson R.R. (eds.): Comprehensive Handbook of Iodine: Nutritional, Biochemical, Pathological and Therapeutic aspects. Elsevier, USA, 2009: 151–170.

TRÁVNÍČEK, J. – HERZIG, J. – KURSA, J. – KROUPOVÁ, V. – NAVRÁTILOVÁ, M.: Iodine content in raw milk. Veterinary Medicine–Czech, *51*, 2006: 448–453.

TRÁVNÍČEK, J. – KURSA, J.: Iodine concentration in milk of sheep and goats from farms in South Bohemia. Acta Veterinaria Brno, *70*, 2001: 35–42.

TŘINÁCTÝ, J. – ŠUSTALA, M. – VRZALOVÁ, D. – KUDRNA, V. – LANG, P.: Milk iodine content in goats fed rapeseed meal iodine suplement. In: Book of Abstracts of th 52nd Annual Meeting of the European Association for Animal Production, 26–29 AUGUST 2001, 2001: 106–110.

YANARDAG, R. – ORAK, H.: Selenium content of milk and milk products of turkey. Biological Trace Element Research, *68*, 1998: 79–95.

ZAMRAZIL, V. – BÍLEK, R. – CEROVSKÁ, J. – DELANGE, F.: The elimination of iodine deficiency in the Czech Republic: The steps toward success. Thyroid, *14*, 2004: 49–56.

ZIMMERMANN, M.B. – KÖHRLE, J.: The impact of iron and selenium deficiencies on iodine and thyroid metabolism: Biochemistry and relevance to public health. Thyroid, *12*, 2002: 867–878.

Received for publication on July 12, 2011
Accepted for publication on November 1, 2011

ROZENSKÁ, L. – HEJTMÁNKOVÁ, A. – KOLIHOVÁ, D. – MIHOLOVÁ, D. (Česká zemědělská univerzita, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. katedra chemie, Praha, Česká republika)

Obsah selenu a jódu v ovčím mléce z farem ve středních a východních Čechách

Scientia Agric. Bohem., *42*, 2011, 153–158

Ovčí mléko z různých farem ve středních a východních Čechách bylo analyzováno na obsah selenu (4 farmy) a jódu (6 farem). Vzorky byly odebírány jednou měsíčně ve dvouletém časovém rozsahu. Jód byl stanoven pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou detekcí (HPLC-ED) a selen pomocí elektrotermické atomové absorpční spektrometrie s hydridovou technikou (ETA-AAS-HG). Průměrné obsahy selenu a jódu v mléce z malých rodinných farem byly 39,09 ± 12,77 $\mu g.kg^{-1}$ resp. 47,99 ± 13,24 $\mu g.kg^{-1}$. Na velké farmě, zabývající se komerčním chovem, byly průměrné hodnoty obsahu jódu v mléce statisticky významně vyšší (576,7 ± 261,2 $\mu g.kg^{-1}$). Mezi letním a zimním obdobím byly nalezeny statisticky významné rozdíly v obsahu obou prvků. Hladina selenu v zimním období byla průměrně 68,33 ± 43,75 $\mu g.kg^{-1}$ zatímco v letním období průměrně 30,67 ± 8,31 $\mu g.kg^{-1}$. Jód vykazuje podobný trend: 75,42 ± 46,37 $\mu g.kg^{-1}$v zimním období a 37,84 ± 16,09 $\mu g.kg^{-1}$ v letním období. Mezi obsahem selenu a jódu v ovčím mléce byla zjištěna středně silná korelace (r = 0,39). Dále byl porovnán obsah jódu v ovčím mléce a syrovátce. Bylo zjištěno, že z mléka do syrovátky přejde 69,4 % jódu, což potvrzuje, že nejen mléko, ale i syrovátka je dobrý zdroj jódu v lidské výživě.

selen; jód; ovčí mléko; ovčí syrovátka; HPLC s elektrochemickou detekcí; hydridová technika

Contact Address:

Mgr. Lenka R o z e n s k á , Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta Agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, katedra chemie, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6-Suchdol, Česká republika, email: rozenska@af.czu.cz

Effect of lactation stage, breed and lineage on selenium and iodine content in goat milk

Lenka Rozenská, Alena Hejtmánková, Dana Kolihová, Daniela Miholová

Department of Chemistry, Faculty of Agrobiology, Food and Natural Resources, Czech University of Life Sciences, Kamýcká 129, 165 21 Prague, Czech Republic

Abstract

Selenium and iodine content was analyzed in goat milk from three commercially oriented farms in east (farm A) and south (farms B, C) Bohemia. The average iodine level found in milk from farm A was 393.6 ± 111.2 µg/kg, from farm B 584.9 ± 186.9 µg/kg and from farm C 397.6 ± 223.4 µg/kg. The average level of selenium found in milk from farm A was 9.19 ± 2.17 µg/kg, from farm B 6.20 ± 0.53 µg/kg and from farm C 6.57 ± 2.29 µg/kg. The results showed significantly strong correlation between selenium and iodine contents in milk and in mineral supplement (r=0.91 and 0.92 respectively).

In average 76.6% of the iodine in milk was transferred to the whey fraction. In the case of selenium, it was found out, that 23.8% was transferred from milk to the whey fraction.

As a consequence of used mineral licks, the correlation between selenium and iodine content in time was not proved (r=0.06).

Keywords: caprine milk; caprine whey; lactation period; mineral supplement; brown short-haired goat; white short-haired goat

1.Introduction

Breeding of goats in the Czech Republic used to be very minor, but has recently become more widespread. Due to the increasing popularity of farmers markets and interest in local groceries, the general availability of milk other than cow's has recently risen.

There is general deficit of selenium in European soils (Zimmerman and Kohrle, 2002) and difficult way of its utilization by plants (Salt, 2003). Central Europe soils have also deficit

of iodine (Anke et al., 1995). Silanikove (2010) reviewed, that goat milk, in comparison with cow milk, benefited uptake and utilization of certain minerals, including selenium. However, the intake of selenium and iodine from goat milk in human nutrition, when used as a substitute of cow milk, is not as well characterized yet. Groppel (1993) mentioned that goat and sheep milk when fed in the same way, contain higher amounts of iodine, than cow milk.

Some of the newer studies present that the content of minerals in milk can be influenced by numerous factors, e.g. breed, lineage, system of feeding, milking, differences between individual animals, health status and age, seasonal changes, order and stage of lactation, life conditions and technology of keeping the animals and processing the milk (Zeng and Escobar 1996, Meschy et al. 2000; Soryal et al. 2005; Morand-Fehr et al. 2007). Knowles et al. (1997) claims, that I and Se concentrations in cow milk can be quite easily manipulated by supplementation.

Most of the farms in the Czech Republic, regardless of size, are nowadays using some kind of mineral supplement from the wide range available on the market. Majority of iodine in milk occurs in the form of iodide (Fernandez-Sanchez and Szpunar, 1999) and is present in whey or bonded with casein (Flynn and Power, 1985). Selenium in milk occurs mainly in the form of selenomethionin and the majority is bonded with protein fraction: 55-78% with casein and 17-38% with whey (Knowles et al., 1999).

The question is how the situation looks like in real life, under many other influences and if the goat milk from these farms can be considered as a good source of selenium and iodine. The aim of this study is to observe the occurrence of selenium and iodine in goat milk of the most commonly kept breeds and their lineages throughout the lactation phases.

2. Material and methods

2.1 Collection of samples

Pool samples were taken from three farms (A, B, C) located in east and south Czech Republic, each of the farms kept about 400-600 goats. The samples were regularly taken during the 2.5 years period all year round. Fodder consisted of hay, straw, pasture and mineral lick with specified content; Farm A: I = 110 mg/kg, Se = 45 mg/kg; Farm B: I = 135 mg/kg, Se = 15 mg/kg, Farm C: I = 120 mg/kg, Se = 30 mg/kg. No other mineral additives were used (e.g. iodine-based teat dips). The present breed were two the most common in the Czech Republic: White and Brown Short-haired goat with 3 different lineages.

In this study, the goats were using mineral supplement, where the iodine was provided in the form of potassium iodide and selenium in the form of sodium selenite. From the farms B and C, along with the milk, samples of whey were also collected. Samples were cooled and stored frozen (-20°C) till the analysis.

2.2 Analytical methods

Samples of milk for iodine determination were dried and prepared using lkali ashing, in the presence of potassium hydroxide and zinc sulfate, in accordance with a method due to Fiedlerová (1998). Supernatants were filtered and iodine was analyzed in the form of iodide (iodine content is transposed into iodide form by mineralization) using ion-pair high performance liquid chromatography with electrochemical detection (HPLC-ED, Waters) on reversed phase column NOVA-PAK C-18 (Hejtmánková et al., 2005), due to modified procedure in accordance with IDF technical standard 167:1994, which describes direct determination of iodine content in fresh or dried refreshed milk. The same method for determining the iodine content in cow milk was used in Hejtmánková et al. (2006).

Milk samples for determination of selenium were exposed, after lyophilization, to acid treatment of concentrated nitric acid (2 ml) and hydrogen peroxide 30% (3 ml) overnight. Afterwards were wet ashed in microwave mineralizer MW-3+ Speedwave (Berghof). The

73 analysis was performed by atomic absorption spectrometry (Varian) with generator of
74 hydrides (GH-AAS). Selenium was determined in the form of selenium dioxide, as described
75 by Muniz et al. (2005).

76 **2.3 Statistical evaluation**

77 All the samples were measured in triplicates. Results were processed in Microsoft
78 Excel and statistically evaluated in R. Differences were analyzed using One-way and Two
79 level nested design ANOVA with Tukey HSD test as a post-hoc test. Correlations were tested
80 with Pearson's product-moment correlation, with previous testing of normal distribution using
81 scatterplot. For examining the relationships between elements the Standard linear regression
82 was used.

83 **3. Results and discussion**

84 **3.1 Total concentrations of Se and I**

85 Measured levels of selenium in goat milk were 7.32 ± 1.62 µg/kg in average (Table 1).
86 The results are lower than those published by Petrera et al. (2009), Ayar et al. (2009) or
87 Rodriguez (2002). The highest average content of selenium in milk was determined on the
88 farm which was using the mineral supplement richer on selenium than the others.

89 Average contents of iodine in goat milk taken from different farms are shown in Table
90 1. Total average of iodine from all farms was 458.7 ± 109.3 µg/kg. According to Groppel
91 (1993) the levels of iodine in goat milk below 62 µg/l are already deficient, but the levels of
92 iodine in milk from this study are far above this amount. Schöne and Rajendram (2009)
93 published that iodine content in goat milk higher than 500 µg/l is already undesirable. A result
94 above this limit was found in farm B. The mineral lick on this farm, accordingly, contained
95 the highest amount of iodine. The correlation coefficient between selenium and iodine is -
96 0.12, which indicates no significant association.

Table 1: Total amounts of selenium and iodine (µg/kg) in goat milk from different farms

Farm	Mean	Stdev	CV%	min	max	n
	Se					
A	9.19	2.17	23.7	6.2	14.9	24
B	6.2	0.53	8.62	5.62	7.06	8
C	6.58	1.91	29.1	4.05	10.1	13
	I					
A	393	111	28.2	217	606	24
B	584	186	31.9	329	940	11
C	397	223	56.1	120	838	13

3.2 Influence of supplementation

Different mineral lick was available for animals on each farm. Differences between farms in selenium content were found to be statistically significant ($p<0.001$). Milk from Farm A contains higher content of selenium in comparison to both Farms B and C ($p < 0.01$). Differences between farms in iodine content were also confirmed ($p<0.01$), but in this case milk from Farm B has a higher content of iodine ($P < 0.05$) than the other farms.

The results show strong relationship between selenium content in milk and in mineral supplement, which corresponds with the study from Knowles et al. (1999). The regression coefficient is 0.112 ($p<0.001$, $r^2=0.31$).

Among iodine measured in milk and iodine content in supplement a significant relationship was also found. The regression coefficient is 7.363 ($p<0.01$, $r^2=0.16$).

On the farm B, the values of iodine were the highest, which corresponds with its highest content in mineral supplement (135 mg/kg of iodine). From the chemical analysis of milk, it is implied that higher contents of iodine in mineral licks can cause an increase of iodine in milk above the desired level. Supplement should always be selected for real needs of the animals based on chemical analysis of milk. On the farm A the goats had access to a lick containing increased amount of selenium (45 mg/kg). In their milk, accordingly, the highest levels of selenium were found.

3.3 Changes during lactation period

As another factor the influence of lactation phase on selenium and iodine content in goat milk was monitored. Three sets of samples were taken from farm A: in April (about 6 weeks in average after the birth of kids), in July (about 18 weeks of lactation) and in September (about 28 weeks of lactation). Selenium concentration in milk slightly increases in the course of the lactation period from 7.44 μg/kg to 11.10 μg/kg, while for iodine there is a small maximum visible in the middle of the lactation period, but it is not statistically significant.

The levels of selenium during the phases of lactation showed a significant difference between them ($p < 0.001$). In the late phase of lactation period, the levels of selenium are significantly higher ($p<0.001$). The values of iodine are oscillating (Figure 1) and no differences in means were found ($p<0.26$).

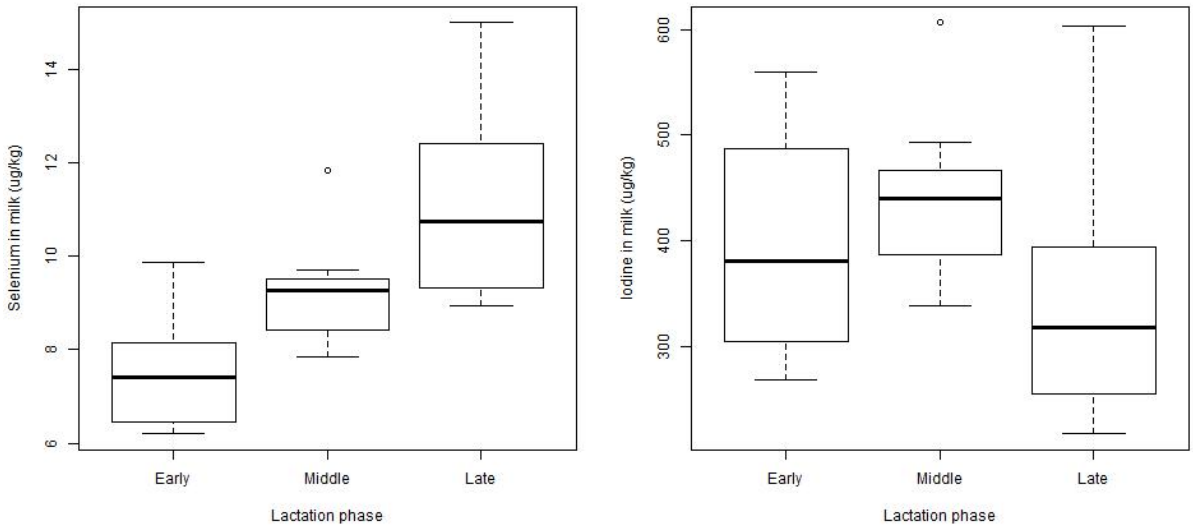


Figure 1: Comparison of means of selenium and iodine in goat milk (μg/kg) during the lactation period

3.4 Influence of breed and lineage

Samples of goat milk from different breeds and lineages were taken from farm A. The feeding ratio and condition of breeding were the same. Samples of milk were taken from breed white and brown short-hair goat. White breed consisted of lineages Emil, Mohykan and Ferda, and brown breed from of Jested, Othello and Hansi.

The average content of selenium in milk from white breed was 9.31 ± 2.45 µg/kg and from brown breed 9.07 ±1.97 µg/kg. The average content of iodine in milk from white breed was 367.1 ± 102.0 µg/kg and from brown breed 408.0 ± 111.1 µg/kg.

No significant differences were found in selenium and iodine levels neither between white and brown breed nor between their three lineages.

3.5 Transfer of I and Se to the whey fraction

The major part of goat milk on dairy farms is processed to milk products and thus we monitored the transfer of iodine from milk to whey (distribution of iodine between casein fraction and whey fraction). To compare the occurrence of elements in goat milk and whey, the samples from farm B and C were used. For farm B the whey fraction retained 79.9% of the iodine present in whole milk and in milk from farm C it was 73.3%. These results are lower than those published by Fernandez-Sanchez and Szpunar (1999), who found 95% of iodine in whey fraction. Isaac-Olive et al. (2008) published, that in bovine whey 89-96% of iodine is in the form of iodide, and the rest is in the form of iodate and whey protein-bound iodine.

The samples were also analyzed for selenium content. In contrary to iodine (a non-metal), the majority of selenium (a metalloid) stays bonded with the casein fraction and is not transferred to the whey. It was found that 23.6% (farm B) and 23.9% (farm C) of selenium transfers from whole milk to the whey fraction after casein coagulation. This does not fully

correspond with the study of Muniz et al. (2005), who determined 56.6% of selenium transferred from whole milk to milk whey.

4. Conclusion

The total average of selenium from all farms was 7.32 ± 1.62 µg/kg and of iodine 458.7 ± 109.3 µg/kg. The differences between farms in selenium and iodine content were found to be statistically significant. The results showed a strong relationship between selenium content in milk and in mineral supplement. It was observed that the levels of selenium in the late phase of lactation are significantly higher. No significant differences were found in selenium or iodine levels between white and brown breeds or in their three lineages. Approximately 77 % of the iodine and 23.8% of the selenium transfer from milk to the whey fraction.

Acknowledgment

The study was financially supported from internal grant FAFNR CULS Prague no. 21120/1312/3114 and by Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (research project MSM 604 607 0961).

References

ANKE M., GROPPEL, B., MULLER M., SCHOLZ, E., KRAMER K. (1995): The iodine supply of humans depending on site, food offer and water-supply. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, **352** (1-2): 97-101.

AYAR A., SERT D., AKIN N. (2009): The trace metal levels in milk and dairy products consumed in middle Anatolia-Turkey. Environmental Monitoring and Assessment, **152**: 1-12.

FERNANDEZ-SANCHEZ L., SZPUNAR J. (1999): Speciation analysis for iodine in milk by size-exclusion chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection (SEC-ICP MS). Journal of Analytical Atomic Spectrometry, **14**: 1697-1702.

177 FIEDLEROVÁ V. (1998): Spectrophotometric determination of iodine and its content and
178 stability in selected food raw materials and products. Czech Journal of Food Science, **16**: 163-
179 197.
180 GROPPEL B. (1993): Jodmangel beim Tier, in: Anke M., Gürtler H. (Eds.), Mineralstoffe und
181 Spurelemente in der Ernährung. Verlag Media Touristik, Gersdorf, Germany, pp. 127-156.
182 FLYNN A., POWER P. (1985): Nutritional aspects of minerals in bovine and human milks. In:
183 Fox P.F. (ed.): Developments in Dairy Chemistry – 3. Elsevier, London.
184 HEJTMÁNKOVÁ A., KUKLÍK L., TRNKOVÁ E., DRAGOUNOVÁ H. (2006): Iodine concentrations
185 in cow´s milk in Central and Northern Bohemia. Czech Journal of Animal Science **51** (5):
186 189-195.
187 HEJTMÁNKOVÁ A., VEJDOVÁ M., TRNKOVÁ E. (2005): Stanovení jódu v biologickém materiálu
188 metodou HPLC s elektrochemickým detektorem (Determination of iodine in biological
189 material by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection).
190 Chemické listy **99:** 657-660. In Czech.
191 IDF (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION) (1994): Milk and dried milk – Determination of iodine
192 content. High performance liquid chromatographic method, Nr. 167.
193 ISAAC-OLIVE K., ACHARYA R., CHATT A. (2008): Fractionation analysis of iodine in bovine milk by
194 preconcentration neutron activation analysis. Talanta, **77**(2): 827-832.
195 KNOWLES S.O., GRACE N.D., WURMS K., LEE J. (1999): Significance of amount and form of
196 dietary selenium on blood, milk and casein selenium concentrations in grazing cows. Journal of Dairy
197 Science **82**: 429-437.
198 KNOWLES S.O., LEE J., GRACE N.D. (1997): Metabolism of trace elements in lactating dairy cows:
199 Perspectives of selenium and iodine in animal health and human nutrition. Proceedings of the nutrition
200 society of New Zealand, **22**: 174-183.

MESCHY F. (2000).: Recent assessment of mineral requirements of goats. Livestock Production Science, **64**: 9-14.

MORAND-FEHR P., FEDELE V., DECANDIA M., LE FLILEUX Y. (2007): Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. Small Ruminant Research, **68**(1-2): 20-34.

MUNIZ-NAVEIRO O., DOMINIQUEZ-GONZALEZ R., BERMEJO-BARRERA A., COCHO J.A., FRAGA J.M., BERMEJO-BARRERA P. (2005): Determination of total selenium and selenium distribution in the milk phases in commercial cow's milk by HG-AAS. Analytical and bioanalytical chemistry, **381**(6): 1145-1151.

PECHOVÁ A., JANSTOVÁ B., DRAČKOVÁ M., VORLOVÁ L., PAVLATA L. (2008): Impact of supplementation of various selenium forms in goats on quality and composition of milk, cheese and yoghurt. Acta Vet. Brno, **77**: 407-414.

PETRERA F., CALAMARI L., BERTIN G. (2009): Effect of either sodium selenite or Se-yeast supplementation on selenium status and milk characteristics in dairy goats. Small Ruminant Research, **82**:130-138.

RODRIGUEZ E.M.R., ALAEJOS M.S., ROMERO C.D. (2002): Mineral content in goat's milks. Journal of food quality, **25** (4): 343-358.

SCHÖNE F., RAJKUMAR RAJENDRAM (2009): Iodine in farm Animals. In: Preedy, V.R., Burrow G.N., Watson R.R. (Eds.) Comprehensive Handbook of Iodine: Nutritional, Biochemical, Pathological and Therapeutic aspects, 151-171.

SILANIKOVE N., LEITNER G., MERIN U., PROSSER C.G. (2010): Recent advances in exploiting goat's milk: Quality, safety and production aspects. Small Ruminant Research, **89**(2): 110-124.

224 SORYAL K., BEYENE F.A., ZENG S., BAH B., TESFAI K. (2005): Effect of goat breed and milk
225 composition on yield, sensory quality, fatty acid concentration of soft cheese during lactation.
226 Small Ruminant Research, **58**(3): 275-281.
227 ZENG S.S., ESCOBAR E.N. (1996): Effect of breed milking method on somatic cell count,
228 standard plate count and composition of goat milk. Small Ruminant Research, **19**(2): 169-175.
229 ZIMMERMANN M.B., KÖHRLE J.(2002): The impact of iron and selenium deficiencies on iodine
230 and thyroid metabolism: Biochemistry and relevance to public health. Thyroid, **12**: 867-878.
231 **Corresponding Author**
232 Lenka Rozenská, Department of Chemistry, Faculty of Agrobiology, Food and Natural
233 Resources, Czech University of Life Sciences, Kamýcká 129, 165 21 Prague, Czech Republic,
234 +420 224382716, rozenska@af.czu.cz