

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



**Vliv přídavku huminových látek do krmné dávky dojnic
na složení mléka**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Adéla Kocmanová

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

© 2014 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci "Vliv přídavku huminových látek do krmné dávky dojnic na složení mléka" vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne

Adéla Kocmanová

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala Ing. Veronice Legarové, Ph.D. za vedení teoretické části diplomové práce a současně Ing. Miroslavě Potůčkové za odborné vedení její experimentální části. Děkuji Matěji Přesličkovi, generálnímu řediteli a předsedovi představenstva společnosti ReConsulting a.s., za poskytnutí pokusného materiálu.

Vliv přídatku huminových látek do krmné dávky dojnic na složení mléka

Souhrn

Tato práce byla zaměřena na stanovení vlivu krmiva s přídatkem huminových látek na obsah základních složek (sušina, tuk, tukuprostá sušina, laktóza, hrubé bílkoviny, kasein) kravského mléka a jeho vybraných fyzikálně - chemických parametrů (hustota, titrační a aktivní kyselost). Bylo analyzováno mléko 10 dojnic. Polovina zvířat tvořila kontrolní skupinu a byla krmena běžnou krmnou dávkou, druhá polovina pak stejnou krmnou dávkou, ale obohacenou o huminové látky (produkt Humafit, Rusko). Do experimentu byly zařazeny dojnice několika plemen s pořadím laktace 1, 2, 3 a 6. Vzorky mléka byly odebírány v průběhu dvou měsíců.

Všechny hodnocené vzorky splňovaly v parametrech analyzovaných v této práci legislativní požadavky dané Vyhláškou č. 77/2003 Sb.

Bylo zjištěno, že při krmení dojnic krmnou dávkou obohacenou o humáty dochází oproti zvířatům krmeným standardně k vyššímu nárůstu ($\alpha = 0,05$) obsahu hrubých bílkovin a kaseinu v jejich mléce. Vyšší nárůst byl rovněž zaznamenán v případě sušiny, tuku a tukuprosté sušiny, ale nebyl statisticky významný ($\alpha = 0,05$). Statisticky významné ($\alpha = 0,05$) změny hodnot laktózy, hustoty, titrační a aktivní kyselosti nebyly v průběhu experimentu pozorovány.

Na základě získaných výsledků lze usuzovat, že přídatek produktu Humafit s obsahem humátu draselného do krmné dávky dojnic zvyšuje ($\alpha = 0,05$) obsah proteinu, resp. obsah hrubých bílkovin a kaseinu v jejich mléce.

Klíčová slova: humát draselný, kasein, výživa

The effect of addition of humic substances to the diet of dairy cows on milk composition

Summary

The aim of this work was to characterise an effect of the addition of humic substances to the diet of dairy cows on the content of main milk components (dry matter, fat, non-fat dry matter, lactose, total protein and casein) and on the physico - chemical parameters (density, titratable and active acidity). It was analyzed 10 samples of milk. 5 samples of milk were produced by dairy cows which were feeded as usual, 5 samples of milk were produced by dairy cows which were feeded with addition of humic substances (Humafit, Russia Federation). Dairy cows were different in breed and turn of lactation (1, 2, 3, 6). Sampling was carried out for 2 months.

All samples met for analyzed parameters the requirements of legislation (Decree No. 77/2003 Coll.). It was observed that the milk of cows which were feeded with addition of humic substances had higher ($\alpha = 0.05$) total protein and casein content than the milk of cows which were feeded as usual. Milk of control group of cows had also lower content of dry matter, fat and non-fat dry matter (but these differences were not statistically significant on $\alpha = 0.05$). Statistically significant ($\alpha = 0.05$) changes of lactose content, density, titratable and active acidity were not observed.

Based on the results could be confirm that the addition of product Humafit with potassium humate content to the diet of dairy cows increased ($\alpha = 0.05$) total protein and casein content of the milk.

Key words: potassium humate, casein, nutrition

Obsah

1	Úvod	8
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	10
3	Literární rešerše	11
3.1	Složení mléka.....	11
3.1.1	Voda.....	12
3.1.2	Plyny	12
3.1.3	Dusíkaté látky	12
3.1.3.1	Bílkoviny	13
3.1.3.2	Nebílkovinné dusíkaté látky	14
3.1.4	Sacharidy	15
3.1.5	Mléčný tuk	15
3.1.5.1	Triacylglyceroly	17
3.1.5.2	Minoritní složky mléčného tuku.....	19
3.1.6	Minerální látky a soli	20
3.1.7	Vitaminy	23
3.1.7.1	Lipofilní vitaminy.....	23
3.1.7.2	Hydrofilní vitaminy	25
3.1.8	Enzymy	27
3.1.9	Bioaktivní složky mléka	28
3.2	Faktory ovlivňující složení mléka.....	29
3.2.1	Výživa.....	30
3.2.1.1	Faktory výživy ovlivňující obsah proteinu v mléce	30
3.2.1.2	Faktory výživy ovlivňující obsah a složení mléčného tuku	31
3.2.1.3	Faktory výživy ovlivňující obsah laktózy v mléce.....	33
3.2.1.4	Vliv přísady huminových látek do krmné dávky	34
3.2.2	Vliv genotypu na složení mléka.....	38
3.2.2.1	Vliv plemene na množství a složení dusíkatých látek mléka	38
3.2.2.2	Vliv plemene na množství a složení mléčného tuku	39
3.2.2.3	Vliv plemene na obsah laktózy v mléce	39
3.2.3	Zdravotní stav	39
3.2.3.1	Vliv zdravotního stavu na množství a složení dusíkatých látek mléka	39
3.2.3.2	Vliv zdravotního stavu na množství a složení mléčného tuku	40

3.2.3.3	Vliv zdravotního stavu na obsah laktózy v mléce	40
3.2.4	Fáze laktace.....	41
3.2.4.1	Vliv stádia laktace na množství a složení dusíkatých látek mléka	41
3.2.4.2	Vliv stádia laktace na množství a složení mléčného tuku	41
3.2.4.3	Vliv stádia laktace na obsah laktózy v mléce	41
3.2.5	Sezónní vlivy	42
3.2.6	Stáří zvířete	42
3.2.7	Faktory ovlivňující obsah minerálních látek a vitaminů v mléce	42
3.2.7.1	Minerální složení	42
3.2.7.2	Vitaminové složení	43
4	Materiály a metody	45
4.1	Materiály	45
4.1.1	Charakterizace analyzovaných vzorků	45
4.1.2	Odběr vzorků	46
4.2	Analytické metody	47
4.2.1	Stanovení aktivní kyselosti	47
4.2.2	Stanovení titrační kyselosti	47
4.2.3	Stanovení obsahu sušiny mléka vážkově (ČSN ISO 6731).....	48
4.2.4	Stanovení obsahu tuku acidobutyrickou metodou podle Gerbera	49
4.2.5	Stanovení obsahu tukuprosté sušiny	50
4.2.6	Stanovení obsahu laktózy, hrubých bílkovin, kaseinu a hustoty metodou infračervené spektroskopie	50
4.2.7	Statistické metody	51
5	Výsledky	52
5.1	Vliv přidavku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah sušiny v mléce	52
5.2	Vliv přidavku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah tuku v mléce....	55
5.3	Vliv přidavku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah tukuprosté sušiny (tps) v mléce.....	58
5.4	Vliv přidavku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah laktózy v mléce.....	61
5.5	Vliv přidavku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah hrubých bílkovin v mléce	64
5.6	Vliv přidavku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah kaseinu v mléce	67

5.7	Vliv přidavku huminových látek do krmné dávky dojnic na titrační kyselost (TK) mléka.....	70
5.8	Vliv přidavku huminových látek do krmné dávky dojnic na aktivní kyselost (<i>pH</i>) mléka.....	73
5.9	Vliv přidavku huminových látek do krmné dávky dojnic na hustotu mléka	76
5.10	Shrnutí.....	79
6	Diskuze	80
7	Závěr.....	82
8	Seznam literatury	83
9	Seznam použitých zkratk	90
10	Seznamy	91
10.1	Seznam obrázků.....	91
10.2	Seznam tabulek	91
10.3	Seznam grafů	92
11	Seznam příloh.....	95

1 Úvod

Mléko a mléčné výrobky hrají vzhledem k jejich vysoké nutriční hodnotě velmi důležitou roli v lidské výživě. Obsahují energetické sloučeniny (bílkoviny, sacharidy a lipidy) a neenergetické elementy, které jsou přítomny v menším množství a zahrnují mikroelementy (vitaminy, minerály a stopové prvky) a další složky (karotenoidy, polyfenoly, atd.). Mléko je obecně považováno za důležitý zdroj bílkovin v lidské stravě vzhledem k jeho příznivé skladbě aminokyselin, stravitelnosti a biologické dostupnosti pro člověka. Mnohé složky mléka jsou biologicky aktivní a působí tak proti vzniku či rozvoji různých onemocnění, např. proti ateroskleróze, osteoporóze, vysokému krevnímu tlaku či cukrovce. Spotřeba mléka a mléčných produktů by měla být preventivním opatřením proti civilizačním chorobám.

Látkové složení mléka může být ovlivněno mnoha faktory, mezi něž lze zahrnout výživu dojníc, fázi laktace, vliv různých onemocnění, genetické faktory, sezónní vlivy či stáří zvířete. Výživa zvířete má na většinu složek mléka největší vliv. A právě vliv určitého druhu výživy na obsah základních složek mléka je v této práci zjišťován.

Celosvětově jsou v chovech dojníc, v rámci různých inovací a pokroku, testovány nejrůznější druhy krmiv s cílem zvýšení kvality produkovaného mléka. V posledních letech se zájem v chovu dojníc ubírá mimo jiné směrem k aplikacím přírodních látek do krmiv. Tyto látky mohou být přítomny v různých formách (extrakty či čisté látky). K intenzivnímu rozvoji dochází zejména v oblastech, v nichž je doposud udržována silná tradice používání rostlinných zdrojů jako terapeutických prostředků (Čína, Japonsko, Korea, Indie). Evropa a USA jsou k využívání těchto látek poněkud skeptičtější, ale situace se pomalu mění.

Přírodními látkami, ovlivňujícími kvalitu živočišných produktů, mohou být primární metabolity rostlin (aminokyseliny, mastné kyseliny, sacharidy apod.), látky nutné pro intermediární metabolismus (karotenoidy, enzymy apod.) či sekundární metabolity rostlin (organické kyseliny a alkoholy, saponiny, alkaloidy, flavonoidy, vegetabilní odpady apod.).

Perspektivním směrem vývoje se zdá být využití vegetabilních zdrojů v živočišné výrobě, tedy použití přírodních látek zejména rostlinného původu jako doplňkových látek (přísad) do krmiv s cílem přímého zlepšení kvality živočišných produktů (maso, mléko, vejce).

Použití vegetabilních odpadů či materiálů, které z těchto odpadů vznikly různými biologickými, fyzikálními a chemickými cestami, by mohlo vést ke snížení nákladů

na produkci zvířat a zároveň mít pozitivní vliv na složení živočišných produktů. Avšak je potřeba se zaměřit i na negativní vlivy používání - nestandardnost a heterogenita těchto materiálů či možnost zanesení nežádoucích (možná i toxických) látek do krmiv. Možná právě z těchto důvodů není v Evropě využití těchto látek prozatím tak populární. Jiným aspektem, proč Evropa zaostává ve vývoji těchto doplňkových látek do krmiv, by mohly být přísné legislativní požadavky na kvalitu a bezpečnost krmiv a potravin, s čímž souvisí i značné investiční náklady pro firmy či chovatele, kteří by o vývoj krmiv a jejich uvedení na trh měli zájem.

Do této skupiny vegetabilních materiálů spadají různé humózní substance (huminové a fulvinové kyseliny). Praktická část této diplomové práce je na tyto látky zaměřena, konkrétně na vliv přídavku huminových látek do krmné dávky dojnic na látkové složení mléka.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Přídavek huminových látek do krmné směsi dojnic statisticky průkazně ovlivní složení mléka.

Cílem diplomové práce je v teoretické části zpracování přehledné literární rešerše zaměřené na problematiku výživy dojnic (přídavek huminových látek do krmné dávky a jejich vliv na složení mléka). V praktické části je cílem práce posouzení složení a kvality mléka dojnic krmených běžnou krmnou dávkou a krmnou dávkou obohacenou o huminové látky.

3 Literární rešerše

3.1 Složení mléka

Codex Alimentarius (2011) definuje mléko jako sekret mléčné žlázy zvířat produkujících mléko, získaný dojením, do kterého nebylo nic přidáno ani z něho nebylo nic odebráno, určený pro konzumaci v tekutém stavu, nebo pro další zpracování.

Mléko je sekret produkovaný mléčnými žlázami samic savců určený k výživě jejich mláďat. Mléko obsahuje složky (bílkoviny, tuk, sacharidy, minerální látky, vitaminy) nezbytné pro růst a vývoj mláďat. Kromě výživové funkce plní mléko i další významné fyziologické funkce, např. obrannou funkci (obsahuje imunoglobuliny, antimikrobiální látky), napomáhá trávení (enzymy, inhibitory enzymů, enzymy vázající proteiny), dále obsahuje růstové faktory a hormony. Nutriční a fyziologické požadavky jsou u každého druhu jedinečné, složení mléka proto vykazuje mezidruhové rozdíly (Navrátilová a kol., 2012).

Složky mléka lze obecně rozdělit na složky původní, které vznikají během látkové přeměny v mléčné žláze a jsou přirozenou součástí mléka a složky nepůvodní (cizorodé), které se mohou dostat do mléka intravitálně nebo postsekretoricky (Navrátilová a kol., 2012).

Z fyzikálně - chemického hlediska je mléko polydisperzní systém, který se skládá ze dvou základních částí: z disperzního prostředí a z částic rozptýlených v tomto prostředí, které tvoří disperzní fázi. Fyzikální a fyzikálně - chemické vlastnosti disperzního systému závisí na vnitřních faktorech (složení, struktura) a na vnějších faktorech (teplota, ošetření mléka po nadojení). Struktura mléka je komplikovaná, protože mléko obsahuje více než 100 000 molekul různých chemických látek. Látky přítomné v mléce jsou v různém stupni disperze, podle velikosti molekul nebo částic se rozlišuje emulzní fáze, molekulární fáze a fáze koloidní. Fázi emulzní v čerstvém mléce tvoří mléčný tuk spolu s fosfolipidy, steroly, vitaminy rozpustnými v tucích a volnými mastnými kyselinami. V koloidní disperzi se nacházejí mléčné bílkoviny - kaseiny, α -laktalbumin, β -laktoglobulin, sérový albumin, enzymy. V molekulární disperzi jsou přítomné sacharidy, vitaminy rozpustné ve vodě, nebílkovinné dusíkaté látky, soli a plyny. Mléčné sérum vzniká po odstranění mléčného tuku a kaseinu z mléka. Mléčné plazma vzniká z mléka po odstranění mléčného tuku odstředěním (Navrátilová a kol., 2012).

3.1.1 Voda

Mléko obsahuje průměrně 87 až 88 % vody. Voda se vyskytuje ve formě volné, vázané na koloidy a chemicky vázané. Volná voda tvoří převážnou část vody v mléce. Je v ní rozpuštěna laktóza a minerální látky (Gajdůšek, 2003).

Množství vody v mléce je regulováno množstvím laktózy syntetizované sekrečními buňkami mléčné žlázy. Voda, která jde do mléka, přichází do mléčné žlázy z krve. Produkce mléka je velmi rychle ovlivněna nedostatkem vody, a pokud je omezen přístup k pitné vodě nebo není k dispozici vůbec, produkce klesá. To je jeden z důvodů, proč by měly mít dojnice volný přístup k pitné vodě za všech okolností (Wattiaux, 2006).

Nejdůležitějším praktickým aspektem vody v mléčných výrobcích je její vliv na chemickou, fyzikální a mikrobiologickou stabilitu. K chemickým změnám, které jsou aktivitou vody ovlivněny, patří Maillardovo hnědnutí (včetně ztráty lysinu), oxidace lipidů, ztráta některých vitaminů, stabilita pigmentu a denaturace bílkovin. Fyzikální změny se týkají krystalizace laktózy. Řízení růstu mikroorganismů snížením aktivity vody má velký význam pro stabilitu řady mléčných výrobků (Fox a McSweeney, 1998).

3.1.2 Plyny

Čerstvě nadojené mléko obsahuje průměrně 6 až 9 obj. % plynů, z nichž převážná část připadá na CO₂ (5 až 7 %). Část plynů se dostává do mléka až po styku se vzduchem, CO₂ však pravděpodobně přechází do mléka z krve. Po určité době stání klesá množství rozpuštěných plynů v důsledku ustavení rovnováhy mezi mlékem a ovzduším a dojde také i ke kvalitativním změnám (pokles CO₂, zvýšení N₂ a O₂). Rozpuštěný kyslík může oxidovat přítomnou kyselinu askorbovou, případně i tuky. Pokud je stanovena u mléka ihned po nadojení titrační kyselost, jsou zjišťované hodnoty vyšší o rozpuštěný CO₂. Proto je nutno mléko před stanovením titrační kyselosti zahřát. Malé množství kyslíku stimuluje rozvoj aerobních mikroorganismů (Gajdůšek, 2003).

3.1.3 Dusíkaté látky

Složitý komplex dusíkatých látek v mléce tvoří proteiny mléka, proteiny obalů tukových kuliček, minoritní bílkoviny, enzymy a nebílkovinné dusíkaté látky. Z technologického hlediska jsou nejvýznamnějšími dusíkatými látkami bílkoviny (Navrátilová a kol., 2012).

3.1.3.1 Bílkoviny

Kravné mléko obsahuje asi 3,5 % bílkovin. Koncentrace se významně mění během laktace, zejména během několika prvních dní po porodu. Největších změn dosahuje frakce syrovátkových bílkovin. Přirozenou funkcí mléčných bílkovin je dodávat mláďatům savců esenciální aminokyseliny nezbytné pro vývoj svalových a dalších tkání obsahujících bílkoviny a řadu biologicky aktivních proteinů, např. imunoglobuliny, proteiny vázající vitaminy, proteiny vázající kovy a různé bílkovinné hormony (Fox a McSweeney, 1998).

Proteiny v mléce jsou frakcionovány do dvou dobře definovaných skupin. Při okyselení na pH 4,6 (izoelektrický bod) při přibližně 30 °C, se asi 80 % z celkového proteinu kravného mléka vysráží z roztoku, tzv. frakce kaseinová. Protein, který zůstává rozpustný za těchto podmínek, se označuje jako syrovátkový či sérový protein nebo nekaseinový dusík (Fox a McSweeney, 1998). V následující tabulce (Tabulka 1) je uveden obsah mléčných bílkovin.

Tabulka 1: Bílkoviny v mléce

Protein	Obsah [g.kg ⁻¹ mléka]	Obsah [g.100g ⁻¹ proteinu]
<i>Celkový kasein</i>	26	78,5
α_{s1} -kasein	10,0	31
α_{s2} -kasein	2,6	8
β -kasein	9,3	28
κ -kasein	3,3	10
γ -kasein	0,8	2,4
<i>Syrovátkové bílkoviny</i>	6,3	19
β -laktoglobulin	3,2	9,8
α -laktalbumin	1,2	3,7
sérový albumin	0,4	1,2
proteoso-pepton	0,8	2,4
<i>Imunoglobuliny</i>	0,8	2,4
IgG ₁ , IgG ₂	0,65	1,8
IgA	0,14	0,4
IgM	0,05	0,2
minoritní proteiny	0,9	2,5
laktoferin	0,1	
<i>Proteiny membrán tukových kuliček</i>	0,7	2

(Walstra et al., 1999)

3.1.3.1.1 Kaseiny

Kaseiny tvoří 72 - 78 % mléčných bílkovin. Kasein je syntetizován v ribozomech endoplazmatického retikula buněk mléčné žlázy (Zdražil, 2002). Jsou to fosfoproteiny (tj. některé jejich OH skupiny jsou esterifikovány kyselinou fosforečnou) obsahující značné množství prolinu, který způsobuje zlomy v řetězci proteinu a inhibuje vytvoření kompaktní struktury. Neobsahují sulfidové můstky. Mají velice málo sekundární struktury (a téměř žádnou terciární), takže je obtížné je denaturovat. V mléku se nachází v micelách, které drží pohromadě díky vápenatým iontům a hydrofobním silám (Urbánková, 2007). Kaseinová micela obsahuje asi 20 000 až 50 000 molekul kaseinů. Kaseinovou micelu tvoří z 93 % kaseiny, asi 3 % hmotnosti je vápenatých iontů, 3 % anorganického fosfátu, 2 % fosfátu vázaného jako fosfoserin, 0,4 % citrátu a 0,5 % koloidního fosforečnanu vápenatého (CCP). Micely jsou schopné vázat velké množství vody (Navrátilová a kol., 2012).

3.1.3.1.2 Syrovátkové bílkoviny

Po vysrážení kaseinu z mléka při *pH* 4,6 zůstává v mléčném séru přibližně 0,6 % hm. bílkovin, které se nazývají syrovátkové bílkoviny a tvoří přibližně 17 - 20 % z celkového množství bílkovin v mléce. Vyšší nutriční hodnota syrovátkových bílkovin je dána vysokým obsahem aminokyseliny cystinu. Syrovátkové bílkoviny denaturují při zahřevu na teplotu 95 °C (20 minut). Syrovátkové bílkoviny mají globulární charakter a řadíme je k hydrofilním koloidům. V nativním stavu tvoří poměrně stabilní koloidní roztoky. Syrovátkové bílkoviny jsou rozpustné při všech hodnotách *pH*. Do skupiny syrovátkových bílkovin řadíme β-laktoglobulin, α-laktalbumin, sérový albumin, imunoglobuliny (95 % syrovátkových bílkovin) a proteoso-pepton (Navrátilová a kol., 2012).

3.1.3.2 Nebílkovinné dusíkaté látky

Z veškerého dusíku v mléce je v bílkovinách obsaženo v průměru 95 %, zbývajících 5 % tvoří nebílkovinné dusíkaté látky (Navrátilová a kol., 2012). Tyto látky zůstávají v roztoku po vysrážení veškerých bílkovin mléka 12 % kyselinou trichloroctovou. V převážné části se jedná o produkty metabolismu (Šustová a Sýkora, 2013). Největší podíl připadá na močovinu, která může ve vyšších koncentracích negativně ovlivnit kysací schopnost mléka (Navrátilová a kol., 2012). Z dalších jsou v mléce přítomny volné aminokyseliny, resp. jednoduché peptidy, kyselina močová, kreatin, kreatinin, kyselina orotová, nukleotidy, vitaminy skupiny B, amoniak apod., tj. jedná se o všechny složky, obsahující ve své molekule

dusík (Šustová a Sýkora, 2013). Dle Navrátilové a kol. (2012) ve směsném mléce nebilkovinné dusíkaté látky reprezentuje: amoniak (2 - 12 mg.l⁻¹), močovina (50 - 200 mg.l⁻¹), kyselina neuraminová (100 - 220 mg.l⁻¹), kyselina hippurová (20 - 80 mg.l⁻¹).

3.1.4 Sacharidy

Hlavním zástupcem sacharidů v mléce je laktóza. Laktóza se vyskytuje jen v mléce, proto je nazývána mléčný cukr. Ve směsném mléce od zdravých a dobře krmených krav se její obsah pohybuje kolem 4,8 % (Šustová a Sýkora, 2013). Laktóza je hlavním sacharidem mléka všech savců. Mléko obsahuje pouze stopová množství jiných cukrů, kterými jsou glukóza, fruktóza, glukosamin, galaktosamin, kyselina neuraminová a neutrální a kyselé oligosacharidy. Laktóza spolu se sodíkem, draslíkem a chloridovými ionty hraje důležitou roli při udržování osmotického tlaku v systému mléčné žlázy. Jakékoli zvýšení nebo snížení obsahu laktózy je kompenzováno zvýšením nebo snížením koncentrace rozpustných solí. Tento osmotický vztah částečně vysvětluje, proč některá mléka s vysokým obsahem laktózy mají nízký obsah popelovin a naopak (Fox a McSweeney, 1998).

Laktóza má příznivý vliv na trávení, protože vazbou vody vyvolává bobtnání střevního obsahu a podporuje peristaltiku. Enzymem β -galaktosidázou se štěpí v tenkém střevě na glukózu a galaktózu. Hlavní význam laktózy z hlediska fyziologie výživy je v tom, že kyselina mléčná, která vzniká v intestinálním ústrojí mikrobiální činností, zvyšuje resorpci vápníku. Laktóza je i ideální zdroj uhlíku pro bakterie mléčného kvašení (Šustová a Sýkora, 2013).

Laktóza má dva hlavní nutričně nežádoucí vlivy (Fox a McSweeney, 1998). U lidské populace je známa řada typů sníženého vstřebávání (malabsorpce) a nesnášenlivosti (intolerance), která se vyskytuje relativně často (Šustová a Sýkora, 2013). Laktózová intolerance je způsobena nedostatkem intestinální β -galaktosidázy. Galaktosémie je způsobena neschopností metabolizovat galaktózu v důsledku dědičné deficiencie galaktokinázy nebo galaktóza-1-fosfát-uridylyltransferázy (Fox a McSweeney, 1998).

3.1.5 Mléčný tuk

Lipidy obsažené v potravě slouží jako zdroj energie pro novorozence a obsahem tuku v mléce z velké části odráží energetické požadavky pro jednotlivé druhy zvířat. Mléčné lipidy jsou také důležité jako zdroj esenciálních mastných kyselin (tj. mastných kyselin, které

nemohou být syntetizovány vyššími živočichy, zejména kyseliny linolové) a vitaminů rozpustných v tucích (A, D, E, K) a rovněž jsou mléčné lipidy důležité pro chuť a reologické vlastnosti mléčných produktů (Fox a McSweeney, 1998).

Lipidy se v kravském mléce vyskytují ve formě mikroskopických kuliček jako emulze olej ve vodě. Jak obsah tuku v mléce, tak složení mastných kyselin lipidů se může značně měnit v důsledku změn faktorů, jakými jsou plemeno, dieta a fáze laktace. Obsah tuku se mění v rozsahu od 3,0 do 6,0 %, ale obvykle se pohybuje v rozmezí 3,5 až 4,7 %. Mohou být zaznamenány změny ve složení mastných kyselin, které mohou vést ke změnám ve fyzikálních vlastnostech tuku. Z praktického hlediska jsou mléčné lipidy velmi důležité, protože udělují charakteristické nutriční, texturní a organoleptické vlastnosti mléčným výrobkům, jako je smetana, máslo, sušené plnotučné mléko a sýr (MacGibbon a Taylor, 2006).

Lipidy kravského mléka jsou podobné mléčným lipidům jiných druhů, protože se z velké části skládají z triacylglycerolů. Nicméně jsou zde i menší množství diacylglycerolů, monoacylglycerolů, volných (neesterifikovaných) mastných kyselin, fosfolipidů a sterolů. Přítomna jsou i stopová množství vitaminů rozpustných v tucích, aromatických látek rozpustných v tucích a β -karoten (MacGibbon a Taylor, 2006). V Tabulce 2 je uvedeno procentuální zastoupení jednotlivých frakcí mléčného tuku.

Tabulka 2: Klasifikace a zastoupení jednotlivých frakcí mléčného tuku

Frakce	Obsah [%]
triacylglyceroly	98
diacylglyceroly	0,3
monoacylglyceroly	0,03
volné mastné kyseliny	0,1
fosfolipidy	0,8
steroly	0,3
karotenoidy	stopy
vitaminy rozpustné v tuku	stopy
aromatické látky	stopy

(Navrátilová a kol., 2012)

3.1.5.1 Triacylglyceroly

Vzhledem k tomu, že triacylglyceroly tvoří asi 98 % z celkového množství tuku, mají významný a přímý vliv na vlastnosti mléčného tuku, například na hydrofobicitu, hustotu a vlastnosti tání. Triacylglyceroly jsou syntetizovány v mléčné žláze enzymatickými mechanismy. Tyto triacylglyceroly jsou komplexní směsí a značně se liší svými molekulovými hmotnostmi a stupněm nenasycenosti (MacGibbon a Taylor, 2006).

Mastné kyseliny (MK)

Bovinní mléčný tuk je považován za jeden z nejsložitějších přirozeně se vyskytujících tuků a olejů z důvodu velkého množství mastných kyselin s různými strukturami. Pomocí chromatografických a spektroskopických technik bylo v mléčném tuku identifikováno přibližně 400 mastných kyselin (MacGibbon a Taylor, 2006).

Mastné kyseliny kravského mléčného tuku vznikají ze dvou zdrojů. Buď syntézou *de novo* v mléčné žláze, nebo pocházejí z plazmatických lipidů původem z krmiva zvířat. Mastné kyseliny z těchto dvou zdrojů se liší strukturou. Lipidy z krmiva se skládají převážně z glykolipidů, fosfolipidů a triacylglycerolů a hlavními mastnými kyselinami jsou kyselina linolová a linolenová (MacGibbon a Taylor, 2006).

Z celkového obsahu mastných kyselin v mléčném tuku je výrazně vyšší zastoupení nasyčených mastných kyselin (cca 70 % všech MK) oproti nenasyceným. Mléčný tuk má tedy mezi potravinářskými tuky jednoznačně charakter tuku nasyceného. Mléko přežvýkavců obsahuje vyšší zastoupení kyseliny máselné (C_{4:0}) a dalších MK s krátkým a středně dlouhým řetězcem (do C_{10:0} se jedná o tzv. těkavé mastné kyseliny). Vysoký obsah kyseliny máselné (10 - 15 % ze všech mastných kyselin) v mléčném tuku přežvýkavců je pro tyto druhy mlék charakteristický a odlišuje je od ostatních druhů mlék (monogastrů), které vykazují velmi nízké koncentrace kyseliny máselné a dalších mastných kyselin s krátkým řetězcem. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem jsou původcem chuti a aroma mlék přežvýkavců a hrají významnou pozitivní roli v chuti některých sýrů. Z nasyčených mastných kyselin jsou v nejvyšších koncentracích přítomny kyseliny palmitová, stearová a myristová (C_{16:0}, C_{18:0}, C_{14:0}) (Navrátilová a kol., 2012).

Z nenasycených mastných kyselin je nejvíce zastoupená kyselina olejová (17 - 25 % ze všech MK). Z dalších monoenoových MK jsou v malé míře zastoupeny myristoolejová

(14:1), palmitoolejová (16:1) a kyselina vakcenová (transizomer kyseliny olejové (18:1) (Navrátilová a kol., 2012).

Mléčný tuk přežvýkavců obsahuje nízké koncentrace polyenových mastných kyselin (PUFA) ve srovnání s mléčným tukem monogastrických zvířat (Fox a McSweeney, 1998). Polyenové kyseliny jsou zastoupeny kyselinou linolovou a linolenovou. Významné je zastoupení konjugované kyseliny linolové (cis-9, trans-11), které se přičítají významné protektivní, zejména antikarcinogenní, vlastnosti. Její obsah je v kravském mléce 2 - 37 mg.g⁻¹. Kravské mléko obsahuje určitý podíl abiogenních trans nenasycených mastných kyselin (5 %). V mléce se nachází i nízký obsah keto- a hydroxy- MK, které se podílejí na aroma mléčného tuku (Navrátilová a kol., 2012). Mléko obsahuje i malé množství MK s lichým počtem uhlíků (Navrátilová a kol., 2012). Nízká úroveň PUFA v kravském mléčném tuku se považuje za nutričně nežádoucí (Fox a McSweeney, 1998). V Tabulce 3 jsou uvedeny hlavní mastné kyseliny kravského mléčného tuku.

Tabulka 3: Zastoupení hlavních mastných kyselin v kravském mléčném tuku

	Název kyseliny	Typické složení [%]
4:0	máselná	3,9
6:0	kapronová	2,5
8:0	kaprylová	1,5
10:0	kaprinová	3,2
12:0	laurová	3,6
14:0	myristová	11,1
14:1	myristoolejová	0,8
15:0	-	1,2
16:0	palmitová	27,9
16:1	palmitoolejová	1,5
18:0	stearová	12,2
18:1	olejová (cis)	17,2
18:1	elaidová (trans)	3,9
18:2	linolová	1,4
18:2	konjugovaná linolová	1,1
18:3	alfa-linolenová	1,0
	minoritní kyseliny	6,0

(Creamer a MacGibbon, 1996)

3.1.5.2 Minoritní složky mléčného tuku

Fosfolipidy

Fosfolipidy zaujímají méně než 1 % z celkového množství tuku. Hlavními zástupci jsou fosfatidylcholin, fosfatidylethanolamin a sfingomyelin. Jejich význam je dán zejména jejich přítomností v membráně tukové kuličky. Významnou část z celkových lipidů tvoří v podmáslí a v odstředěném mléce. Ve stopovém množství jsou zastoupeny další polární lipidy, např. ceramidy, cerebrosidy a gangliosidy (Navrátilová a kol., 2012). Fosfolipidy hrají významnou úlohu v mléce v důsledku jejich amfifilních vlastností. Z nich se asi 65 % nachází v membránách mléčných tukových globulí, zatímco ostatní zůstávají ve vodné fázi (MacGibbon a Taylor, 2006).

Steroly (cholesterol)

Cholesterol je hlavním steroidem zastoupeným v mléce a představuje více než 95 % všech přítomných sterolů. Cholesterol je přítomen jako volný (> 90 %), zbývající množství představují estery cholesterolu. Ve srovnání s ostatními potravinami živočišného původu je obsah cholesterolu nízký a činí kolem 0,3 % z celkového obsahu lipidů. 1 g mléčného tuku doprovází 2,2 - 4,1 mg cholesterolu (Navrátilová a kol., 2012).

Karotenoidy

Z nejvýznamnějších uhlovodíků se v mléce vyskytují karotenoidy. Z kvantitativního hlediska se v mléce vyskytují pouze ve stopových koncentracích, ale přispívají 10 – 50 % k aktivitě vitamínu A v mléce (Fox a McSweeney, 1998). Jsou to prekurzory vitamínu A (β -karoten reprezentuje 95 % všech karotenoidů mléka) (Navrátilová a kol., 2012). Karotenoidy jsou odpovědné za žlutavé zbarvení mléčného tuku (Fox a McSweeney, 1998).

Lipofilní vitaminy

V mléčném tuku jsou obsaženy vitaminy rozpustné v tuku - A, D, E a K. Jejich obsah (zejména vitamínu A, D, E) je závislý na druhu, plemeni, výživě dojníc a stádiu laktace. Mléko je považováno za hlavní zdroj vitamínu A (retinolu a esteru retinolu) a za chudý zdroj vitamínů D, E a K. Všechny v mléce přítomné vitaminy rozpustné v tuku jsou odolné vůči teplotám používaným v mlékárenských technologiích, a proto je v konzumním mléku jejich obsah v podstatě totožný, jako v mléce syrovém (Navrátilová a kol., 2012).

Prostaglandiny

V mléce se vyskytují některé prostaglandiny, ale není známo, zda mají nějakou fyziologickou úlohu. Prostaglandiny je skupina hormonům podobných látek odvozených od kyseliny arachidonové (Vokurka a kol., 1995). Jejich biologicky aktivní forma nepřežívá skladování a zpracování (Fox a McSweeney, 1998).

Látky tvořící tzv. flavour mléčného tuku

Chemie látek tvořících tzv. flavour mléčného tuku a másla je velmi komplexní a zahrnuje velký počet sloučenin, které přispívají k celkovému aroma a chuti (MacGibbon a Taylor, 2006). V mléčném tuku bylo identifikováno téměř 200 těkavých sloučenin (Schieberle et al., 1993). Avšak mnohé z těchto sloučenin jsou přítomny v podprahových koncentracích a rozsah, jakým tyto látky přispívají k celkovému profilu flavouru, není plně znám. Hlavními těkavými sloučeninami, které nejvíce k tomuto celkovému profilu přispívají, jsou laktony, mastné kyseliny, aldehydy a metylketony. Rovněž v malém množství hydroxykyseliny, které jsou prekurzory aromatických γ -laktonů a δ -laktonů. Tyto sloučeniny přispívají k celkovému flavouru mléčného tuku pouze v nízkých koncentracích. Naopak vysoké koncentrace vyvolané lipolýzou vedou k nežádoucí žluklé chuti. Zejména alifatické aldehydy přispívají jak k žádoucím, tak nežádoucím změnám aroma a chuti mléčného tuku. Čerstvý mléčný tuk metylketony neobsahuje, avšak po zahřátí dochází k dekarboxylaci β -ketokyselin a ke vzniku metylketonů. Tyto látky jsou považovány za původce bohaté chuti pečených výrobků obsahujících máslo. Je zde ještě několik dalších těkavých sloučenin, které přispívají k aroma a chuti mléčného tuku. Jedná se o diacetyl a skatol (MacGibbon a Taylor, 2006).

3.1.6 Minerální látky a soli

Sušinu mléka, která představuje 12 - 13 %, tvoří převážně organické látky. Hlavními stavebními jednotkami organických látek jsou organogenní prvky a minerální látky. Mléko obsahuje organické a anorganické soli. Termín soli mléka z chemického hlediska označuje složky mléka, které jsou přítomné v mléce ve formě iontů nebo v rovnováze s ionty. Soli zahrnují kromě minerálních látek (kovy a radikály anorganických kyselin) i sloučeniny organických kyselin. Množství solí může být vyjádřeno různými způsoby např. jako obsah prvků (P, Na aj.), obsah zbytků kyselin nebo obsah oxidů. Soli se nacházejí v mléce v různých

formách: v mléčném séru v podobě rozpustných solí (pravý roztok), nebo v koloidní formě, případně jsou vázány na organické složky mléka (Navrátilová a kol., 2012).

Reprezentativní hodnoty minerálních látek obsažených v kravském plnotučném mléce jsou uvedeny v Tabulce 4. Nejčastěji se minerální látky dělí podle jejich množství na následující skupiny: majoritní prvky (makroelementy), minoritní minerální prvky a stopové prvky (mikroelementy). S ohledem na nutriční význam ve výživě člověka je 20 prvků považováno za esenciální. K esenciálním prvkům náleží všechny majoritní prvky (Na, K, Mg, Ca, Cl, P a S) a některé stopové prvky (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, Co, Mo, Cr, Se, I, F, B a Si) (Navrátilová a kol., 2012). Mléko je bohatým zdrojem vápníku, fosforu, draslíku, chlóru a zinku, ale je mnohem méně uspokojivým zdrojem hořčíku, železa, mědi a manganu (Suttle, 2010).

Tabulka 4: Obsah minerálních látek v kravském plnotučném mléce

Minerální látka	Obsah [mg.kg ⁻¹]	Minerální látka	Obsah [mg.kg ⁻¹]
Ca	1100 - 1300	S	290 - 330
P	870 - 980	Ni	< 0,003 - 0,03
Mg	110 - 140	Co	0,0004 - 0,0011
K	1550 - 1600	Mo	0,01 - 0,07
Na	480 - 500	Cr	0,002 - 0,02
Cl	900 - 980	I	0,016 - 0,75
Zn	3,4 - 4,7	F	0,08 - 0,1
Fe	0,35 - 0,8	B	0,02 - 0,2
Cu	0,05 - 0,2	Si	0,7
Mn	0,03 - 0,09		

(Velíšek a Hajšlová, 2009)

Vápník je makroprvek přirozeně se vyskytující ve větším množství v mléce. Průměrná koncentrace vápníku v mléce je okolo 1200 mg v jednom litru, přičemž toto množství je rozděleno mezi micelární a vodnou fázi. V micelární fázi je vápník navázán na fosfoserylové zbytky kaseinu, zatímco ve vodné fázi může být vápník vázán na syrovátkové proteiny nebo anorganické formy fosforečnanových solí (McGann, 1983; Little a Holt, 2004). Tyto fáze jsou v termodynamické rovnováze, ale pokud dojde ke změně fyzikálně - chemických podmínek mléka, jako jsou například změny *pH* nebo teploty, může docházet k přechodu molekul

vápníku z jedné fáze do druhé (Pereira, 2013). Vápník je nezbytným faktorem pro řádné fungování kosterního systému, pro prevenci hypertenze, tvorby ledvinových kamenů, rakoviny prsu a vzniku nádorů tlustého střeva (McDowell, 2003).

Kromě vápníku je mléko považováno rovněž za dobrý zdroj fosforu, který je přítomen v organické i anorganické formě. Organický fosfát se nachází zejména v micelární fázi a váže se na organické molekuly, jako jsou proteiny, fosfolipidy, organické kyseliny a nukleotidy. Anorganická forma se nachází ve vodné fázi a odpovídá obsahu ionizovaného fosfátu, jehož stav závisí na hodnotě *pH*. Obdobně jako u vápníku jsou obě formy v rovnováze a jejich rozdělení může záviset na podmínkách jako je *pH*. Průměrná koncentrace fosforu v mléce je asi 950 mg v jenom litru (Gaucheron, 2011).

V mléce a mléčných výrobcích můžeme nalézt také hořčík. Stejně jako u vápníku a fosforu je dynamická rovnováha mezi micelární a vodnou fází citlivá na podmínky jako je *pH* (Gaucheron, 2011). V jednom litru mléka je obsaženo 120 mg hořčíku, což odpovídá 29 % referenční výživové dávky pro tuto minerální látku (Pereira, 2013). Hořčík zamezuje vzniku arteriosklerózy, oxidačního stresu a onemocnění ledvin (McDowell, 2003).

Sodík a draslík se nacházejí v mléce především ve formě solí kyseliny fosforečné a citronové. Převážná část (asi 95 %) K a Na je v mléčném séru přítomna v pravém roztoku ve formě lehce disociovatelných solí, zbytek (5 %) je vázán na kasein. Na, K a Cl mají významnou fyziologickou funkci v organismu. Sodík je hlavním kationtem v extracelulární tekutině a je základním regulátorem objemu extracelulárních tekutin. Je důležitý pro regulaci osmotického tlaku, acido-bazické rovnováhy, membránového potenciálu buněk a pro aktivní transport přes buněčné membrány (Navrátilová a kol., 2012).

Mléko je také dobrým zdrojem mikroprvků jako je zinek a selen. V jednom litru mléka jsou obsaženy 3 - 4 mg zinku. Zinek se spojuje s kaseinem a bývá většinou přítomen v micelární fázi (Singh et al., 1989). Obsah v mléce a mléčných výrobcích je závislý na výživě zvířete (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Underwood a Suttle (1999) došli k závěru, že koncentrace minerálních látek v mléce se liší v závislosti na stádiu laktace a že s postupující laktací klesá. Kirchgessner et al. (1967) uvádějí, že vliv krmiva na složení mléka se velmi liší pro různé minerální látky. Nedostatek vápníku, fosforu, sodíku a železa v krmivu se odráží v poklesu výtěžku mléka, ale ne v koncentracích těchto látek ve vylučovaném mléce. Naproti tomu, když se vyskytne nedostatek mědi a jódu, může dojít k výraznému poklesu množství těchto látek vylučovaných

do mléka. Ze studií zaměřených na zjištění koncentrací jódu, molybdenu a selenu v mléce je zřejmé, že jejich hladina koreluje s obsahem selenu v krmivu (Weller et al., 2007; Suttle, 2010).

3.1.7 Vitaminy

Vitaminy jsou organické nízkomolekulární sloučeniny syntetizované téměř výhradně autotrofními organismy. Heterotrofní organismy je syntetizují jen ve velmi omezené míře (např. člověk syntetizuje niacin z tryptofanu) a získávají je jako exogenní látky především potravou a některé z nich prostřednictvím střevní (intestinální) mikroflóry. Vitaminy jsou v určitém minimálním množství nezbytné pro látkovou přeměnu a regulaci metabolismu člověka. Nejsou zdrojem energie ani stavebním materiálem, ale vesměs mají funkci jako součást katalyzátorů biochemických reakcí, i když zastávají řadu dalších funkcí. Proto bývají často nazývány exogenními esenciálními biokatalyzátory (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Obsah vitaminů v potravinách ovlivňuje kromě genetických předpokladů daného organismu mnoho dalších faktorů. U potravin živočišného původu závisí obsah vitaminů hlavně na způsobu skladování a zpracování suroviny (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Mléko obsahuje pro lidské zdraví řadu prospěšných složek jako je β -karoten, vitaminy A a D (Parodi, 1999) a vitaminy E a C (Lindmark-Månsson a Åkesson, 2000). Přítomnost vitaminů A, D a β -karotenu je významná pro konzumenta vzhledem k jejich antikancerogennímu potenciálu (Van Poppel, 1993; Parodi, 1999). Vitaminy C a E působí jako antioxidanty (Lindmark-Månsson a Åkesson, 2000), vitamin E brání vzniku a rozvoji nádorových a kardiovaskulárních onemocnění (Meydani, 2000).

3.1.7.1 Lipofilní vitaminy

Koncentrace lipofilních vitaminů v mléce závisí na obsahu mléčného tuku, takže mléko s nízkým obsahem tuku a odstředěné mléko mají nižší koncentrace vitaminu A, D a E. V některých zemích je odstředěné mléko obohacováno vitaminem A a D, aby se zlepšila jeho nutriční hodnota (Pereira, 2013).

Vitamin A

Vitamin A i jeho provitaminy se řadí mezi terpenoidy nazývané také isoprenoidy. Hlavní formou vitaminu A je retinol esterifikovaný vyššími mastnými kyselinami a volný retinol či retinal. Nejběžnějším esterem retinolu je palmitát, přítomny jsou i estery s dalšími

mastnými kyselinami. V mléce je například hlavní složkou palmitát a následují oleát a stearát. Mléko obsahuje (stejně tak jako maso) poměrně málo vitamínu A (obsah vitamínu je úměrný obsahu tuku) (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Aktivitu vitamínu A (antixeroftalmický vitamin, vitamin proti xeroftalmii, šeroslepotě) také vykazuje asi 50 dalších přirozeně se vyskytujících sloučenin ze skupiny karotenoidů, které se nazývají provitaminy A. Nejvýznamnějším provitaminem A je β -karoten. V potravinách je často doprovázen α -karotenem, γ -karotenem a xantofyly β -kryptoxanthinem, echinenonem a dalšími provitaminy A (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Vitamin D

Vitamin D je společný název pro skupinu blízce příbuzných lipofilních 9, 10-sekosteroidů, z nichž nejvýznamnější jsou vitamin D₃, neboli cholekalciferol a vitamin D₂ neboli ergokalciferol. Vitaminy D vznikají působením UV záření z prekurzorů, které se nazývají provitaminy D (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Díky možnosti biosyntézy a biologické funkci (antirachitický vitamin, jehož účinnost je spojena s metabolismem sloučenin vápníku a fosforu nezbytných pro růst, vývoj a udržení struktury kostí), bývá cholekalciferol často řazen mezi hormony, resp. prohormony. Podle současných výzkumů se vitamin D uplatňuje nejen v metabolismu vápníku a fosforu, ale také při diferenciaci buněk a má důležitou úlohu v imunitním systému (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Přestože je mléko celosvětově považováno za dobrý zdroj vitaminů, mléko samo o sobě není významným zdrojem vitamínu D, s výjimkou mléka obohaceného tímto vitaminem (Leerbeck a Søndergaard, 1980). V poslední době jsou vitamínu D přisuzovány různé ochranné účinky, a proto je mu věnována větší pozornost. Výsledky studií naznačují, že má antikarcinogenní (Mamede et al., 2011; Krishnan a Feldman, 2011), kardioprotektivní (Patel a Zhan, 2012) a imunomodulační (Chun et al., 2011) účinky.

Vitamin E

Aktivitu vitamínu E, dříve nazývaného také antisterilním vitaminem, vykazuje osm základních strukturně příbuzných derivátů chroman-6-olu (benzopyran-6-olu). Strukturním základem společným všem sloučeninám vykazujícím aktivitu vitamínu E (tzv. vitagenům E) jsou tokol a tokotrienol, které obsahují chromanový cyklus s hydrofobním nasyceným nebo nenasyčeným isoprenoidním postranním řetězcem o 16 atomech uhlíku. Čtyři formy vitamínu E s nasyceným terpenoidním postranním řetězcem odvozeným od tokolu se nazývají

tokoferoly, čtyři formy s nenasyceným postranním řetězcem odvozené od tokotrienolu se nazývají tokotrienoly. Jednotlivé tokoferoly a tokotrienoly se liší polohou a počtem methylových skupin v chromanovém cyklu a biologickou aktivitou (Velíšek a Hajšlová, 2009).

V živočišných tkáních je složení jednotlivých vitamerů E ovlivňováno hlavně složením krmiva, obsah vitamínu kolísá také podle roční doby. Obsah vitamínu E se v mléce pohybuje od 0,2 do 1,2 mg/kg (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Vitamin E, zvláště α -tokoferol, je nejvýznamnějším lipofilním antioxidantem uplatňujícím se u eukaryotických buněk jako ochrana nenasycených lipidů před poškozením volnými radikály. Spolu s β -karotenem a koenzymy Q chrání strukturu a integritu biomembrán, tzn. buněčné (cytoplasmové) membrány (plasmolemy) a hlavně membrán vnitrobuněčných organel (buněčné jádro, mitochondrie, lysozomy, endoplasmové retikulum). Uplatňuje se také při ochraně lipoproteinů přítomných v plasmě (Velíšek a Hajšlová, 2009).

3.1.7.2 Hydrofilní vitaminy

Mléko se vyznačuje svou bohatostí na vitaminy ze skupiny B. Poskytuje většině lidem 10 až 15 % z doporučené denní dávky. Tyto vitaminy jsou důležitými enzymatickými kofaktory a podílejí se na mnoha metabolických procesech, jako je produkce energie z živin, hormonální syntéza a syntéza neurotransmiterů (Pereira, 2013).

Požadavky dojnic na vitaminy skupiny B, určené téměř před půl stoletím, vycházejí z předpokladu, že přežvýkavci nevyžadují exogenní přísun těchto vitaminů, protože jejich bачorová mikroflóra si jich syntetizuje dostatek, aby se vyhnula jejich deficitu. Od té doby se dojnícím značně zvýšily průměrné výnosy mléka (Weller et al., 2007). Poslední studie ukázaly, že přísun vitamínu B u dojnic je zvyšován suplementací, i když ztráty v bachoru jsou obrovské (Santschi et al., 2005). I když existuje několik zpráv o vlivu přídatku vitaminů skupiny B do krmiva na kvalitu mléka, u suplementace biotinem bylo prokázáno, že přímo zlepšuje produkci mléka (Majee et al., 2003).

Orientační obsahy jednotlivých vitaminů skupiny B v běžných potravinách jsou zachyceny v Tabulce 5.

Mléko jako zdroj vitamínu C má téměř zanedbatelný význam. Jeho obsah v mléce se pohybuje od 5 do 20 mg/kg (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Tabulka 5: Obsah vitaminů skupiny B v běžných potravinách

Vitamin	Obsah [mg.kg ⁻¹]
thiamin	0,3 - 0,7
riboflavin	0,2 - 3,0
niacin	0,8 - 5,0
pyridoxin	0,2 - 2,0
pantothenová kyselina	0,4 - 4,0
biotin	0,01 - 0,09
folacin	0,03 - 0,28

(Velíšek a Hajšlová, 2009)

Thiamin

V mléce se thiamin vyskytuje především volný a jako difosfát, z části vázaný na bílkoviny. V kravském mléce je asi 50 - 75 % volného a 18 - 45 % fosforylovaného thiaminu (v této formě je thiamin labilnější než volný) a 5 - 17 % vázaného na bílkoviny. Vázaná forma v mléce vykazuje přibližně 90 % aktivity volného vitaminu (Velíšek a Hajšlová, 2009). Při pasteraci, sterilaci nebo sušení mléka se ztráty thiaminu pohybují v rozmezí 10 - 20 % (Navrátilová a kol., 2012).

Riboflavin

Mléko je hlavním zdrojem vitaminu B₂, který je tvořený bachorovou mikroflórou. Jedná se o žlutou až žlutozelenou fluoreskující sloučeninu, která se podílí na barvě mléčného séra. Je součástí kofaktorů celé řady enzymů, má možnost účastnit se oxidačně redukčních reakcí, zasahuje zejména do oxidace kyseliny askorbové (Navrátilová a kol., 2012).

Riboflavin, především jako FMN a FAD a méně jako volný vitamin, se nachází ve všech potravinách a jeho distribuce je podobná distribuci thiaminu. V mléce je riboflavin z části vázán na α_s - a β -kasein, asi 14 % riboflavinu je ve formě FAD a 4 % jako FMN. Odhaduje se, že téměř 40 % vitaminu získávaného potravou zajišťuje mléko a mléčné výrobky (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Stabilita riboflavinu je ovlivněna obsahem tuku. Vyšší stabilita riboflavinu je uváděna v plnotučném než odstředěném mléce. Důvodem je přítomnost antioxidantů (vit. E). Během tepelného ošetření je velmi stálý, ztráty představují pouze 5 % (Navrátilová a kol., 2012).

Pyridoxin

V čerstvém mléce je přítomna hlavně pyridoxová kyselina (38 %), dále pyridoxal-fosfát (32 %), pyridoxal (24 %), pyridoxamin (4 %) a pyridoxamin-fosfát (2 %) (Velíšek a Hajšlová, 2009). Metabolicky aktivní formou je pyridoxal-5'-fosfát, který je kofaktorem dekarboxylas, aminotransferas a jiných enzymů. Je také významným růstovým faktorem (Navrátilová a kol., 2012). Odhaduje se, že asi 12 % vitamínu zajišťuje mléko a mléčné výrobky (Velíšek a Hajšlová, 2009). Převážná část je přítomna v mléce v podobě pyridoxalu (70 - 95 %) (Navrátilová a kol., 2012). Obsah pyridoxinu v mléce a sýrech je relativně malý (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Kobalaminy

Korrinoidy s aktivitou vitamínu B₁₂ mají nejsložitější strukturu ze všech vitamínů. Formy vitamínu B₁₂ obsahující 5, 6-dimethylbenzimidazol se nazývají kobalaminy (Velíšek a Hajšlová, 2009). Jako koenzymy zasahují do mnoha chemických reakcí (tvorba krvinek, syntéza nukleových kyselin, sacharidů a tuků, metabolismus proteinů, detoxikační činnost v játrech) (Navrátilová a kol., 2012). V mléce jsou hlavními vitamíny adenosylkobalamin a methylkobalamin. Mléko a mléčné výrobky pokrývají spotřebu asi z 20 % (Velíšek a Hajšlová, 2009).

3.1.8 Enzymy

Stejně jako všechny ostatní potraviny rostlinného nebo živočišného původu obsahuje mléko několik endogenních (původních) enzymů, které se při sekreci mléka stávají jeho složkami. Hlavní složky mléka (laktóza, lipidy a proteiny) mohou být modifikovány pomocí exogenních enzymů, které se přidávají za účelem vyvolání specifických změn. Exogenní enzymy mohou být také použity k analýze některých složek v mléce. Kromě toho obsahuje mléko a většina mléčných výrobků životaschopné mikroorganismy, které vylučují extracelulární enzymy nebo uvolňují intracelulární enzymy poté, co buňky odumřely nebo prodělaly lýzi. Některé z těchto enzymů mohou způsobit nežádoucí změny, např. hydrolytické žluknutí mléka a mléčných výrobků, hořkost anebo želatinace UHT mléka, sladovou příchut' nebo hořkost tekutého mléka, případně mohou způsobit žádoucí příchutě např. u zrajících sýrů (Fox a McSweeney, 1998).

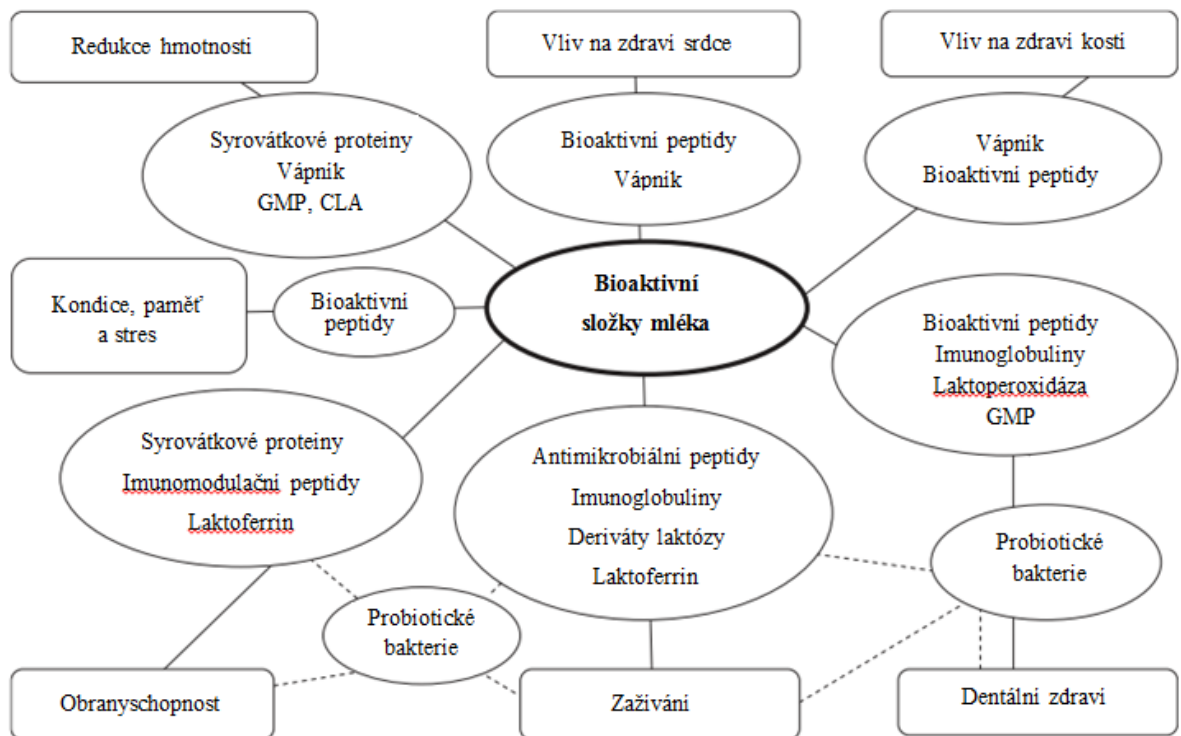
V bovinním mléce byla popsána aktivita více než 60ti nativních enzymů. Nativní enzymy pochází z následujících zdrojů: z krve, ze somatických buněk, z cytoplasmy sekrečních buněk mléčné žlázy (Navrátilová a kol., 2012).

3.1.9 Bioaktivní složky mléka

Kravné mléko a mlezivo jsou považovány za nejdůležitější zdroje přírodních bioaktivních složek (Korhonen, 2009). Na Obrázku 1 jsou uvedeny bioaktivní složky mléka a znázorněny vztahy mezi nimi a jejich účinky na zdraví člověka.

Bioaktivní látky zahrnují specifické bílkoviny, peptidy, lipidy a sacharidy. Mezi hlavní bioaktivní bílkoviny zjištěné v mlezivu a zralém mléce patří kaseiny (α_{s1} , α_{s2} , β , a κ), β -laktoglobulin, α -laktoglobulin, imunoglobuliny, glykomakropeptid, laktoperoxidáza, laktoferin, lysozym, sérový albumin a růstové faktory. Dalšími majoritními bioaktivními látkami obsaženými v mléce jsou oligosacharidy, glykolipidy, prolaktin a parathormon-P. Mezi minoritní bioaktivní složky patří hormony, nukleotidy, vitaminy a minerální látky (Park, 2009).

Obrázek 1: Bioaktivní složky mléka a jejich potenciální využití pro zlepšení lidského zdraví



(Korhonen, 2009)

3.2 Faktory ovlivňující složení mléka

Čerstvé mléko se liší složením, strukturou a vlastnostmi. Tukové kuličky se liší velikostí a do jisté míry kompozicí a to samé platí pro kaseinové micely (Walstra et al., 2006).

Hlavními faktory odpovědnými za přirozené rozdíly v mléce jsou následující (Walstra et al., 2006):

- Genetické faktory: plemeno a individualita.
- Fáze laktace: Může mít značný vliv. Zejména mléko získané během druhého nebo třetího dne po porodu má velmi odlišné složení, nazývá se kolostrum nebo mlezivo.
- Onemocnění dojnic (zdravotní stav): Obzvláště závažné mastitidy (záněty vemene), mohou mít poměrně velký vliv. Mléko má zvýšený obsah somatických buněk.
- Krmivo (výživa): Množství a kvalita daného krmiva silně ovlivňují dojivost. Nicméně vliv diety dojnic na složení mléka je poměrně malý, s výjimkou obsahu mléčného tuku a jeho složení.
- Sezónní vlivy (Křížová a Svobodová, 2010).
- Stáří zvířete (Křížová a Svobodová, 2010).

V kvalitativním smyslu je kravské mléko svým složením pozoruhodně konstantní. Nicméně jednotlivá dojení ukazují významné rozdíly ve složení. Odchyly jsou malé u mléka zpracovávaného v mlékárně, protože to se skládá ze směsi mlék od velkého počtu dojnic z mnoha farem (Walstra et al., 2006).

Složení mléka se může lišit i z jiných příčin. Tak například jakmile mléko opustí vemeno, je kontaminováno, a to například kyslíkem a bakteriemi (mléko ve vemeni zdravé dojnice bývá sterilní). Může dojít i k znečištění jinými látkami. Teplota mléka zpravidla klesá. Tyto faktory mohou vést ke změnám vlastností mléka. Daleko větší změny nastanou během dlouhého skladování a zpracování mléka (Walstra et al., 2006).

3.2.1 Výživa

3.2.1.1 Faktory výživy ovlivňující obsah proteinu v mléce

Obsah bílkovin v mléce je determinován geneticky a je také významně ovlivňován výživou a úrovní bacherové fermentace. Ovlivnění obsahu bílkovin v mléce je složitější než u tuku. Hlavní proteiny mléka jsou syntetizovány v sekrečních buňkách mléčné žlázy z volných aminokyselin, které do mléčné žlázy přicházejí krví (Dvořáková a kol., 2006).

Obsah proteinu v mléce je ovlivněn obsahem proteinu v krmné dávce, optimalizací ruminální fermentace (zvýšení množství aminokyselin mikrobiálního původu), zahrnutím RUP (protein nedegradovatelný v bacheru) do krmné dávky, zahrnutím aminokyselin v ruminálně chráněné formě do krmné dávky, maximálním celkovým energetickým příjmem na den, doplňky tuku, píci a pastvou (Křížová a Svobodová, 2010).

Pokles poměru objemné píce ke koncentrátu nebo zvýšení energie krmné dávky má obvykle pozitivní vliv na kvalitu produkovaných bílkovin a procento mléčných bílkovin (Stádník a kol., 2000).

Aby producenti mléka maximalizovali obsah mléčné bílkoviny, musí si být jisti, že dojnice přijímá dostatek bílkovin. To znamená, že sušina je stejně tak dostačující, jako úroveň proteinů v dávce. Studie ukázaly, že hladina mléčných bílkovin stoupá o 0,02 jednotky na každé procento vzestupu hrubých bílkovin v krmné dávce mezi 9 a 17 %. Nemusí bezpodmínečně platit, že více je lépe, protože nadbytek bílkovin může způsobit zdravotní a reprodukční problémy. Toto platí i pro celkový obsah bílkovin, a proto je důležité vybrat dobrý zdroj odbouratelných a neodbouratelných bílkovin. Při jejich správném poměru dojde k synchronizaci proteinů a energie uvolněné v bacheru a zajištění toho, že kvalita by-pass bílkovin obsažených v dávce je dobrá (Stádník a kol., 2000).

Princip synchronizace bílkovin a energie je jednoduchý. Protože více než 60 % aminokyselin požadovaných pro syntézu mléčných bílkovin pochází z trávení a absorpce mikrobiálního proteinu v tenkém střevě, je důležitým úkolem pro zvýšení mléčných bílkovin maximální produkce mikrobiálních proteinů (Stádník a kol., 2000).

Jiným důvodem maximální produkce těchto bílkovin je to, že mikrobiální protein poskytuje dojnici nejkvalitnější aminokyselinový profil. Nedochozí k nedostatku methioninu ani lysinu, na rozdíl od mnoha jiných zdrojů, používaných pro by-pass protein. Aby probíhaly růst a syntéza bílkovin vhodným způsobem a v dostatečném množství, musí mít

mikroorganismy přístup ke zdrojům energie a dusíku současně. Nezbytný dusík pochází z odbourávání dostupných bílkovin v bachoru, zatímco energie pochází z nevláknitých sacharidů a neutrální detergentní vlákniny, která je stravitelná. Významným faktorem, kterým se ujistíme, že je dusík a energie dostupný současně, je to, že zdroje jsou odbourávány v bachoru ve stejné míře (Stádník a kol., 2000).

Maximalizování příjmu vyrovnané krmné dávky je další možnost, o které lze uvažovat, pokud se pokoušíme o maximální produkci mikrobiálního proteinu (Stádník a kol., 2000).

Krmnými zásahy můžeme ovlivnit obsah a množství proteinu v mléce pouze do vyčerpání genetické kapacity zvířete. Syntéza mléčného proteinu může být limitována dostupností limitujících AK do mléčné žlázy dojnic. Je-li základní KD deficitní na protein, může podání RUP nebo RP proteinu (rumen - protected; chráněný protein/aminokyselina) zvýšit obsah proteinu v mléce (Křížová a Svobodová, 2010).

3.2.1.2 Faktory výživy ovlivňující obsah a složení mléčného tuku

Výživa dojnic se vedle dalších faktorů významně podílí na změnách ve složení mléka, na jeho biologické hodnotě, sensorických a technologických vlastnostech. Proto nejen obsah jednotlivých živin v krmné dávce, ale i druh podávaného krmiva, jeho kvalita a technika krmení, ovlivňují složení a kvalitu mléka. Podíl jednotlivých složek mléka není konstantní, k největším změnám dochází v obsahu mléčného tuku (Ilek, 1998).

Obsah a složení mléčného tuku ovlivňuje dle Křížové a Svobodové (2010) skladba mastných kyselin zkrmovaného tukového doplňku, množství doplňku tuku podaného v krmné dávce (KD), frekvence krmení, fyzikální forma doplňku, popř. druh technologické úpravy olejnin a tuků, poměr objemné složky krmné dávky a koncentrátu a interakce mezi stádiem laktace a doplňkem tuku.

Mléčný tuk je snadněji ovlivnitelný změnami v KD dojnic než ostatní složky mléka (protein). Krmná dávka může ovlivnit jak množství, tak i skladbu mléčného tuku, a tak měnit poměr proteinu a tuku a zároveň nám otevírá možnosti produkovat mléko s vyšším obsahem žádoucích složek jako je např. CLA (Křížová a Svobodová, 2010).

Obsah sacharidů v KD, zastoupení vlákniny a škrobu, je tím, co ovlivňuje tučnost mléka (Hučko a kol., 2005). Dieta s vysokým obsahem škrobu může způsobit rychlou fermentaci v bachoru a vzniklé nízké *pH* může hubit bakterie trávící vlákninu. To má za následek snížený příjem sušiny a snížení obsahu mléčného tuku (Kudrna a Homolka, 2007). Škrob je součástí

koncentrovaných krmiv. Vlákna je součástí objemných krmiv – pícnin. Na jejich vzájemném poměru záleží nejen mléčná produkce, ale i obsah tuku. U vlákniny nutno hodnotit nejen její množství, ale i její kvalitu, obsah efektivní vlákniny, degradabilitu vlákniny, velikost částic podávané vlákniny. Obsah pektinů, který je také součástí vlákniny a snadno se v batoru fermentuje, nefermentuje se na kyselinu mléčnou, může být rovnocennou náhradou obilního škrobu a působí lépe dieteticky (Hučko a kol., 2005).

Ukazatelem možného obsahu tuku v mléce je obsah vlákniny v krmné dávce. Diety s optimální koncentrací strukturální vlákniny a dobrými podmínkami pro trávení celulózy jsou zárukou dostatečné tvorby kyseliny octové a tím i dobré syntézy mléčného tuku. Hrubá vlákna ve strukturálním stavu by měla tvořit 15 - 21 % sušiny krmné dávky, přičemž 50 % částic by mělo mít velikost minimálně 8 mm. Obsah mléčného tuku začíná klesat při podílu píce v krmné dávce menším než 40 %. Píce je poměrně nepřesný termín. Přesnější termín - obsah stravitelné vlákniny v dietě - přesněji souvisí s jejím potenciálem pro produkci mléčného tuku. Jsou dvě příčiny, kdy se příjem píce může jevit adekvátní, ale přitom je nízkotučné mléko. První je, jestliže krávy jsou paseny na jarní trávě s minimem vlákniny a druhá nastává, když je délka píce menší než přibližně 0,6 – 0,7 cm. TMR (Total Mixed Ratio; kompletní směsná krmná dávka) je efektivní způsob jak se vyhnout přílišné kyselosti v batoru a nízkému obsahu mléčného tuku (Kudrna a Homolka, 2007).

Správná délka částic má velký vliv na stravitelnost živin a dobrou funkci batoru. Při zkrmování dávky s kratšími částicemi dojde sice ke zvýšení příjmu krmiva, ale současně se sníží jeho stravitelnost a zkrátí se délka jeho pobytu v batoru. Vysoký podíl jemně mletých krmiv a kašovitá krmiva negativně ovlivňují tvorbu kyseliny octové, a tím i tvorbu mléčného tuku. Obsah tuku v mléce ovlivňuje také přechod ze zimní krmné dávky na bázi konzervovaných krmiv na letní, založenou na zkrmování zelené píce. Zvláštním problémem je v tomto směru pastva zejména na mladém travním porostu, který má nízký obsah hrubé vlákniny a vysoký obsah rozpustných sacharidů. Z těchto důvodů se vytváří menší množství kyseliny octové a následně je omezena syntéza mléčného tuku (Kudrna a Homolka, 2007).

Obsah mléčného tuku určuje poměr lipogenních (kyselina octová, kyselina máselná, mastné kyseliny s dlouhým řetězcem) a glukogenních (kyselina propionová, glukóza a některé aminokyseliny) živin, ale zejména poměr acetátu ku propionátu (Philips, 2001). Kyselina octová se 50 až 60 % podílí na celkové produkci těkavých mastných kyselin (VFA). Čím je v dávce více objemné píce, tím se zastoupení kyseliny octové zvětšuje. Dojnice využívá absorbovanou kyselinu octovou k syntéze mléčného nebo tělesného tuku – pro což je

nazývána lipogenním substrátem – a dále na pokrytí tvorby tělesné energie a tepla. Při nízkém zastoupení objemné píče v krmné dávce mikrobiální syntéza kyseliny octové klesá, což má za následek snížení obsahu tuku v mléce. Ke stejným výsledkům vede zkrmování vysokého podílu jaderných koncentrátů nebo jejich rozšrotování najemno (Kudrna a Homolka, 2007).

Jak působí přídavky tuků v KD na obsah tuku v mléce. Používá se tři forem tukových přídavků: přirozené tuky (sloučeniny mastných kyselin a glycerolu), soli mastných kyselin a inertní tuky (technologicky upravené tuky). Přírodní tuky působí převážně negativně. Nasycené mastné kyseliny mohou ovlivnit pozitivně jak užitkovost, tak i obsah tuku. Nenasycené mastné kyseliny mohou zvyšovat mléčnou užitkovost, ale snižují obsah tuku v mléce. Soli mastných kyselin zvyšují obsah tuku i užitkovost (Hučko a kol., 2005).

Vysoký podíl rostlinných olejů v krmné dávce má rovněž za následek pokles syntézy kyseliny octové a tím i snížení obsahu tuku v mléce. Kyselina máselná je hlavním zdrojem energie pro bachorovou stěnu a na celkovém množství VFA se podílí 12 až 18 %. Během absorpce je kyselina máselná v bachorovém epitelu převedena na kyselinu β - hydroxy - máselnou, která rovněž patří mezi lipogenní faktory a je využívána k syntéze tělního a mléčného tuku (Kudrna a Homolka, 2007). Naopak kyselina propionová, která se podílí na celkovém množství VFA z 18 – 20 %, je v játrech dojnice převáděna na glukózu a je substrátem glukogenním (Dřevjaný a kol., 2004). Pro syntézu mléčného tuku jsou využívány i mastné kyseliny obsažené v krmivech (jaderná krmiva, siláže apod.) (Kudrna a Homolka, 2007).

Zvýšení obsahu dusíkatých látek v koncentrovaném krmivu ze 12 na 24 % znamenalo pokles tučnosti mléka ze 4,12 na 3,89 %. Přitom se ovšem zvýšila dojivost, takže celková produkce tuku stoupla (Kudrna a Homolka, 2007).

3.2.1.3 Faktory výživy ovlivňující obsah laktózy v mléce

O obsahu laktózy v mléce je známo, že je velmi stabilní. Její zastoupení je velmi těžce ovlivnitelné. Množství syntetizované laktózy souvisí s celkovou produkcí mléka. Čím více laktózy je dojnice schopna syntetizovat, tím se v jejím organismu vytváří vyšší předpoklad pro produkci mléka. Tedy dostatečná úroveň energie v KD simuluje tvorbu glukózy potažmo laktózy a tím roste užitkovost (Hučko a kol., 2005). Obsah laktózy klesá až při restriktivní energetické výživě krav, kdy současně klesá i dojivost (Gajdůšek, 2003).

3.2.1.4 Vliv přídavku huminových látek do krmné dávky

3.2.1.4.1 *Charakteristika huminových látek*

Půdní organická hmota se skládá z humifikovaných a nehumifikovaných látek. Nehumifikované látky jsou všechny složky, které mohou být umístěny do jedné ze samostatných kategorií sloučenin, jako jsou cukry, aminokyseliny, tuky atd. Humifikované látky (huminové či humusové látky) jsou jiné, neidentifikovatelné složky. Huminové látky jsou považovány za řadu látek o relativně vysoké molekulové hmotnosti a hnědočerném zbarvení, které vznikají sekundárními syntetickými reakcemi. Termín huminové látky se používá jako obecný název pro popis barvy hmoty nebo její frakce, získaný na základě charakteristik rozpustnosti (Metzger, 2009).

Frakce tzv. huminových kyselin není rozpustná ve vodě za kyselých podmínek ($pH < 2$), ale je rozpustná při vyšších hodnotách pH . Huminové kyseliny mohou být extrahované z půdy různými činidly. Jsou hlavní extrahovatelnou složkou půdních huminových látek. Mají tmavě hnědou až černou barvu (Metzger, 2009).

Frakce s názvem fulvokyseliny je rozpustná ve vodě při všech hodnotách pH . Zůstávají v roztoku po vyloučení huminových kyselin okyselením. Fulvokyseliny jsou světle žluté až žlutohnědé barvy. Frakce s názvem huminy je zcela nerozpustná ve vodě a to při jakékoli hodnotě pH . Huminy mají černou barvu (Metzger, 2009).

Mnoho odborníků věří, že všechny tmavě zbarvené huminové látky jsou součástí systému úzce příbuzných polymerů o vysoké molekulové hmotnosti, ale ne zcela identických. Podle tohoto konceptu lze rozdíly mezi huminovými kyselinami a fulvokyselinami vysvětlit odlišnými molekulovými hmotnostmi, jiným počtem funkčních skupin (karboxylové, fenolické) a rozsahem polymerace (Metzger, 2009).

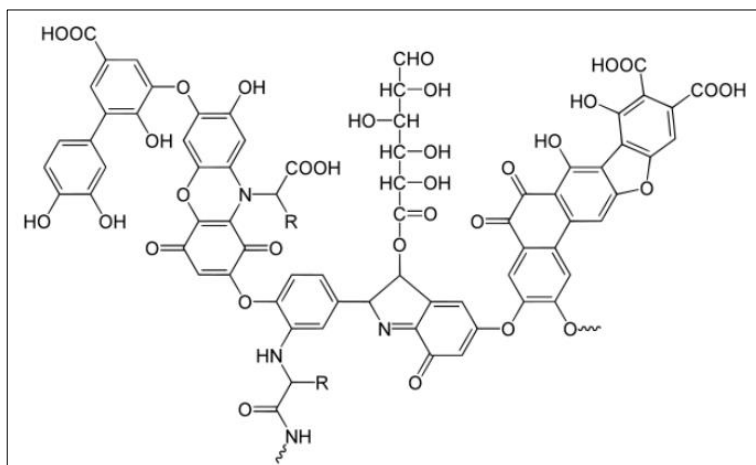
Huminové kyseliny jsou důležitými prekurzory nebo součástmi kerogenu, bitumenu, ropy a uhlí (Susic, 2009).

3.2.1.4.2 *Chemická struktura*

Je zřejmé, že huminové látky se skládají z heterogenní směsi sloučenin, které nemají jednotný strukturní vzorec. Huminové kyseliny jsou považovány za složité aromatické makromolekuly, jejichž součástí jsou aminokyseliny, aminocukry, peptidy a alifatické sloučeniny, které jsou začleněny do vazeb mezi aromatickými skupinami. Hypotetická

struktura huminové kyseliny obsahuje volné a vázané fenolické skupiny, chinonové struktury, dusík a kyslík jako spojovací jednotky a COOH skupiny umístěné různě na aromatických kruzích (Metzger, 2009).

Obrázek 2: Předpokládaná struktura huminové kyseliny



(Stevenson, 1994)

3.2.1.4.3 Výskyt

Vyskytují se v půdě, sedimentech, rašelině, uhlí, jezerních vodách, mořské vodě, rostlinách a korálových kostrách. Zvyšují úrodnost půdy, urychlují fotodegradaci pesticidů a snižují toxicitu těžkých kovů. Snižují efektivitu výroby oxidu hlinitého a produkují karcinogeny při úpravě surové vody na vodu pitnou (Susic, 2009).

Novými zdroji huminových kyselin jsou houby, řasy, mořské trávy, opékaný chléb a hnědé slupky banánů. Všechny vzorky huminových kyselin obsahovaly malá množství alifatických dikarboxylových kyselin, ketokyselin a mastných kyselin s dlouhým řetězcem, zatímco vzorky z půdy, rostlin a dřevokazných hub také obsahovaly z ligninu odvozenou kyselinu vanilovou a syringovou (Susic, 2009)

Rozsáhlé studie ukázaly, že není moc huminových látek v půdách ve volném stavu, ale že se jich většina váže na koloidní jíly. Způsoby, jakými se huminové látky spojují s minerální frakcí půdy, mohou být různé (Metzger, 2009).

3.2.1.4.4 Shrnutí současných poznatků

K významným objevům týkajících se huminových kyselin patří (Susic, 2009):

- Mikrobiální přeměnou organické hmoty rostlin se nevytvářejí huminové kyseliny. Procesy vzniku huminových kyselin jsou zcela chemické.
- Huminové kyseliny jsou zcela alifatickými kopolymery několika hlavních monomerních jednotek pocházejících z polysacharidů, které obsahují xylózu, arabinózu, ribózu a fruktózu. Protože existuje mnoho monomerních jednotek v molekule, variabilita ve struktuře je obrovská. Nicméně proces polymerizace se skládá z malého počtu dobře známých reakcí.
- Alifatické struktury se snadno mění na aromatické struktury, které však nejsou příbuzné sloučeninám odvozeným od ligninu, jako je například vanilová a syringová kyselina.
- Poutají se téměř na jakoukoli látku, včetně velkých bílkovin, minerálů a půdních částic.
- Snadno se degradují známými chemickými cestami (např. dekarboxylací) za vzniku kerogenu, bitumenu, asfaltu, břidlicového oleje, ropy a černouhelného dehtu. Přesná konverze pravděpodobně závisí na čase a na vnějších podmínkách v přirozeném prostředí.
- Přirozené přeměny mohou být snadno napodobeny v laboratoři. Proto mohou být nové sloučeniny neznámé povahy, avšak příbuzné složkám kerogenu, bitumenu, asfaltu, břidlicového oleje a ropy, syntetizovány v laboratoři.

3.2.1.4.5 Účinky huminových látek

Dle Agazzi et al. (2007) byly již v roce 1924 zaznamenány významné antiseptické vlastnosti huminových látek a později rovněž příznivé účinky na překyselení a jiné žaludeční poruchy u lidí. Kromě toho bylo zjištěno, že mají antimikrobiální a protizánětlivé vlastnosti (Van Rensburg et al., 2001).

Dle Agazzi et al. (2007) byly humáty zkoumány také v některých chovech zvířat. Využívaly se přitom sloučeniny na bázi huminových látek s cílem zlepšit přirozenou odolnost skotu, huminovými kyselinami se léčily průjmové a jiné zažívací poruchy u koček a psů. Podle Kocabağlı et al. (2002) zlepšují humáty přidávané do krmiva nebo vody růstové schopnosti drůbeže. Avšak Rath et al. (2006) zjistil, že huminové kyseliny působí na růst brojlerových kuřat negativně. Nekonzistentní výsledky pozorované v různých studiích lze přičíst především složení různých přípravků na bázi huminových látek, stejně jako rozdílnosti zvířecích druhů využívaných v různých studiích a rovněž jejich stáří (Wang et al., 2008).

Huminové látky mohou na mukózním epitelu gastrointestinálního traktu vytvářet ochranný film proti infekcím a toxinům, čímž by mělo být zajištěno lepší využití živin z krmiv pro zvířata (Islam et al., 2005). Huck et al. (1991) uvádí, že huminové látky mohou ovlivnit zejména metabolismus proteinů a sacharidů u mikróbů. Výsledkem je přímá devastace bakteriálních buněk nebo virových částic. Huminové látky, zahrnující fulvinové a huminové kyseliny, přímo inhibují růst bakterií a virů, čímž se snižují hladiny mykotoxinů. Zlepšují činnost střev, absorpci živin a nutriční stav u zvířat (Wang et al., 2008).

Huminové látky mohou příznivě působit na imunitní systém zvířat. Akční mechanismus v huminových látkách je spojen s jejich schopností vytvářet v těle komplexní sacharidy, které fungují jako modulátory mezibuněčných interakcí. Udržují činnost imunitního systému v rovnováze a zabraňují případným neadekvátním odpovědím (Wang et al., 2008).

3.2.1.4.6 Sekundární metabolity rostlin - využití pro zlepšení kvality potravin živočišného původu

Zvláštní postavení zaujímá huminová a fulvinová kyselina (kyseliny). Tyto ryze přírodní látky kyselé povahy vznikají při humifikaci biologického materiálu a připravují se v současnosti biotechnologicky. Fungují jako přírodní elektrolytové složky, které mohou vytvářet rovnováhu a energetický převod v biologických systémech a zlepšovat tak biologickou dostupnost řady kationtů pro buněčný životní cyklus. Podporují vytvoření elektrochemické rovnováhy systémem donor - akceptor, působí jako silné přírodní zametače volných radikálů a antioxidanty, mají komplexotvorné a rozpouštěcí schopnosti pro řadu makroelementů a stopových prvků, zvyšují nutriční dostupnost řady elektrolytů a jejich využitelnost, katalyzují enzymové reakce, stimulují metabolismus, působí jako detoxikans některých polutantů, podílí se údajně na zvýšení rozpustnosti oxidu křemičitého, zlepšují růst tkání, zvyšují permeabilitu buněčných membrán, metabolismus proteinů, aj. Směs obou kyselin (25 % v přípravku) působí jako růstově - stimulační faktor ve výživě hospodářských zvířat (Opletal a Šimerda, 2005).

Humózní substance (různě koncentrované huminové kyseliny) se používají běžně především v Číně a Koreji. Západní a střední Evropa je k těmto prostředkům poněkud rozpačitá, i když jsou zde tzv. čisté huminové kyseliny poměrně preferovány a jsou s nimi prováděny pokusy. Důvodů je několik: jedná se o velmi nestandardní heterogenní materiál, jehož kvalitu je nemožné reprodukovat, průmyslové komposty, z nichž jsou vyráběny, mohou představovat určité nebezpečí plynoucí z přítomnosti zbytků tkání teplokrevných živočichů

a je zde také riziko zvýšeného obsahu některých prvků (např. zinku). Huminové kyseliny velmi ochotně kationty váží, obtížněji je uvolňují a to je důvodem pro stálou kontrolu a zvýšené finanční nároky. V asijské oblasti jsou však tyto huminové a fulvinové formy kyselin ve směsi s různými komponentami doporučovány pro zlepšení kvality masa (Opletal a Šimerda, 2009).

Islam et al. (2005) ve svém článku uvedli, že huminové kyseliny zvyšují produkci mléka, zvyšují v něm procento tuku a zlepšují využití krmiva.

V současné době však nejsou dostupné vědecké publikace, které by se problematikou přidavku huminových látek do krmiv dojníc zabývaly. Informací o vlivu huminových látek na látkové složení živočišných produktů je tedy prozatím velmi málo a je potřeba dalších výzkumů.

3.2.2 Vliv genotypu na složení mléka

3.2.2.1 Vliv plemene na množství a složení dusíkatých látek mléka

Dle Křížové a Svobodové (2010) je mléčný protein málo ovlivnitelný a ve velké míře je dán geneticky.

Dusíkaté látky mléka se dělí na bílkovinné (tvoří 95 %) a nebílkovinné. Podle rozpustnosti při pH 4,6 se dělí na kaseiny, rozpustné neboli syrovátkové bílkoviny a bílkoviny nerozpustné. Z celkového proteinu v mléce tvoří kasein 76 – 86 % a syrovátkové bílkoviny 14 - 24 %. Kasein je tvořen dílčími podíly α_{s1} -kaseinu, α_{s2} -kaseinu, β -kaseinu a κ -kaseinu (Dvořáková a kol., 2006).

Existuje několik genetických variant těchto kaseinů (A-H). Nejrozšířenější jsou A a B. Jednotlivé varianty ovlivňují produkci, složení a zpracovatelské vlastnosti mléka, včetně výtěžnosti sýra. Za pozitivní je považována alela B se zvýšeným výskytem u plemen montbeliarde, švýcarské hnědé (6 %) a jersey (85 %). Jako negativní jsou uváděny alely E a C, které mají nejnižší zastoupení. Negativně je hodnocena také nejčastěji zastoupená alela A. Alely mění především schopnost mléka srážet se, rychlost a kvalitu sýřeniny. Dojnice genotypu BB produkují kvalitnější mléko (složení bílkovin) než s jiným genotypem (Dvořáková a kol., 2006).

β -kasein (A2), κ -kasein (B) a β -laktoglobulin společně zlepšují obsah proteinů a tuků. BB κ -kasein zase zvyšuje podíl bílkovin v mléce (Dvořáková a kol., 2006).

3.2.2.2 Vliv plemene na množství a složení mléčného tuku

Nejvyšší obsahy tuku v mléce vykazují plemena jersey a guernsey, střední obsahy plemena s kombinovanou užitkovostí a nejnižší pak mléčná plemena skotu. Vliv plemenné příslušnosti se projevuje výrazně nejen na množství produkovaného mléčného tuku, ale i na velikosti tukových kuliček (Gajdůšek, 2003).

3.2.2.3 Vliv plemene na obsah laktózy v mléce

U některých plemen skotu je sice zjišťován vyšší obsah laktózy, ovšem rozdíly nepřesahují uvedený interval kolísání obsahu laktózy v mléce (Gajdůšek, 2003).

3.2.3 Zdravotní stav

3.2.3.1 Vliv zdravotního stavu na množství a složení dusíkatých látek mléka

Zdravotní stav dojnic ovlivňuje zastoupení bílkovinných frakcí v mléce. Již lehká onemocnění mají negativní vliv na produkci, ale i na složení a stejně tak i nervový stav dojnic. Hlubší změny vyvolávají metabolické poruchy, horečnatá onemocnění a zejména záněty mléčné žlázy. Většinou dochází k poklesu obsahu bílkovin, avšak tento pokles nemusí být vždy výrazný a při snížení užitkovosti může být pozorováno i zvýšení obsahu bílkovin. Dochází však vždy ke snížení obsahu kaseinu a vzestupu sérových bílkovin, především imunoglobulinů, ale často také i nebílkovinných dusíkatých látek. Kromě toho dochází i ke změnám ve struktuře kaseinových micel, změnám v poměru vápníku a fosforu a jejich forem a tím ke zhoršení syřitelnosti mléka a jeho technologické využitelnosti (Gajdůšek, 2003).

Změny v obsahu celkových bílkovin jsou nejednoznačné. V některých případech nebyl zaznamenán rozdíl v jejich obsahu, v jiných dokonce mírný nárůst. V důsledku zánětlivého procesu mléčné žlázy se snižuje obsah nutričně nejvýznamnější bílkoviny mléka, kaseinu. V mléce je kasein obsažen z 95 % v micelární formě. Při mastitidách se obsah micelárního kaseinu snižuje až na 46 %. Snižuje se i obsah dalších bílkovin secernovaných v mléčné žláze - α -laktalbuminu a β -laktoglobulinu. Naopak obsah sérových proteinů výrazně vzrůstá, bovinní serumalbumin z 0,24 na 0,65 mg.ml⁻¹, celkové imunoglobuliny z 0,3 na 18,3 mg.ml⁻¹ (Ryšánek, 2007).

3.2.3.2 Vliv zdravotního stavu na množství a složení mléčného tuku

Tvorba a vylučování mléka souvisí s fyziologickými funkcemi organismu dojnice, tj. se zdravotním stavem dojnice. Jakékoliv narušení fyziologických rovnovah se obvykle projeví ve změnách složení a vlastnosti mléka mnohem dříve než klinicky. Na složení a množství mléčného tuku mají největší vliv metabolické poruchy trávení v předžaludcích, zatímco u zánětu mléčné žlázy nemusí dojít k výrazným změnám v množství tuku. Obecně se však mění zastoupení mastných kyselin a v důsledku zvýšené aktivity lipázy se zhoršuje jakost smetany a z ní vyrobeného másla (Gajdůšek, 2003).

Snížení obsahu tuku v mléce v důsledku zánětlivého procesu mléčné žlázy není jednoznačné. Někteří autoři zaznamenali malé snížení (např. z 3,45 % na 3,2 %), jiní rozdíl nezaznamenali. Podstatně závažnější jsou kvalitativní změny. Byl zjištěn vysoce signifikantní nárůst obsahu volných mastných kyselin, až na dvojnásobek. Zvyšuje se jodové číslo. Je to důsledek lipolýzy, neboť aktivita lipáz při zánětlivém procesu vzrůstá. Zvyšuje se podíl nízkomolekulárních mastných kyselin (C8- C14) a volných mastných kyselin C18 (kyseliny olejové, linolové a linolenové). V triacylglyceridech vzrůstá obsah esterifikovaných mastných kyselin s krátkým řetězcem (C4 - C12). Koncentrace esterifikovaných mastných kyselin s dlouhým řetězcem (C16 - C18) naopak klesá. Při zánětlivých procesech provázených zvýšením počtu somatických buněk nad $2,5 \cdot 10^6 \text{ ml}^{-1}$ byl zaznamenán signifikantní nárůst neesterifikovaných mastných kyselin. Konečně byly v mastitidním mléce zjištěny i nižší hladiny fosfolipidů. Fosfolipidy jsou lokalizovány převážně v membráně tukových kuliček. Úbytek membránových fosfolipidů usnadňuje lipázám jejich atakování, což v konečném důsledku potencuje lipolýzu (Ryšánek, 2007).

3.2.3.3 Vliv zdravotního stavu na obsah laktózy v mléce

Obsah laktózy kolísá se zdravotním stavem mléčné žlázy krav. Obsahy laktózy výrazně nižší než 4,55 % resp. 4,60 % souvisí především s mastitidním onemocněním (Gajdůšek, 2003). Při onemocnění mléčné žlázy dochází k významnému poklesu obsahu laktózy. Aby byl udržen osmotický tlak, narůstá obsah chloridů a sodíku. Změna poměru laktózy a chloridů v mléce, vyjádřená jako tzv. chlorcukerné číslo, se používá jako indikátor zdravotního stavu mléčné žlázy. Významné změny v obsahu laktózy nastávají také při některých metabolických poruchách (Navrátilová a kol., 2012).

3.2.4 Fáze laktace

Kromě mezidruhových odlišností mléko vykazuje změny ve složení a vlastnostech v průběhu laktace. Podle těchto vývojových rozdílů dělíme mléko na nezralé a zralé. Nezralé mléko (kolostrum, mlezivo) je hustá lepkavá tekutina s mírně slanou chutí, která má vysoký obsah sušiny, z níž největší podíl tvoří především bílkoviny. Složení je velmi kolísavé a zastoupení jednotlivých složek se po porodu rychle mění (Gajdůšek, 2003).

3.2.4.1 Vliv stádia laktace na množství a složení dusíkatých látek mléka

V kolostru převládají bílkoviny mléčného séra, zejména imunoglobuliny. K přechodu na normální mléko dochází velmi rychle, již za 5 až 6 dnů odpovídá zastoupení většiny majoritních bílkovinných frakcí normálu. Některé z bílkovinných frakcí kolostra však mohou být v mléce zjištěny ještě po 10 až 20 dnech od otelení. Před zaprahnutím dochází opět k poklesu obsahu kaseinu a vzestupu sérových bílkovin (Gajdůšek, 2003).

3.2.4.2 Vliv stádia laktace na množství a složení mléčného tuku

Obsah tuku fyziologicky vzrůstá ke konci laktace. Proměnlivý, vlivem sekrece a spouštění mléka, je i během dojení, kdy od začátku do konce dojení fyziologicky vzrůstá z cca 2 % až na 10 % (Gajdůšek, 2003).

Mléčný tuk v kolostru se výrazně liší jak chemickým složením (méně těkavých mastných kyselin a vyšší podíl nenasycených mastných kyselin), tak i tvarem a velikostí tukových kuliček (typické morušovité útvary) od zralého mléka, kdy jsou pozorovány v mléce největší tukové kuličky a mléko také obsahuje zvýšený podíl těkavých mastných kyselin. V mléce starodojných krav se průměrná velikost tukových kuliček výrazně snižuje a dochází také ke změnám v jeho složení, zejména ke snižování těkavých mastných kyselin (Gajdůšek, 2003).

3.2.4.3 Vliv stádia laktace na obsah laktózy v mléce

Obsah laktózy kolísá především se stádiem laktace a pořadím laktace. V kolostru, vylučovaném u všech savců po porodu, je koncentrace laktózy nižší, s postupující laktací se zvyšuje (Gajdůšek, 2003).

3.2.5 Sezónní vlivy

Vliv roční doby na množství a složení dusíkatých látek mléka a mléčného tuku úzce souvisí s krmením, změnami teploty apod. Maxima procenta bílkovin byla pozorována v měsících červnu a červenci (ale hrubých) a pak dále ke konci roku, což však souvisí i se stádiem laktace. Nejstabilnější mléko bylo pozorováno v měsících prosinec, leden a únor a mléko obsahovalo nejvyšší podíl čistých bílkovin (Gajdůšek, 2003).

Procento mléčného tuku a proteinu je nejvyšší v průběhu podzimu a zimy a nejnižší během jara a léta. Tyto rozdíly souvisí se změnami v obou druzích dostupných krmiv a klimatických podmínkách. Pokud jsou dojnice na pastvě na jaře, obecně se snižuje obsah mléčného tuku. V horkém počasí a vysoké vlhkosti klesá příjem sušiny a následně příjem energie, což může snížit mléčné složky. Je také známo, že tepelný stres snižuje tvorbu slin, které pak mohou mít vliv na pufrovací kapacitu bachoru. Snížení bachorového *pH* může snížit obsah mléčného tuku (Varga a Ishler, 2007).

3.2.6 Stáří zvířete

Zatímco obsah mléčného tuku zůstává relativně konstantní, obsah mléčné bílkoviny se s přibývajícím věkem postupně snižuje (Varga a Ishler, 2007).

3.2.7 Faktory ovlivňující obsah minerálních látek a vitaminů v mléce

3.2.7.1 Minerální složení

Minerální složení mléka se mění s paritou, fází laktace, výživou a vlivem onemocnění. Obsah minerálních látek v mléce není konstantní, ale je ovlivněn řadou faktorů, z nichž nejvýznamnější jsou stádium laktace, výživa, genetické faktory a faktory vnějšího prostředí (Suttle, 2010).

Významnou roli hraje stádium laktace. Mlezivo má nejen podstatně více popelovin než zralé mléko, ale má i jiné zastoupení jednotlivých solí a to jak makroprvků, tak i mikroprvků. I v dalším průběhu laktační periody se poměry jednotlivých solí poněkud mění, zejména stopových prvků. Všeobecně však obsah solí vykazuje u zdravých a normálně krmených a chovaných krav určitou pravidelnost. Pouze ke konci laktace se zvyšuje obsah Ca, P, chloridů a mění se poměr Na/K ve prospěch Na (Gajdůšek, 2003).

Vliv výživy nemá všeobecně významný vliv na množství, ani na složení základních solí mléka. Vliv výživy však může významně ovlivnit zastoupení stopových prvků v mléce (Gajdůšek, 2003).

Značný vliv na množství a vzájemný poměr minerálních látek v mléce má zdravotní stav dojníc. 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 zastoupení jednotlivých forem solí v mléce. Při zánětech mléčné žlázy se významně mění i zastoupení některých stopových prvků (Gajdůšek, 2003).

3.2.7.2 Vitaminové složení

Obsah vitaminů v mléce není stálý a je ovlivněn celou řadou faktorů (krmivo, aktivita bachorové mikroflóry, stádium laktace, plemeno, zdravotní stav dojnice atd.). Mléčné produkty se mohou výrazně odlišovat obsahem mastných kyselin, lipofilních (vitamin A, D, E a β -karoten) a hydrofilních složek (vitaminy skupiny B a minerální látky) podle toho, z jaké geografické oblasti pocházejí (Thompson et al., 1964; Smit et al., 2000). Tyto rozdíly mohou být přisuzovány různým faktorům, např. druhu krmiva (Sağdıç et al., 2004), plemeni (Thompson et al., 1964) a fázi laktace (Larson et al., 1983).

Obsah vitamínu A značně kolísá v závislosti na složení krmné dávky dojníc (zelené krmení je bohaté na karotenoidy). Mlezivo obsahuje 10x více provitaminu A a vitamínu A než mléko (Gajdůšek, 2003). Vitamin A je obzvlášť důležitý pro růst a vývoj, imunitu a dobré vidění a jeho obsah v mléce závisí především na množství tuku, ale také na dalších faktorech jako je krmivo zvířat a období, ve kterém se nacházejí (Gaucheron, 2011).

Hladina vitamínu D je v mléce významně ovlivněna řadou faktorů, zejména roční dobou, resp. výživou, významnou roli hraje také pastva zvířat, v kolostru je obsah vitamínu D a zejména provitaminu D mnohem vyšší (Gajdůšek, 2003).

Obsah vitamínu E v živočišných tkáních a v mléce je ovlivněn hlavně složením krmiva a také významně kolísá podle roční doby (Gajdůšek, 2003).

Koncentrace niacinu není příliš ovlivněna krmením, plemenem, sezónou nebo stádiem laktace. Plemeno ani krmení nemají signifikantní vliv na obsah pantotenové kyseliny v mléce. Koncentrace pyridoxinu se mění během laktace a v závislosti na výživě. Zvýšené koncentrace se vyskytují v mléce na jaře a začátkem léta. Koncentrace biotinu v mléce není příliš

ovlivněna sezónou a plemenem. Nepřímý vliv má krmivo, které může způsobit změnu v bachorové mikroflóře. Vyšší koncentrace folacinu jsou popisovány v létě. Kobalamin je syntetizován bachorovou mikroflórou, proto koncentrace vitamínu nejsou značně ovlivněny krměním, plemenem a stádiem laktace (Navrátilová a kol., 2012).

4 Materiály a metody

4.1 Materiály

4.1.1 Charakterizace analyzovaných vzorků

Bylo analyzováno mléko 10 dojnic. Do pokusu byly zapojeny dojnice těchto plemen: český strakatý skot (C100), kříženci českého strakatého skotu s ayrshirským skotem (C79A21, C87A13) a kříženci českého strakatého skotu s červeným holštýnským skotem (C83R17, C87R13). Byly využity dojnice s pořadím laktace 1, 2, 3 a 6.

Tabulka 6: Identifikace vzorkovaných dojnic

Krmná dávka	Kód vzorku	Plemeno	Pořadí laktace
Běžná KD	123803	C100	3
	141992	C100	2
	133709	C83R17	3
	142025	C83R17	2
	142060	C100	1
KD s humáty	105562	C100	6
	121347	C79A21	3
	129788	C100	3
	138936	C87A13	2
	142062	C87R13	1

Polovina dojnic byla krmena běžnou krmnou dávkou (22 kg siláže, 12 kg senáže, 5 kg mláta, 4 kg jádra, 2 kg sena, minerálie), druhá polovina pak stejnou krmnou dávkou, ale obohacenou o huminové látky (přídavek produktu rostlinného původu HUMAFIT - prášek, výrobce ReConsulting a.s., Rusko – více informací na www.humaty.cz). V Tabulce 7 je uvedeno složení přípravku. Na Obrázku 3 je zachycena struktura práškového produktu HUMAFIT.

Tabulka 7: Složení přípravku HUMAFIT – prášek

Složení	Obsah [% hm.]
hrubá vláknina	48,36
humát draselný	51,64
hořčík	
železo	
zinek	
molybden	
měď	

Obrázek 3: Struktura krmné suroviny
(produkt HUMAFIT - prášek)



4.1.2 Odběr vzorků

Odběr vzorků mléka byl prováděn pracovníky firmy ReConsulting a.s. Mléko bylo vzorkováno v průběhu dvou měsíců (celkem bylo provedeno 7 odběrů v týdenních intervalech). Tabulka režimu odběrů (Tabulka 8) je uvedena níže. Mezi šestým a sedmým vzorkováním byl prodloužen časový interval z důvodu vynechání přídatku huminových látek dle pokynů dodavatele přípravku.

Tabulka 8: Režim odběrů vzorků mléka

Odběr	Datum
1	9. 12. 2013
2	16. 12. 2013
3	23. 12. 2013
4	30. 12. 2013
5	6. 1. 2014
6	13. 1. 2014
7	3. 2. 2014

4.2 Analytické metody

U každého stanovení byla provedena opakovaná měření vzorků. Ze získaných hodnot byl následně vypočten aritmetický průměr.

4.2.1 Stanovení aktivní kyselosti

Aktivní kyselost byla stanovena pomocí pH metru (pH 112, Snail Instruments, Česká republika) se skleněnou elektrodou (HC 123, THETA '90, Česká republika) kalibrovaného v rozmezí 4 až 7 roztoky pufrů. Vzorky byly analyzovány po temperaci na 20 °C. U každého vzorku byla provedena 2 opakovaná měření.

4.2.2 Stanovení titrační kyselosti

Titrační kyselost byla stanovena metodou dle Soxhlet-Henkela. Do titrační baňky bylo odpipetováno 25 ml vzorku mléka (při nedostatku analytu byl pipetovaný objem snížen na 10 ml) a následně přidán 1 ml 2 % roztoku fenolftaleinu (Lach-Ner, s.r.o., Česká republika) jako indikátor. Obsah baňky byl promíchán a následně titrován odměrným roztokem hydroxidu sodného (Lach-Ner, s.r.o., Česká republika) o koncentraci 0,25 mol.l⁻¹ do slabě růžového zbarvení (odstín odpovídající barvě srovnávacího roztoku). Srovnávací roztok mléka byl připraven z 1 ml roztoku síranu kobaltnatého s 50 ml mléka. Roztok síranu kobaltnatého byl připraven rozpuštěním 5 g heptahydrátu síranu kobaltnatého CoSO₄.7H₂O (Ing. Petr Švec - PENTA s.r.o., Česká republika) ve 100 ml vody. Zneutralizovaný obsah titrační baňky musí zůstat barevně stálý po dobu min. 30 s. U každého vzorku byla provedena 2 opakovaná stanovení.

Výpočet titrační kyselosti dle Soxhlet-Henkela:

$$x = k \cdot a \cdot f \quad (1)$$

x titrační kyselost [SH]

k faktor přepočtu objemu vzorku na 100 ml ($k = 4$ pro 25 ml vzorku, $k = 10$ pro 10 ml vzorku) [-]

a spotřeba odměrného roztoku NaOH [ml]

f faktor odměrného roztoku NaOH [-]

4.2.3 Stanovení obsahu sušiny mléka vážkově (ČSN ISO 6731)

Sušina byla stanovena referenční metodou dle ČSN ISO 6731.

Do hliníkového kelímku je naváženo (AND TCS 128/92, A&D Company, Limited, Japonsko) 20 – 25 g křemenného písku (Lach-Ner, s.r.o., Česká republika) a vložena skleněná tyčinka. Takto připravená váženka je umístěna na 1 hodinu do sušárny (KBC G 100/250, Premed, Polsko) a sušena při teplotě 102 ± 2 °C. Po 45min vychlazení v exsikátoru je kelímek zvážen (AND TCS 128/92, A&D Company, Limited, Japonsko) s analytickou přesností na 0,0001 g. Do váženky jsou odpipetovány 3 ml vzorku mléka, který se s pískem opatrně promíchá, a obsah kelímku je opět zvážen (AND TCS 128/92, A&D Company, Limited, Japonsko) s analytickou přesností. Následně je vzorek sušen (KBC G 100/250, Premed, Polsko) při teplotě 102 ± 2 °C po dobu 2 h. Během tohoto procesu je obsah několikrát opatrně promíchán tyčinkou, aby nedošlo k vytvoření pevného povlaku na povrchu. Po vyjmutí ze sušárny (KBC G 100/250, Premed, Polsko) je váženka chlazená 45 min v exsikátoru a následně zvážena (AND TCS 128/92, A&D Company, Limited, Japonsko) s analytickou přesností. Proces sušení je opakován v 1 h intervalech do dosažení konstantní hmotnosti, nebo do doby, kdy se hmotnost začne zvyšovat. U každého vzorku byla provedena 2 opakovaná stanovení.

Výpočet obsahu sušiny:

$$\% \text{ sušiny} = \frac{\text{zbytek po vysušení}}{\text{navážka}} \times 100 \quad (2)$$

% sušiny obsah sušiny [% hm.]

zbytek po vysušení váha vzorku po dosažení konstantní hmotnosti [g]

navážka původní hmotnost vzorku [g]

4.2.4 Stanovení obsahu tuku acidobutyrometrickou metodou podle Gerbera

Do butyrometru na mléko bylo automatickým dávkovačem odměřeno 10 ml Gerberovy kyseliny sírové ($\rho = 1,817 \pm 0,003 \text{ g.cm}^{-3}$, 90 – 91 % hm.; Lach-Ner, s.r.o., Česká republika) a následně napipetováno 11 ml vzorku mléka (vzorky byly temperovány na 20 °C). Pipetování mléka bylo prováděno opatrně po stěně butyrometru, aby nedocházelo k promísení jeho obsahu. Pipeta byla po nadávkování vzorku ještě přidržena u stěny butyrometru po dobu 3 s, aby došlo k jejímu dokonalému vyprázdnění. Mléko ze špičky pipety nebylo vyfukováno. K obsahu butyrometru byl následně přidán 1 ml amylalkoholu ($\rho = 0,808 - 0,818 \text{ g.cm}^{-3}$; Lach-Ner, s.r.o., Česká republika), butyrometr byl uzavřen pryžovou zátkou a jeho obsah prudce protřepán. Butyrometry byly temperovány ve vodní lázni (Medingen W12, Labortechnik Medingen, Německo) při teplotě 65 - 68 °C do rozpuštění veškerých bílkovin a poté byl tuk odstředován 6 min v Gerberově odstředivce (Strojbal a.s., Česká republika). Po odstředění byl obsah butyrometrů znovu temperován ve vodní lázni (Medingen W12, Labortechnik Medingen, Německo) při teplotě 65 - 68 °C po dobu 3 – 5 min. Obsah tuku (v %) byl odečten na stupnici butyrometru a přepočítán na % hm. U každého vzorku byla provedena 3 opakovaná stanovení.

Výpočet obsahu tuku:

$$y = (x + 0,04)/1,04 \quad (3)$$

y obsah tuku [% hm.]

x odečet tuku na stupnici butyrometru [%]

4.2.5 Stanovení obsahu tukuprosté sušiny

Obsah tukuprosté sušiny (*tps*) byl vypočten z rozdílu celkové sušiny stanovené vážkově a tuku stanoveného acidobutyrickou metodou podle Gerbera.

Výpočet obsahu tukuprosté sušiny:

$$tps = s - t \quad (4)$$

s obsah sušiny stanovené vážkově [% hm.]

t obsah tuku stanoveného acidobutyricky [% hm.]

4.2.6 Stanovení obsahu laktózy, hrubých bílkovin, kaseinu a hustoty metodou infračervené spektroskopie

Hustota, obsah laktózy, hrubých bílkovin a kaseinu byl stanoven metodou infračervené spektroskopie pomocí FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) interferometru MilkoScan FT 120 (Foss Analytical A/S, Dánsko). Principem je měření absorpce infračerveného záření funkčními skupinami složek mléka při specifických vlnových délkách. Absorpce je ovlivňována i ostatními komponentami ve vzorku, proto je nutno naměřené údaje uvést do souladu s referenčními hodnotami pomocí kalibrace. Přístroj naskenuje a proměří celé infračervené spektrum a zaznamená intenzitu světla zachyceného detektorem jako funkci změny dráhy pohyblivého zrcadla. Poloha pohyblivého zrcadla je měřena laserem. Ze zdroje infračerveného záření dopadá infračervený paprsek na splitter, který zasílá polovinu paprsku na fixní zrcadlo a druhou polovinu na pohyblivé zrcadlo. Odražené paprsky světla z obou zrcadel se spojují před tím, než dorazí do detektoru. Všechny infračervené frekvence prochází přes interferometr ve stejnou dobu, přičemž rychlý pohyb zrcadla umožňuje simultánní vygenerování celého spektra. MilkoScan FT 120 (Foss Analytical A/S, Dánsko) je tedy přístroj určený k rychlé analýze složení mléka a mléčných výrobků a lze ho využít ke stanovení obsahu tuku, hrubých bílkovin, kaseinu, laktózy, kyseliny citrónové, močoviny, volných mastných kyselin, celkové a tukuprosté sušiny, bodu mrznutí, titrační kyselosti a hustoty.

K příslušenství interferometru MilkoScan FT 120 (Foss Analytical A/S, Dánsko) patří dále vibrační nasávací pipeta a peristaltická pumpa k dávkování vzorků, temperační jednotka, která temperuje vzorek z počáteční teploty 5 – 39 °C na 40 °C, vysokotlaká pumpa (pumpuje vzorek přes homogenizátor), dvoustupňový homogenizátor, filtr (určen k odstranění částic,

kteřé by mohly poškodit měřicí kyvetu) a měřicí kyveta. Homogenizace vzorku probíhá za tlaku 200 bar. 85 % nasátého vzorku je určeno k čištění systému od předchozího vzorku a jde dále do odpadu. Zbýlý vzorek je filtrován přes in-line filtr do měřicí kyvety, kde probíhá vlastní analýza. Po ukončení měření je vzorek odveden do odpadní nádoby. K systému jsou dále připojeny nádoby na nulovací a čistící roztoky. Přístroj je řízen softwarem FT 120 (Foss Analytical A/S, Dánsko), který také automaticky vyhodnocuje výsledky měření.

Obsah stanovovaných složek mléka a jeho hustota byly změřeny po temperaci vzorků na 40 °C programem Improved Milk UC (softwarem FT 120, Foss Analytical A/S, Dánsko). U každého vzorku byla provedena 2 opakovaná stanovení.

4.2.7 Statistické metody

Statistické vyhodnocení dat bylo provedeno v programu STATISTICA Cz 12 (StatSoft, Inc., USA).

Pro stanovení průkaznosti hypotézy (H01), shodnosti obsahu dané složky v mléce dojnic krmených KD s humáty a mléce dojnic krmených běžnou KD, byl využit dvouvýběrový *t*-test.

Pro stanovení průkaznosti hypotézy (H02), konstantnosti obsahu dané složky v průběhu laktační periody produkce zralého mléka, tj. že ve všech okamžicích měření je střední hodnota obsahu této složky stejná, byla použita analýza rozptylu (ANOVA) hlavních efektů, případně k podrobnějšímu vyhodnocení Tukeyho HSD test. V případě nesplnění předpokladů analýzy rozptylu byl využit neparametrický Kruskal - Wallisův test.

Zvolená hladina významnosti byla pro všechny testy zvolena jako $\alpha = 0,05$ (5 % pravděpodobnost chyby).

Homogenita rozptylů byla ověřována pomocí Leveneova testu. Pro stanovení odlehlých hodnot byl použit Grubsův test.

5 Výsledky

Byl hodnocen vliv přídavku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah vybraných složek (sušiny, tuku, tukuprosté sušiny, laktózy, hrubých bílkovin a kaseinu) a na vybrané fyzikálně - chemické parametry (titrační kyselost, aktivní kyselost a hustota) mléka. Získané výsledky byly vyjádřeny jako závislost průměrných hodnot jednotlivých složek a fyzikálně - chemických parametrů na počtu odběrů (čase). Dále byl vypočten procentuální pokles či nárůst těchto hodnot v čase oproti prvnímu výchozímu odběru z důvodu odstínění vlivu plemene, stadia laktace a individuality dojnice na hodnocené složky a fyzikálně - chemické parametry.

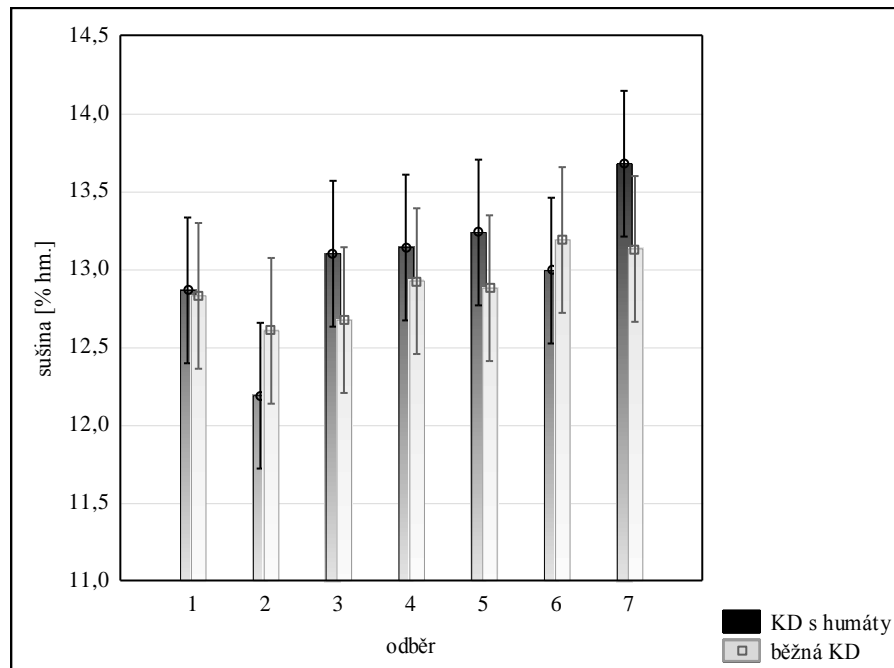
5.1 Vliv přídavku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah sušiny v mléce

Obsah sušiny v mléce dojnic krmených běžnou krmnou dávkou (KD) a KD s přídavkem humátů byl stanoven referenční vážkovou metodou (ČSN ISO 6731). Průměrné hodnoty sušiny mléka vzorku krav krmených běžnou KD a KD s přídavkem huminových látek jsou znázorněny v Grafu 1.

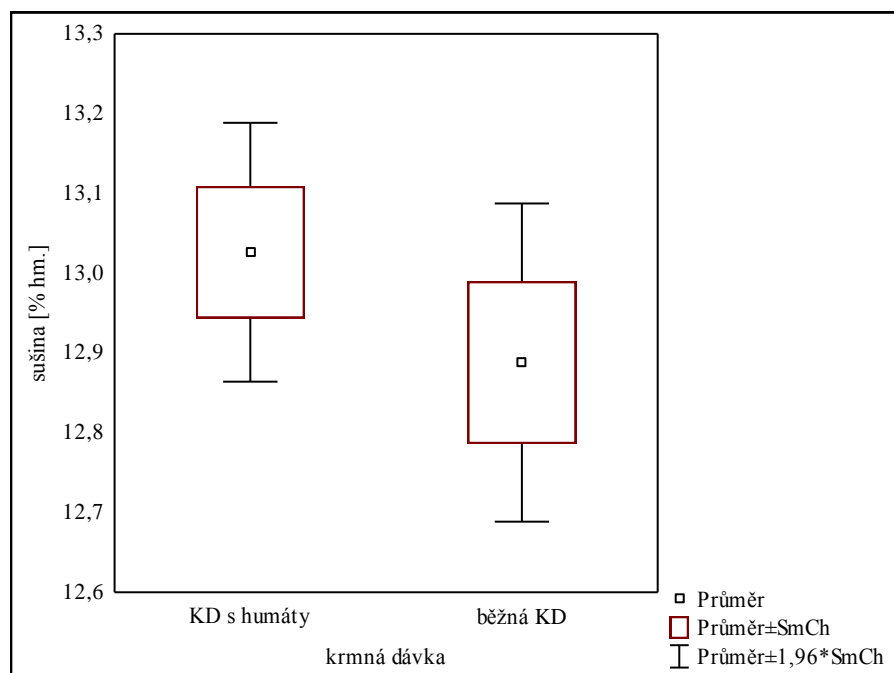
Výsledky statistické analýzy závislosti obsahu sušiny mléka na zvolené KD jsou znázorněny v Grafu 2. Statistickým vyhodnocením dat nebyl zjištěn na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) statisticky významný rozdíl ($P = 0,29$) v obsahu sušiny v mléce dojnic krmených běžnou KD a mléce dojnic krmených KD s humáty. Nelze tedy zamítnout hypotézu (H_{01}), že je obsah sušiny v mléce dojnic krmených běžnou KD a v mléce dojnic krmených KD s humáty srovnatelný.

V případě hypotézy H_{02} nebyl splněn předpoklad homogenity rozptylů, k vyhodnocení byl proto využit neparametrický Kruskal – Wallisův test. Na základě jeho výsledků lze s pravděpodobností 95 % zamítnout hypotézu (H_{02}) o konstantnosti obsahu sušiny v čase ($P < 0,01$). Statisticky průkazný rozdíl byl zjištěn mezi odběry 2 – 6 a rovněž 2 – 7. Kvůli výrazně nižšímu průměrnému obsahu sušiny u vzorků mléka dojnic krmených KD s obsahem huminových látek při druhém vzorkování však nelze vyloučit nesprávně provedený odběr těchto vzorků (viz. kap. 4.1.2).

Graf 1: Porovnání obsahu sušiny v mléce dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 3 paralelních měření \pm 95% interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)



Graf 2: Krabicový graf závislosti obsahu sušiny mléka na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)



Procentuální vyjádření změn obsahu sušiny v analyzovaných vzorcích mléka je uvedeno v Tabulkách 9 a 10. Nárůst obsahu sušiny je patrný v obou skupinách vzorků (dojnice krmené KD s humáty a dojnice krmené běžnou KD). Vyšší celkový nárůst obsahu sušiny (o 6,9 %) byl zaznamenán v mléce dojníc krmených KD s humáty oproti kontrolnímu vzorku (o 2,6 %). Mezi nárůstem obsahu sušiny na konci odběrů (1-7) u mléka dojníc krmených KD s humáty a mléka dojníc krmených běžnou KD však nebyl prokázán statisticky průkazný rozdíl ($P = 0,19$) na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$).

Tabulka 9: Procentuální vyjádření změn obsahu sušiny v mléce dojníc krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

KD s humáty	Průměrný obsah sušiny [% hm.]	Změny v obsahu sušiny [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	12,9	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	12,2	95,2	-4,8	pokles
odběr 3	13,1	102,2	2,2	nárůst
odběr 4	13,1	102,4	2,4	nárůst
odběr 5	13,2	103,2	3,2	nárůst
odběr 6	13,0	101,5	1,5	nárůst
odběr 7	13,7	106,9	6,9	nárůst

Tabulka 10: Procentuální vyjádření změn obsahu sušiny v mléce dojníc krmených běžnou KD v průběhu experimentu

běžná KD	Průměrný obsah sušiny [% hm.]	Změny v obsahu sušiny [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	12,8	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	12,6	98,1	-1,9	pokles
odběr 3	12,7	98,6	-1,4	pokles
odběr 4	12,9	100,9	0,9	nárůst
odběr 5	12,9	100,6	0,6	nárůst
odběr 6	13,2	103,0	3,0	nárůst
odběr 7	13,1	102,6	2,6	nárůst

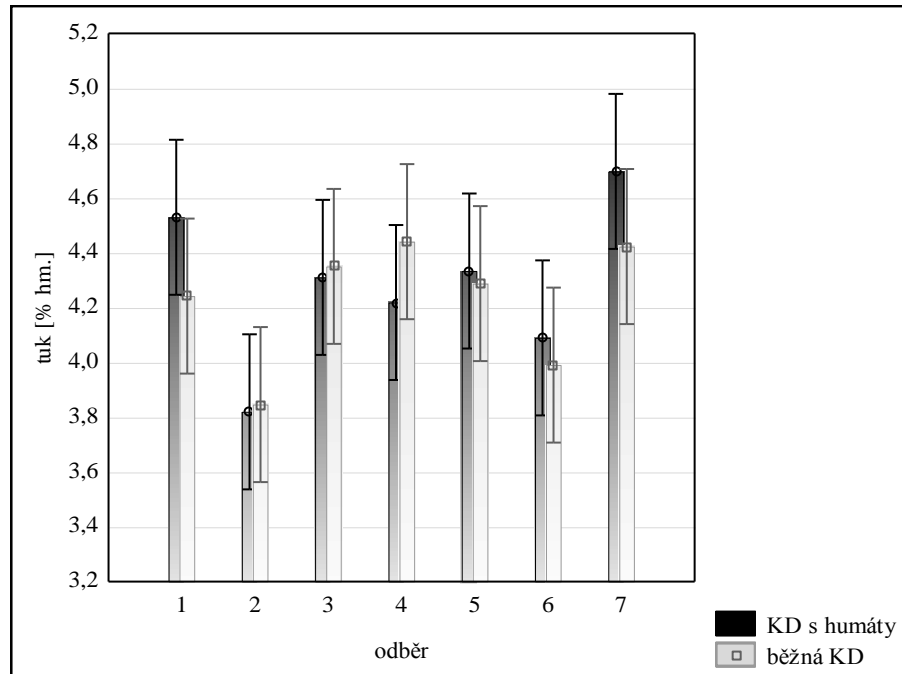
5.2 Vliv přídatku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah tuku v mléce

Obsah tuku v mléce dojnic krmných běžnou KD a KD s přídatkem humátů byl stanoven acidobutyrometrickou metodou podle Gerbera. Průměrné hodnoty tuku v mléce vzorku krav krmných běžnou KD a KD s přídatkem huminových látek jsou znázorněny v Grafu 3.

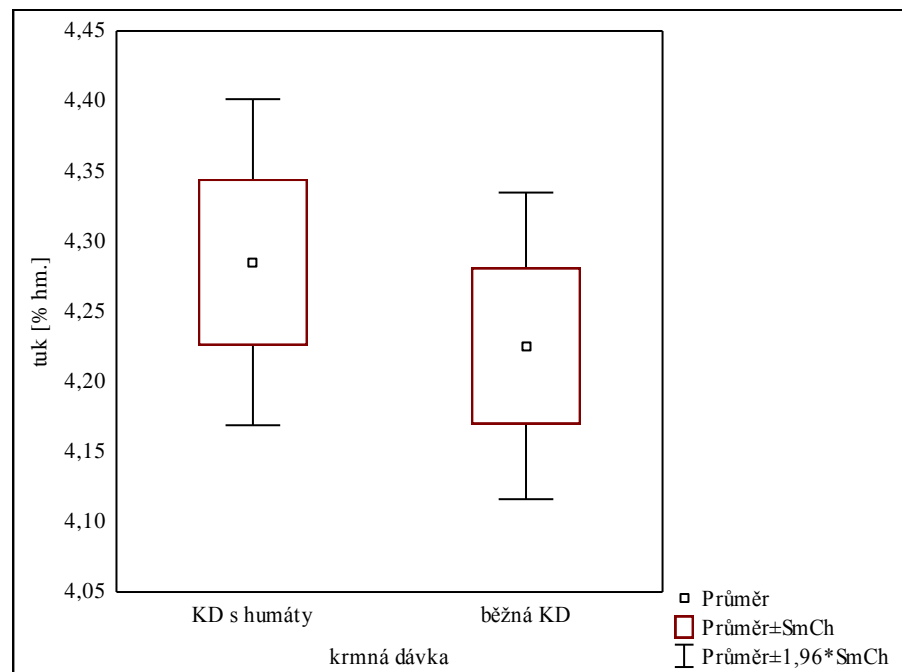
Výsledky statistické analýzy závislosti obsahu tuku v mléce na zvolené KD jsou znázorněny v Grafu 4. Statistickým vyhodnocením dat nebyl zjištěn na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) statisticky významný rozdíl ($P = 0,46$) v obsahu tuku v mléce dojnic krmných běžnou KD a mléce dojnic krmných KD s humáty. Nelze tedy zamítnout hypotézu (H_{01}), že je obsah tuku v mléce dojnic krmných běžnou KD a v mléce dojnic krmných KD s humáty srovnatelný.

V případě hypotézy H_{02} nebyl splněn předpoklad homogenity rozptylů, k vyhodnocení byl proto využit neparametrický Kruskal – Wallisův test. Na základě jeho výsledků lze s pravděpodobností 95 % zamítnout hypotézu (H_{02}) o konstantnosti obsahu tuku v čase ($P < 0,01$). Statisticky průkazný rozdíl byl zjištěn mezi odběry 1 - 2, 2 - 3, 2 - 4, 2 - 5, 2 - 7 a rovněž 6 - 7. Kvůli výrazně nižšímu průměrnému obsahu tuku u vzorků mléka obou skupin dojnic při druhém a šestém vzorkování však nelze vyloučit nesprávně provedený odběr těchto vzorků (viz. kap. 4.1.2).

Graf 3: Porovnání obsahu tuku v mléce dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 3 paralelních měření \pm 95% interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)



Graf 4: Krabicový graf závislosti obsahu tuku v mléce na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)



Procentuální vyjádření změn obsahu tuku v analyzovaných vzorcích mléka je uvedeno v Tabulkách 11 a 12. Na základě získaných výsledků nelze určit jednoznačný trend závislosti obsahu tuku na počtu odběrů (čase) u hodnocených vzorků (dojnice krmené KD s humáty a dojnice krmené běžnou KD). Avšak vyšší celkový nárůst tučnosti (o 5,8 %) byl zaznamenán v mléce dojnic krmených KD s humáty oproti kontrolnímu vzorku (o 5,0 %). Mezi nárůstem tučnosti na konci odběrů (1-7) u mléka dojnic krmených KD s humáty a mléka dojnic krmených běžnou KD však nebyl prokázán statisticky průkazný rozdíl ($P = 0,90$) na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$).

Tabulka 11: Procentuální vyjádření změn obsahu tuku v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

KD s humáty	Průměrný obsah tuku [% hm.]	Změny v obsahu tuku [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	4,5	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	3,8	85,8	-14,2	pokles
odběr 3	4,3	97,3	-2,7	pokles
odběr 4	4,2	95,0	-5,0	pokles
odběr 5	4,3	95,5	-4,5	pokles
odběr 6	4,1	91,5	-8,5	pokles
odběr 7	4,7	105,8	5,8	nárůst

Tabulka 12: Procentuální vyjádření změn obsahu tuku v mléce dojnic krmených běžnou KD v průběhu experimentu

běžná KD	Průměrný obsah tuku [% hm.]	Změny v obsahu tuku [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	4,2	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	3,8	91,0	-9,0	pokles
odběr 3	4,4	102,5	2,5	nárůst
odběr 4	4,4	105,1	5,1	nárůst
odběr 5	4,3	101,4	1,4	nárůst
odběr 6	4,0	94,6	-5,4	pokles
odběr 7	4,4	105,0	5,0	nárůst

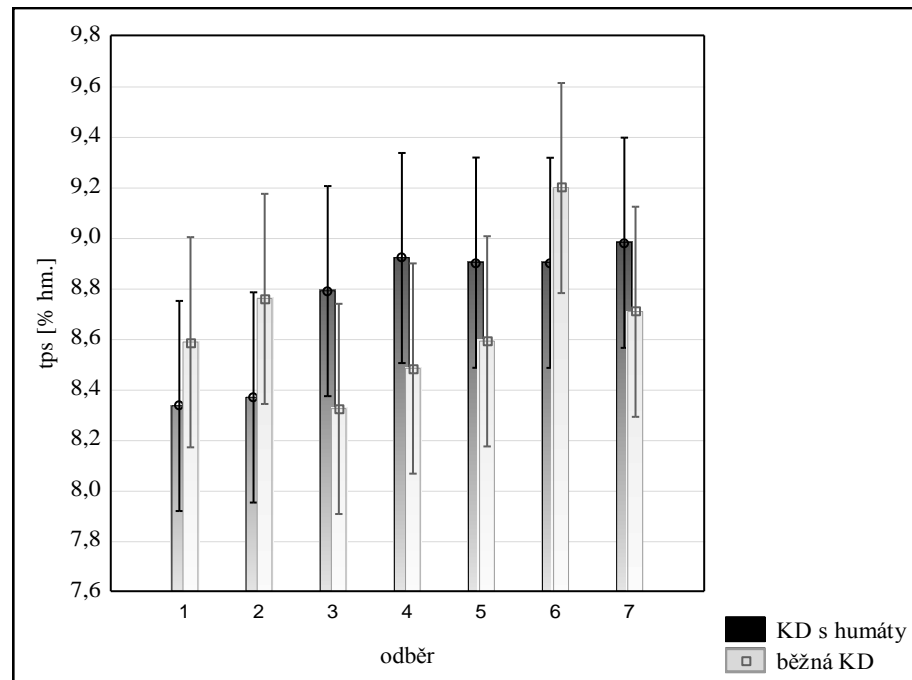
5.3 Vliv přídatku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah tukuprosté sušiny (*tps*) v mléce

Obsah *tps* v mléce dojnic krmných běžnou KD a KD s přídatkem humátů byl zjištěn výpočtem z rozdílu celkové sušiny stanovené vážkově a tuku stanoveného acidobutyrometrickou metodou podle Gerbera. Průměrné hodnoty *tps* mléka vzorku krav krmných běžnou KD a KD s přídatkem huminových látek jsou znázorněny v Grafu 5.

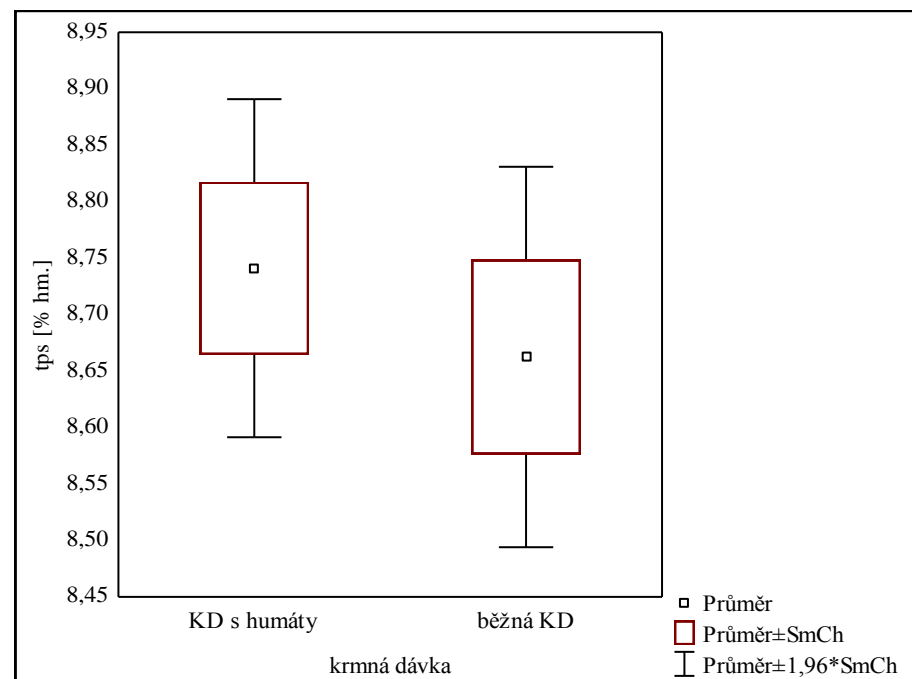
Výsledky statistické analýzy závislosti obsahu *tps* mléka na zvolené KD jsou znázorněny v Grafu 6. Statistickým vyhodnocením dat nebyl zjištěn na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) statisticky významný rozdíl v obsahu *tps* v mléce dojnic krmných běžnou KD a mléce dojnic krmných KD s humáty ($P = 0,49$). Nelze tedy zamítnout hypotézu (H_0), že je obsah *tps* mléka dojnic krmných běžnou KD a mléka dojnic krmných KD s humáty srovnatelný.

V případě hypotézy H_0 byl splněn předpoklad homogenity rozptylů, k vyhodnocení byla proto využita analýza rozptylu hlavních efektů. Na základě jejích výsledků nelze s pravděpodobností 95 % zamítnout hypotézu (H_0) o konstantnosti obsahu *tps* v čase ($P = 0,11$). Na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) neexistuje statisticky významný rozdíl v obsahu *tps* v jednotlivých odběrech v mléce dojnic krmných KD s humáty ani v mléce dojnic krmných běžnou KD. Protože časová závislost obsahu *tps* není shodná s časovými závislostmi obsahu celkové sušiny a tuku, lze usuzovat, že poklesy jejich hodnot u obou skupin dojnic při druhém a šestém vzorkování byly způsobeny nesprávně provedeným odběrem těchto vzorků, resp. jejich nedokonalou homogenizací a vyvzorkováním mléka ochuzeného o část tuku jeho smetaněním (viz. kap. 4.1.2).

Graf 5: Porovnání obsahu *tps* v mléce dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 3 paralelních měření \pm 95% interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)



Graf 6: Krabicový graf závislosti obsahu *tps* mléka na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)



Procentuální vyjádření změn obsahu *tps* v analyzovaných vzorcích mléka je uvedeno v Tabulkách 13 a 14. Nárůst obsahu *tps* ve vzorcích je patrný ve skupině dojnic krmených KD s humáty. Oproti tomu v kontrolní skupině dojnic nebyl zaznamenán jednoznačný trend závislosti obsahu *tps* na počtu odběrů (čase). Vyšší celkový nárůst obsahu *tps* (o 8,9 %) byl zaznamenán v mléce dojnic krmených KD s humáty oproti kontrolnímu vzorku (o 1,6 %). Mezi nárůstem obsahu *tps* na konci odběrů (1-7) u mléka dojnic krmených KD s humáty a mléka dojnic krmených běžnou KD však nebyl prokázán statisticky průkazný rozdíl ($P = 0,12$) na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$).

Tabulka 13: Procentuální vyjádření změn obsahu tukuprosté sušiny (*tps*) v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

KD s humáty	Průměrný obsah <i>tps</i> [% hm.]	Změny v obsahu <i>tps</i> [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	8,3	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	8,4	101,1	1,1	nárůst
odběr 3	8,8	106,3	6,3	nárůst
odběr 4	8,9	107,8	7,8	nárůst
odběr 5	8,9	107,0	7,0	nárůst
odběr 6	8,9	107,7	7,7	nárůst
odběr 7	9,0	108,9	8,9	nárůst

Tabulka 14: Procentuální vyjádření změn obsahu tukuprosté sušiny (*tps*) v mléce dojnic krmených běžnou KD v průběhu experimentu

běžná KD	Průměrný obsah <i>tps</i> [% hm.]	Změny v obsahu <i>tps</i> [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	8,6	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	8,8	101,8	1,8	nárůst
odběr 3	8,3	96,8	-3,2	pokles
odběr 4	8,5	99,1	-0,9	pokles
odběr 5	8,6	100,4	0,4	nárůst
odběr 6	9,2	107,6	7,6	nárůst
odběr 7	8,7	101,6	1,6	nárůst

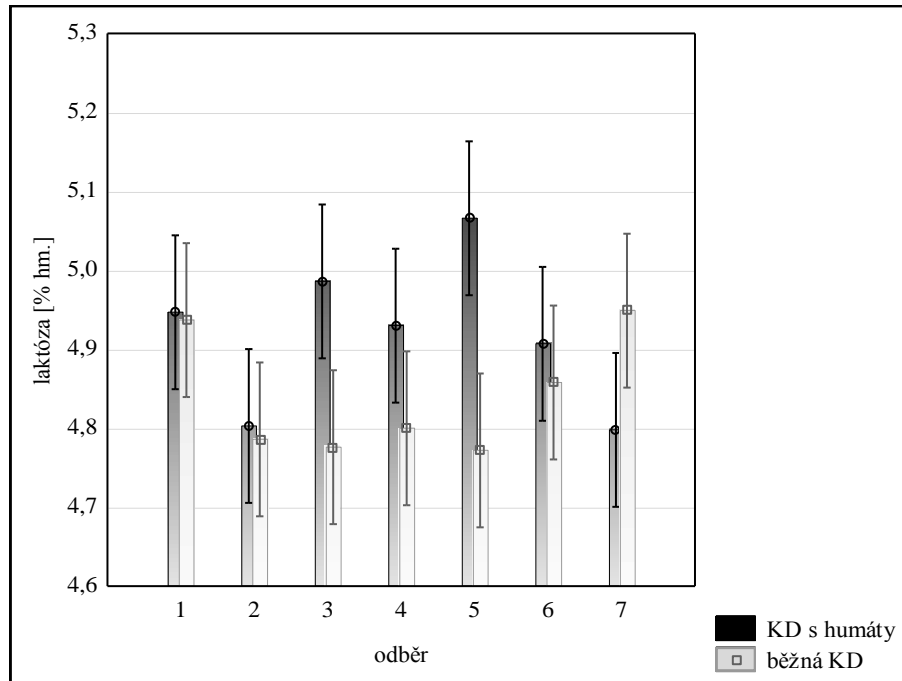
5.4 Vliv přídatku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah laktózy v mléce

Obsah laktózy v mléce dojnic krmných běžnou KD a KD s přídatkem humátů byl stanoven metodou infračervené spektroskopie pomocí FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) interferometru MilkoScan FT 120 (Foss Analytical A/S, Dánsko). Průměrné hodnoty laktózy v mléce vzorku krav krmných běžnou KD a KD s přídatkem huminových látek jsou znázorněny v Grafu 7.

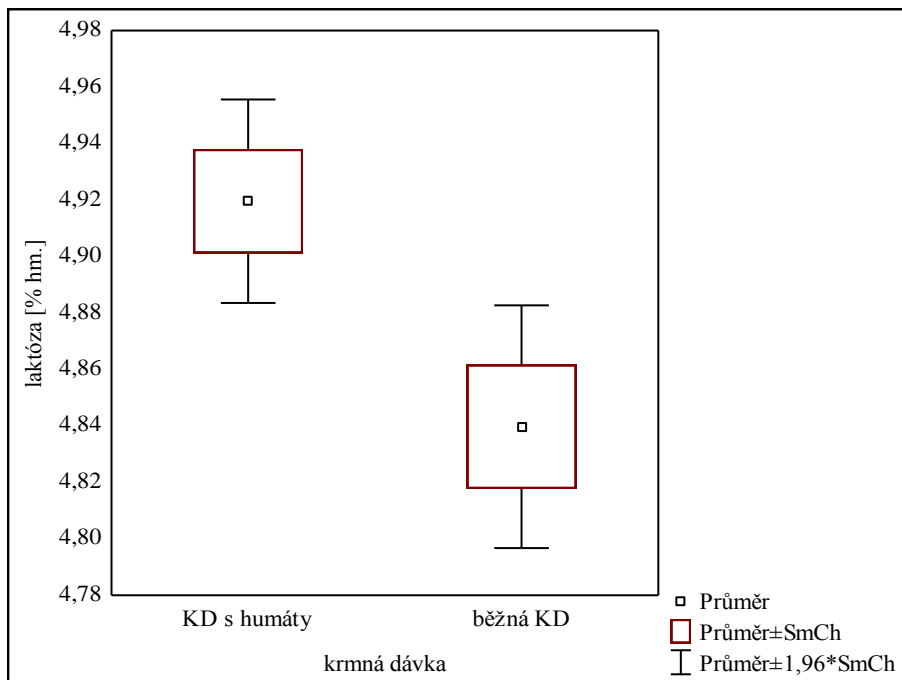
Výsledky statistické analýzy závislosti obsahu laktózy v mléce na zvolené KD jsou znázorněny v Grafu 8. Statistickým vyhodnocením dat byl zjištěn na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) statisticky významný rozdíl v obsahu laktózy v mléce dojnic krmných běžnou KD a v mléce dojnic krmných KD s humáty ($P = 0,01$). Lze tedy zamítnout hypotézu (H_0), že je obsah laktózy v mléce dojnic krmných běžnou KD a v mléce dojnic krmných KD s humáty srovnatelný.

V případě hypotézy H_0 byl splněn předpoklad homogenity rozptylů, k vyhodnocení byla proto využita analýza rozptylu hlavních efektů. Na základě jejích výsledků nelze s pravděpodobností 95 % zamítnout hypotézu (H_0) o konstantnosti obsahu laktózy v čase ($P = 0,17$). Na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) neexistuje statisticky významný rozdíl v obsahu laktózy v jednotlivých odběrech v mléce dojnic krmných KD s humáty ani v mléce dojnic krmných běžnou KD.

Graf 7: Porovnání obsahu laktózy v mléce dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření \pm 95% interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)



Graf 8: Krabicový graf závislosti obsahu laktózy v mléce na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)



Procentuální vyjádření změn obsahu laktózy v analyzovaných vzorcích mléka je uvedeno v Tabulkách 15 a 16. Na základě získaných výsledků nelze určit jednoznačný trend závislosti obsahu laktózy na počtu odběrů (čase) u hodnocených vzorků (dojnice krmené KD s humáty a dojnice krmené běžnou KD) a lze spíše usuzovat na mírný pokles až konstantnost této složky v čase dle výsledků statistické analýzy.

Tabulka 15: Procentuální vyjádření změn obsahu laktózy v mléce dojníc krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

KD s humáty	Průměrný obsah laktózy [% hm.]	Změny v obsahu laktózy [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	4,9	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	4,8	97,1	-2,9	pokles
odběr 3	5,0	100,8	0,8	nárůst
odběr 4	4,9	99,7	-0,3	pokles
odběr 5	5,1	102,4	2,4	nárůst
odběr 6	4,9	99,2	-0,8	pokles
odběr 7	4,8	97,0	-3,0	pokles

Tabulka 16: Procentuální vyjádření změn obsahu laktózy v mléce dojníc krmených běžnou KD v průběhu experimentu

běžná KD	Průměrný obsah laktózy [% hm.]	Změny v obsahu laktózy [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	4,9	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	4,8	97,0	-3,0	pokles
odběr 3	4,8	96,7	-3,3	pokles
odběr 4	4,8	97,2	-2,8	pokles
odběr 5	4,8	96,6	-3,4	pokles
odběr 6	4,9	98,4	-1,6	pokles
odběr 7	4,9	100,3	0,3	nárůst

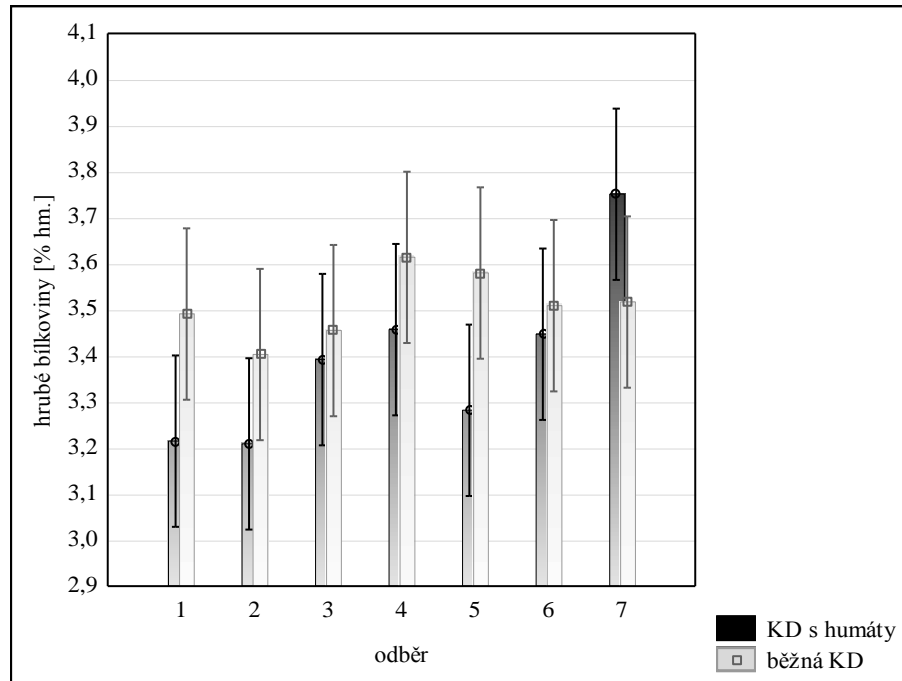
5.5 Vliv přídatku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah hrubých bílkovin v mléce

Obsah hrubých bílkovin v mléce dojnic krmných běžnou KD a KD s přídatkem humátů byl stanoven metodou infračervené spektroskopie pomocí FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) interferometru MilkoScan FT 120 (Foss Analytical A/S, Dánsko) kalibrovaného dle ČSN ISO 1871. Průměrné hodnoty hrubých bílkovin v mléce vzorku krav krmných běžnou KD a KD s přídatkem huminových látek jsou znázorněny v Grafu 9.

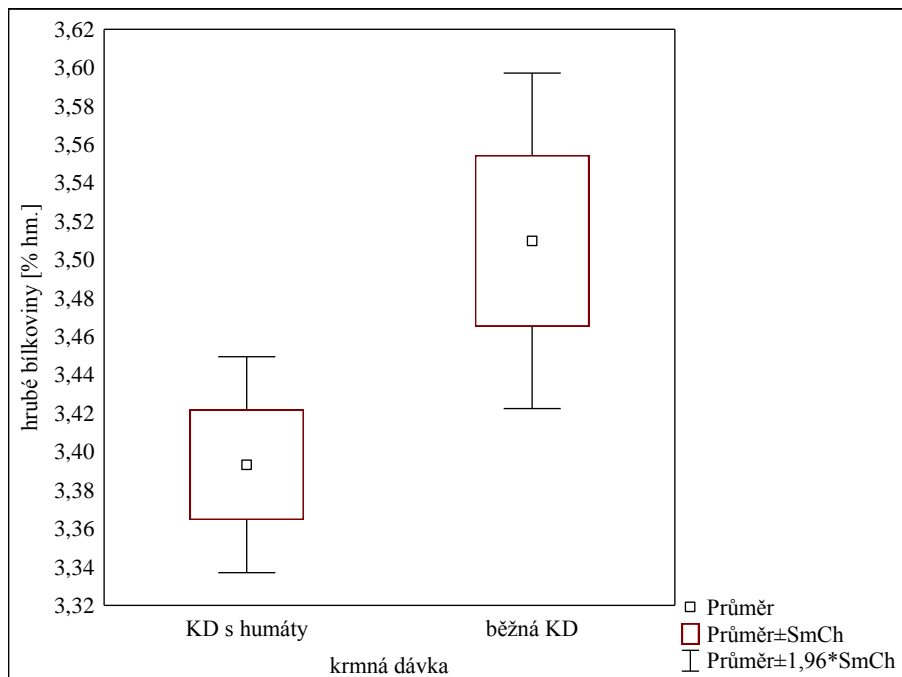
Výsledky statistické analýzy závislosti obsahu hrubých bílkovin v mléce na zvolené KD jsou znázorněny v Grafu 10. Statistickým vyhodnocením dat byl zjištěn na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) statisticky významný rozdíl v obsahu hrubých bílkovin v mléce dojnic krmných běžnou KD a mléce dojnic krmných KD s humáty ($P = 0,03$). Lze tedy zamítnout hypotézu (H_01), že je obsah hrubých bílkovin v mléce dojnic krmných běžnou KD a v mléce dojnic krmných KD s humáty srovnatelný.

V případě hypotézy H_02 nebyl splněn předpoklad homogenity rozptylů, k vyhodnocení byl proto využit neparametrický Kruskal – Wallisův test. Na základě jeho výsledků lze s pravděpodobností 95 % zamítnout hypotézu (H_02) o konstantnosti obsahu hrubých bílkovin v čase ($P < 0,01$). Statisticky průkazný rozdíl byl zjištěn mezi odběry 1 - 7, 2 - 4 a rovněž 2 - 7.

Graf 9: Porovnání obsahu hrubých bílkovin v mléce dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření \pm 95% interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)



Graf 10: Krabicový graf závislosti obsahu hrubých bílkovin v mléce na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)



Procentuální vyjádření změn obsahu hrubých bílkovin v analyzovaných vzorcích mléka je uvedeno v Tabulkách 17 a 18. Nárůst obsahu hrubých bílkovin ve vzorcích je patrný ve skupině dojnic krmných KD s humáty. Oproti tomu v kontrolní skupině dojnic nebyl zaznamenán jednoznačný trend závislosti obsahu hrubých bílkovin na počtu odběrů (čase). Vyšší celkový nárůst obsahu hrubých bílkovin (o 16,7 %) byl zaznamenán v mléce dojnic krmných KD s humáty oproti kontrolnímu vzorku (o 1,9 %). Mezi nárůstem obsahu hrubých bílkovin na konci odběrů (1-7) u mléka dojnic krmných KD s humáty a mléka dojnic krmných běžnou KD byl prokázán statisticky průkazný rozdíl ($P < 0,01$) na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$).

Tabulka 17: Procentuální vyjádření změn obsahu hrubých bílkovin v mléce dojnic krmných KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

KD s humáty	Průměrný obsah hrubých bílkovin [% hm.]	Změny v obsahu hrubých bílkovin [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	3,2	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	3,2	99,9	-0,1	pokles
odběr 3	3,4	105,7	5,7	nárůst
odběr 4	3,5	107,7	7,7	nárůst
odběr 5	3,3	102,2	2,2	nárůst
odběr 6	3,4	107,4	7,4	nárůst
odběr 7	3,8	116,7	16,7	nárůst

Tabulka 18: Procentuální vyjádření změn obsahu hrubých bílkovin v mléce dojnic krmných běžnou KD v průběhu experimentu

běžná KD	Průměrný obsah hrubých bílkovin [% hm.]	Změny v obsahu hrubých bílkovin [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	3,5	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	3,4	97,3	-2,7	pokles
odběr 3	3,5	98,8	-1,2	pokles
odběr 4	3,6	103,6	3,6	nárůst
odběr 5	3,6	102,9	2,9	nárůst
odběr 6	3,5	100,5	0,5	nárůst
odběr 7	3,5	101,9	1,9	nárůst

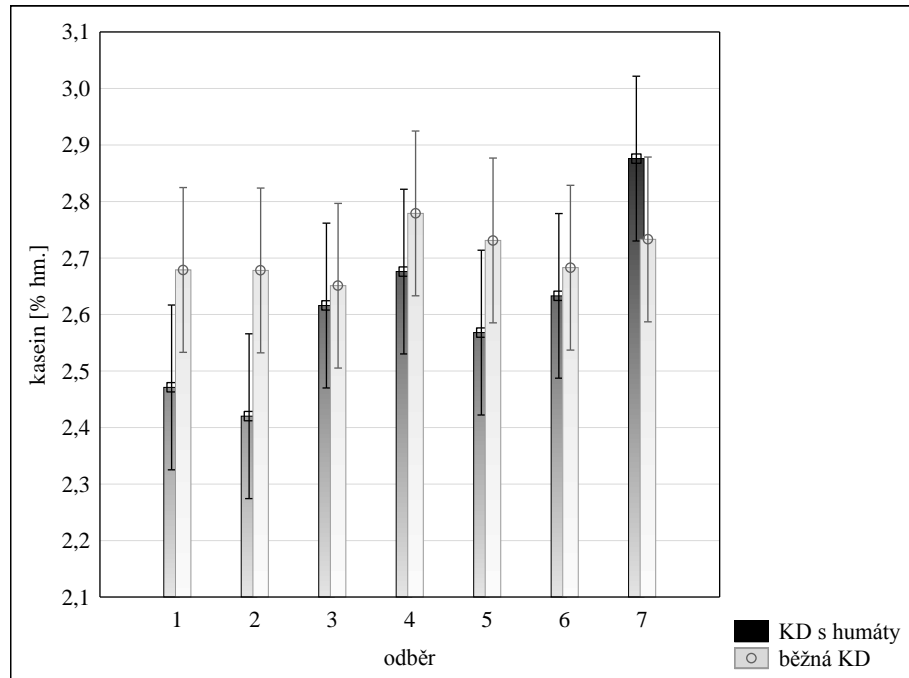
5.6 Vliv přídatku huminových látek do krmné dávky dojnic na obsah kaseinu v mléce

Obsah kaseinu v mléce dojnic krmných běžnou KD a KD s přídatkem humátů byl stanoven metodou infračervené spektroskopie pomocí FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) interferometru MilkoScan FT 120 (Foss Analytical A/S, Dánsko) kalibrovaného dle ČSN ISO 1871. Průměrné hodnoty kaseinu v mléce vzorku krav krmných běžnou KD a KD s přídatkem huminových látek jsou znázorněny v Grafu 11.

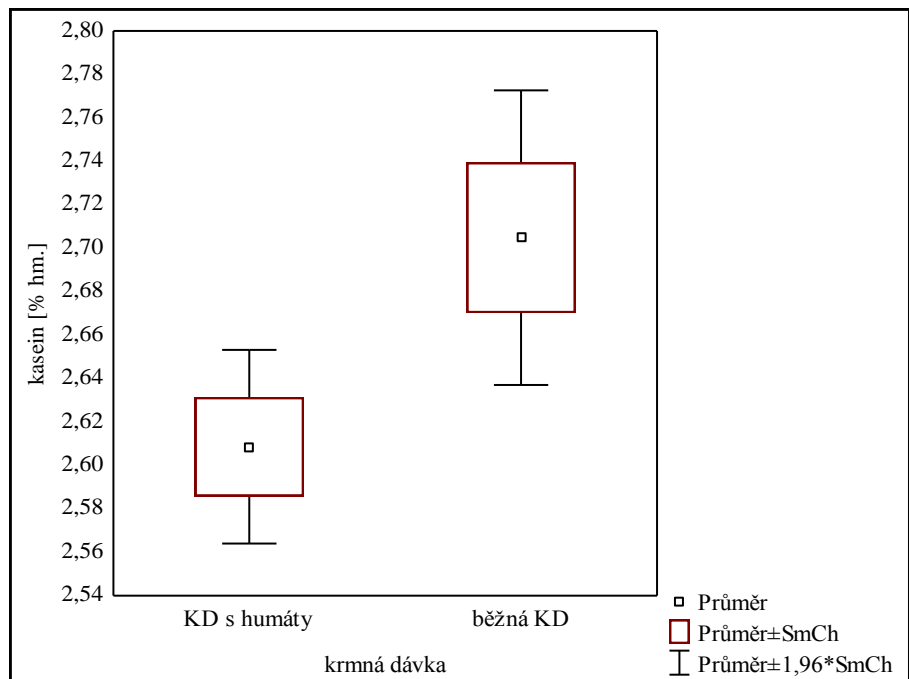
Výsledky statistické analýzy závislosti obsahu kaseinu v mléce na zvolené KD jsou znázorněny v Grafu 12. Statistickým vyhodnocením dat byl zjištěn na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) statisticky významný rozdíl v obsahu kaseinu v mléce dojnic krmných běžnou KD a mléce dojnic krmných KD s humáty ($P = 0,02$). Lze tedy zamítnout hypotézu (H_0), že je obsah kaseinu v mléce dojnic krmných běžnou KD a v mléce dojnic krmných KD s humáty srovnatelný.

V případě hypotézy H_0 nebyl splněn předpoklad homogenity rozptylů, k vyhodnocení byl proto využit neparametrický Kruskal – Wallisův test. Na základě jeho výsledků lze s pravděpodobností 95 % zamítnout hypotézu (H_0) o konstantnosti obsahu kaseinu v čase ($P < 0,01$). Statisticky průkazný rozdíl byl zjištěn mezi odběry 1 - 7 a 2 - 7.

Graf 11: Porovnání obsahu kaseinu v mléce dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření \pm 95% interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)



Graf 12: Krabicový graf závislosti obsahu kaseinu v mléce na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)



Procentuální vyjádření změn obsahu kaseinu v analyzovaných vzorcích mléka je uvedeno v Tabulkách 19 a 20. Nárůst obsahu kaseinu ve vzorcích je patrný ve skupině dojnic krmených KD s humáty. Oproti tomu v kontrolní skupině dojnic nebyl zaznamenán jednoznačný trend závislosti obsahu kaseinu na počtu odběrů (čase). Vyšší celkový nárůst obsahu kaseinu (o 16,4 %) byl zaznamenán v mléce dojnic krmených KD s humáty oproti kontrolnímu vzorku (o 3,0 %). Mezi nárůstem obsahu kaseinu na konci odběrů (1-7) u mléka dojnic krmených KD s humáty a mléka dojnic krmených běžnou KD byl prokázán statisticky průkazný rozdíl ($P = 0,01$) na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$).

Tabulka 19: Procentuální vyjádření změn obsahu kaseinu v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

KD s humáty	Průměrný obsah kaseinu [% hm.]	Změny v obsahu kaseinu [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	2,5	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	2,4	98,0	-2,0	pokles
odběr 3	2,6	106,1	6,1	nárůst
odběr 4	2,7	108,4	8,4	nárůst
odběr 5	2,6	104,1	4,1	nárůst
odběr 6	2,6	106,7	6,7	nárůst
odběr 7	2,9	116,4	16,4	nárůst

Tabulka 20: Procentuální vyjádření změn obsahu kaseinu v mléce dojnic krmených běžnou KD v průběhu experimentu

běžná KD	Průměrný obsah kaseinu [% hm.]	Změny v obsahu kaseinu [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	2,7	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	2,7	99,8	-0,2	pokles
odběr 3	2,7	98,9	-1,1	pokles
odběr 4	2,8	103,8	3,8	nárůst
odběr 5	2,7	102,4	2,4	nárůst
odběr 6	2,7	100,2	0,2	nárůst
odběr 7	2,7	103,0	3,0	nárůst

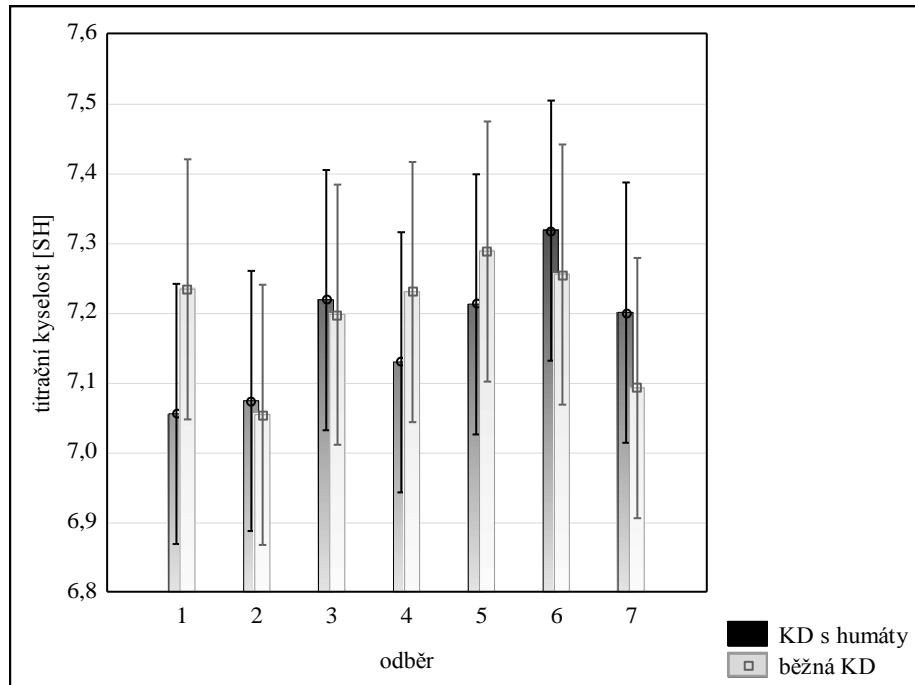
5.7 Vliv přídavku huminových látek do krmné dávky dojnic na titrační kyselost (*TK*) mléka

Titrační kyselost mléka dojnic krmených běžnou KD a KD s přídavkem humátů byla stanovena metodou dle Soxhlet - Henkela. Průměrné hodnoty titrační kyselosti mléka vzorku krav krmených běžnou KD a KD s přídavkem huminových látek jsou znázorněny v Grafu 13.

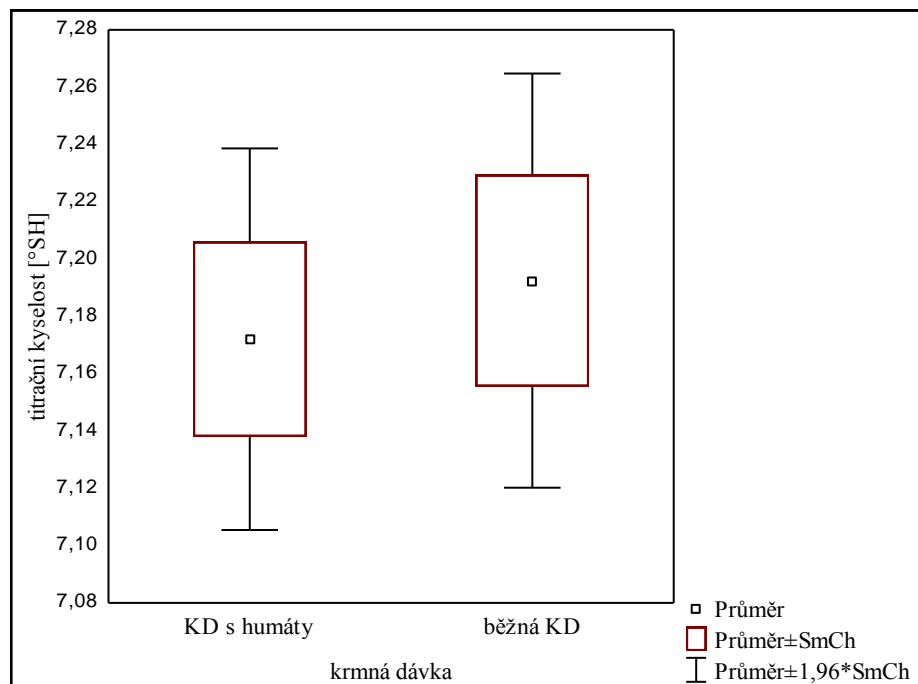
Výsledky statistické analýzy závislosti hodnot titrační kyselosti mléka na zvolené KD jsou znázorněny v Grafu 14. Statistickým vyhodnocením dat nebyl zjištěn na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) statisticky významný rozdíl v hodnotách titrační kyselosti v mléce dojnic krmených běžnou KD a mléce dojnic krmených KD s humáty ($P = 0,68$). Nelze tedy zamítnout hypotézu (H_0), že je titrační kyselost mléka dojnic krmených běžnou KD a mléka dojnic krmených KD s humáty srovnatelná.

V případě hypotézy H_0 byl splněn předpoklad homogenity rozptylů, k vyhodnocení byla proto využita analýza rozptylu hlavních efektů. Na základě jejích výsledků nelze s pravděpodobností 95 % zamítnout hypotézu (H_0) o konstantnosti hodnot titrační kyselosti v čase ($P = 0,28$). Na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) neexistuje statisticky významný rozdíl v hodnotách titrační kyselosti v jednotlivých odběrech v mléce dojnic krmených KD s humáty a v mléce dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty *TK* všech analyzovaných vzorků spadaly do intervalu hodnot titrační kyselosti normálního syrového mléka (6,2 – 7,8 SH) (Wattiaux, 2006).

Graf 13: Porovnání hodnot titrační kyselosti mléka dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření \pm 95% interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)



Graf 14: Krabicový graf závislosti hodnot titrační kyselosti mléka na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)



Procentuální vyjádření změn hodnot titrační kyselosti v analyzovaných vzorcích mléka je uvedeno v Tabulkách 21 a 22. Na základě získaných výsledků nelze určit jednoznačný trend závislosti *TK* na počtu odběrů (čase) u hodnocených vzorků (dojnice krmené KD s humáty a dojnice krmené běžnou KD) a lze spíše usuzovat na mírný nárůst až konstantnost tohoto fyzikálně - chemického parametru v čase dle výsledků statistické analýzy.

Tabulka 21: Procentuální vyjádření změn hodnot titrační kyselosti (*TK*) mléka dojníc krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

KD s humáty	Průměrné hodnoty TK [SH]	Změny v hodnotách TK [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	7,1	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	7,1	100,3	0,3	nárůst
odběr 3	7,2	102,4	2,4	nárůst
odběr 4	7,1	101,0	1,0	nárůst
odběr 5	7,2	102,2	2,2	nárůst
odběr 6	7,3	103,8	3,8	nárůst
odběr 7	7,2	102,1	2,1	nárůst

Tabulka 22: Procentuální vyjádření změn hodnot titrační kyselosti (*TK*) mléka dojníc krmených běžnou KD v průběhu experimentu

běžná KD	Průměrné hodnoty TK [SH]	Změny v hodnotách TK [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	7,2	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	7,1	97,7	-2,3	pokles
odběr 3	7,2	99,7	-0,3	pokles
odběr 4	7,2	100,2	0,2	nárůst
odběr 5	7,3	101,0	1,0	nárůst
odběr 6	7,3	100,4	0,4	nárůst
odběr 7	7,1	98,3	-1,7	pokles

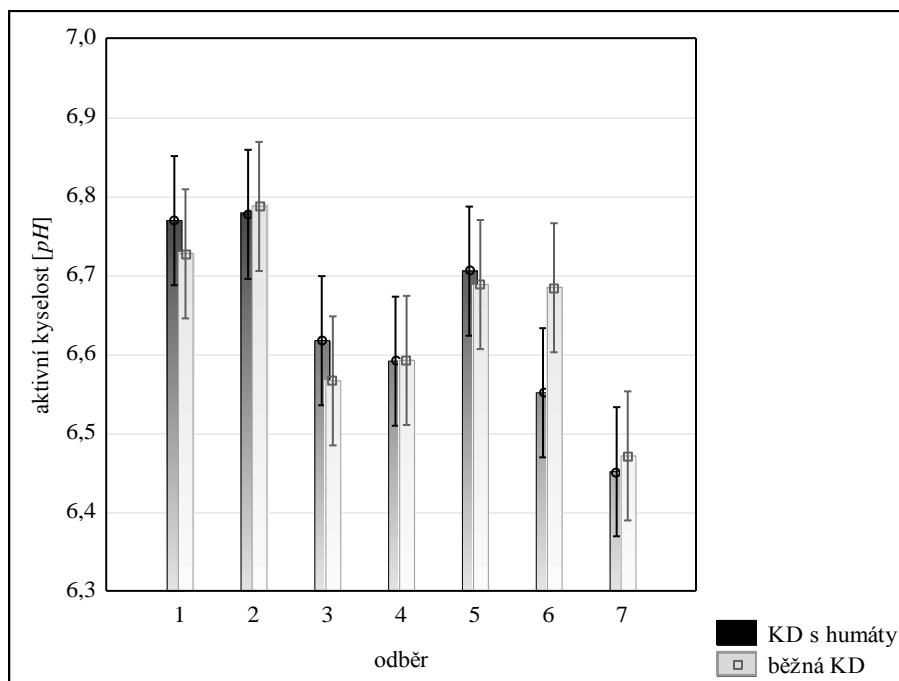
5.8 Vliv přídatku huminových látek do krmné dávky dojnic na aktivní kyselost (pH) mléka

Aktivní kyselost (pH) mléka dojnic krmných běžnou KD a KD s přídatkem humátů byla stanovena pomocí pH metru se skleněnou elektrodou kalibrovaného v rozmezí 4 až 7 roztoky pufrů. Průměrné hodnoty pH mléka vzorku krav krmných běžnou KD a KD s přídatkem huminových látek jsou znázorněny v Grafu 15.

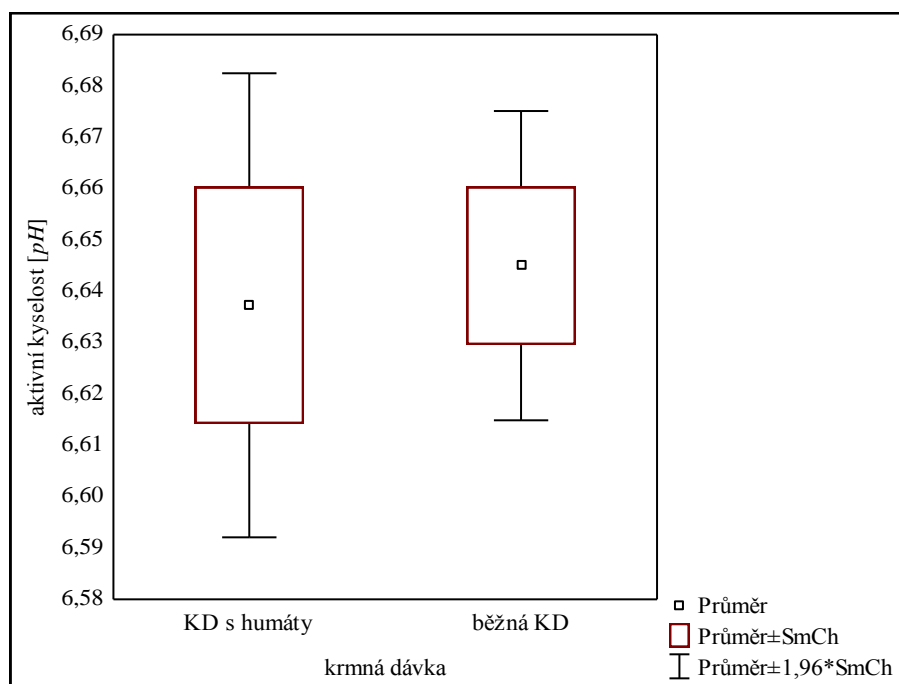
Výsledky statistické analýzy závislosti hodnot pH mléka na zvolené KD jsou znázorněny v Grafu 16. Statistickým vyhodnocením dat nebyl zjištěn na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) statisticky významný rozdíl v hodnotách pH mléka dojnic krmných běžnou KD a mléka dojnic krmných KD s humáty ($P = 0,78$). Nelze tedy zamítnout hypotézu (H_{01}), že je pH mléka dojnic krmných běžnou KD a mléka dojnic krmných KD s humáty srovnatelná.

V případě hypotézy H_{02} nebyl splněn předpoklad homogenity rozptylů, k vyhodnocení byl proto využit neparametrický Kruskal – Wallisův test. Na základě jeho výsledků lze s pravděpodobností 95 % zamítnout hypotézu (H_{02}) o konstantnosti hodnot aktivní kyselosti (pH) v čase ($P < 0,00$). Statisticky průkazný rozdíl byl zjištěn mezi odběry 1 - 3, 1 - 4, 1 - 7, 2 - 3, 2 - 4, 2 - 7, 5 - 7 a rovněž 6 - 7. Hodnoty pH všech analyzovaných vzorků však spadaly do intervalu hodnot aktivní kyselosti čerstvě nadojeného syrového mléka (6,4 – 6,8) (Wattiaux, 2006).

Graf 15: Porovnání hodnot aktivní kyselosti (pH) mléka dojnic krměných běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření \pm 95% interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)



Graf 16: Krabicový graf závislosti hodnot aktivní kyselosti (pH) mléka na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)



Procentuální vyjádření změn hodnot aktivní kyselosti v analyzovaných vzorcích mléka je uvedeno v Tabulkách 23 a 24. Na základě získaných výsledků nelze určit jednoznačný trend závislosti pH na počtu odběrů (čase) u hodnocených vzorků (dojnice krmené KD s humáty a dojnice krmené běžnou KD) a lze spíše usuzovat na mírný pokles až konstantnost tohoto fyzikálně - chemického parametru v čase.

Tabulka 23: Procentuální vyjádření změn hodnot aktivní kyselosti (pH) mléka dojníc krmených běžnou KD v průběhu experimentu

KD s humáty	Průměrné hodnoty aktivní kyselosti [pH]	Změny v hodnotách aktivní kyselosti [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	6,78	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	6,78	100,0	0,0	=
odběr 3	6,62	97,6	-2,4	pokles
odběr 4	6,59	97,2	-2,8	pokles
odběr 5	6,71	98,9	-1,1	pokles
odběr 6	6,55	96,6	-3,4	pokles
odběr 7	6,45	95,2	-4,8	pokles

Tabulka 24: Procentuální vyjádření změn hodnot aktivní kyselosti (pH) mléka dojníc krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

běžná KD	Průměrné hodnoty aktivní kyselosti [pH]	Změny v hodnotách aktivní kyselosti [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	6,73	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	6,79	100,9	0,9	nárůst
odběr 3	6,57	97,6	-2,4	pokles
odběr 4	6,59	98,0	-2,0	pokles
odběr 5	6,69	99,4	-0,6	pokles
odběr 6	6,68	99,4	-0,6	pokles
odběr 7	6,47	96,2	-3,8	pokles

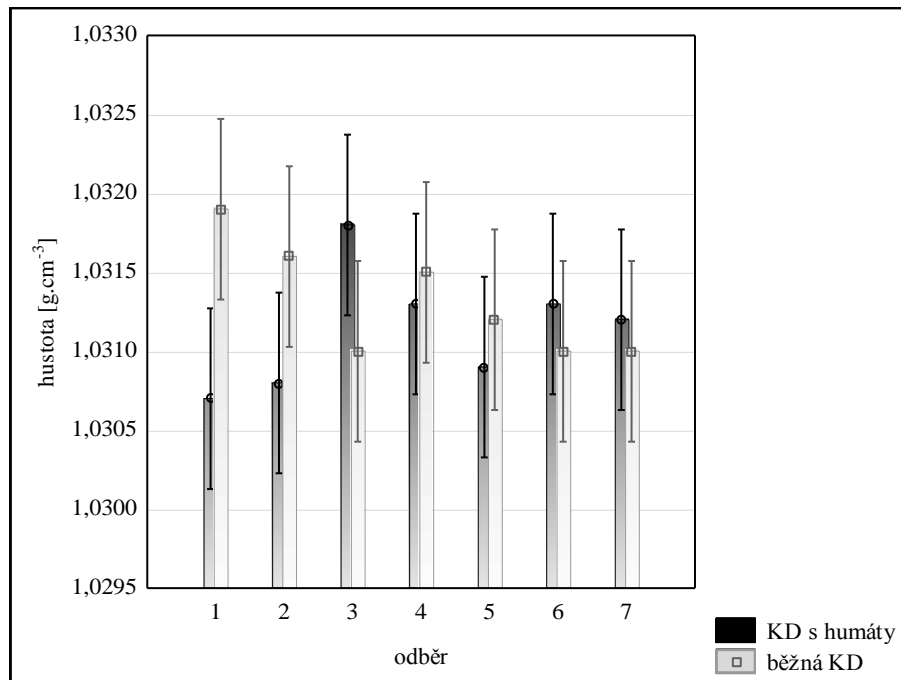
5.9 Vliv přídatku huminových látek do krmné dávky dojnic na hustotu mléka

Hustota mléka dojnic krmných běžnou KD a KD s přídatkem humátů byla stanovena metodou infračervené spektroskopie pomocí FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) interferometru MilkoScan FT 120 (Foss Analytical A/S, Dánsko). Průměrné hodnoty hustoty mléka vzorku krav krmných běžnou KD a KD s přídatkem huminových látek jsou znázorněny v Grafu 17.

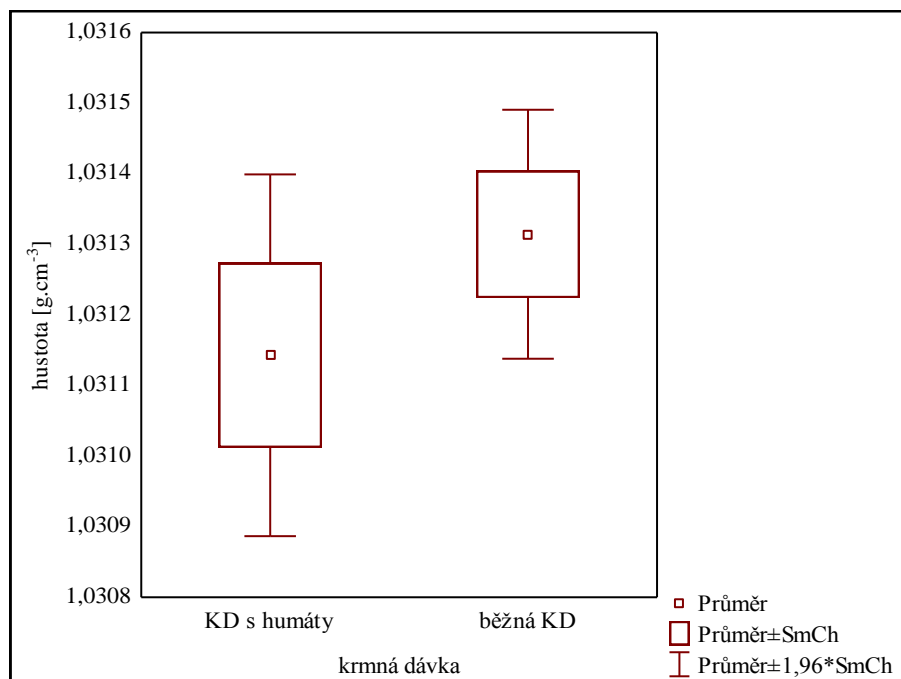
Výsledky statistické analýzy závislosti hodnot hustoty mléka na zvolené KD jsou znázorněny v Grafu 18. Statistickým vyhodnocením dat nebyl zjištěn na zvolené hladině významnosti ($\alpha = 0,05$) statisticky významný rozdíl v hodnotách hustoty mléka dojnic krmných běžnou KD a mléka dojnic krmných KD s humáty ($P = 0,28$). Nelze tedy zamítnout hypotézu (H_0), že jsou hodnoty hustoty mléka dojnic krmných běžnou KD a mléka dojnic krmných KD s humáty srovnatelné.

V případě hypotézy H_0 nebyl splněn předpoklad homogenity rozptylů, k vyhodnocení byl proto využit neparametrický Kruskal – Wallisův test. Na základě jeho výsledků nelze s pravděpodobností 95 % zamítnout hypotézu (H_0) o konstantnosti hodnot hustoty v čase ($P = 0,73$). Hodnoty hustoty všech analyzovaných vzorků spadaly do intervalu hodnot hustoty normálního syrového mléka ($1,028 - 1,032 \text{ g.cm}^{-3}$) (Wattiaux, 2006).

Graf 17: Porovnání hodnot hustoty mléka dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření \pm 95% interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)



Graf 18: Krabicový graf závislosti hodnot hustoty mléka na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)



Procentuální vyjádření změn hustoty v analyzovaných vzorcích mléka je uvedeno v Tabulkách 25 a 26. Na základě získaných výsledků nelze určit jednoznačný trend závislosti hustoty na počtu odběrů (čase) u hodnocených vzorků (dojnice krmené KD s humáty a dojnice krmené běžnou KD) a lze spíše usuzovat na konstantnost tohoto fyzikálně - chemického parametru v čase dle výsledků statistické analýzy.

Tabulka 25: Procentuální vyjádření změn hodnot hustoty mléka dojníc krmených běžnou KD v průběhu experimentu

KD s humáty	Průměrné hodnoty hustoty [g.cm ⁻³]	Změny v hodnotách hustoty [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	1,031	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	1,031	100,0	0,0	=
odběr 3	1,032	100,1	0,1	nárůst
odběr 4	1,031	100,1	0,1	nárůst
odběr 5	1,031	100,0	0,0	=
odběr 6	1,031	100,1	0,1	nárůst
odběr 7	1,031	100,0	0,0	=

Tabulka 26: Procentuální vyjádření změn hodnot hustoty mléka dojníc krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

běžná KD	Průměrné hodnoty hustoty [g.cm ⁻³]	Změny v hodnotách hustoty [%]	Pokles/nárůst [%]	Vyhodnocení
odběr 1	1,032	100,0	-	výchozí hodnota
odběr 2	1,032	100,0	0,0	=
odběr 3	1,031	99,9	-0,1	pokles
odběr 4	1,032	100,0	0,0	=
odběr 5	1,031	99,9	-0,1	pokles
odběr 6	1,031	99,9	-0,1	pokles
odběr 7	1,031	99,9	-0,1	pokles

5.10 Shrnutí

Následující tabulka (Tabulka 27) shrnuje statistickou průkaznost všech stanovených hypotéz uvedených v kapitole 4.2.7 pro jednotlivé složky mléka a jeho fyzikálně – chemické parametry.

Tabulka 27: Statistické vyhodnocení hypotéz H01 a H02

Složka/parametr	Statisticky průkazný rozdíl ($\alpha = 0,05$)	
	H01	H02
sušina	NE	ANO
tuk	NE	ANO
tukuprostá sušina	NE	NE
laktóza	ANO	NE
hrubé bílkoviny	ANO	ANO
kasein	ANO	ANO
titrační kyselost	NE	ANO
aktivní kyselost	NE	ANO
hustota	NE	NE

6 Diskuze

Cílem diplomové práce bylo stanovení vlivu krmiva s přidavkem huminových látek na obsah základních složek mléka (sušiny, tuku, tukuprosté sušiny, laktózy, hrubých bílkovin a kaseinu) a jeho vybraných fyzikálně - chemických parametrů (titrační kyselost, aktivní kyselost a hustota).

Všechny analyzované vzorky mléka obou skupin vyšetřovaných zvířat (dojnic krmených KD s přidavkem humátů a kontrolního vzorku dojnic krmených běžnou KD) splňovaly v obsahu základních složek a hodnotách fyzikálně - chemických parametrů legislativní požadavky dané Vyhláškou č. 77/2003 Sb.

Z výsledků uvedených v kapitole 5 vyplývá, že nebyl prokázán statisticky významný rozdíl ($\alpha = 0,05$) mezi průměrnými hodnotami obsahu sušiny (13,0 % hm.), tuku (4,3 % hm.) a tukuprosté sušiny (8,7 % hm.) v mléce dojnic krmených KD s přidavkem humátů a mléce dojnic krmených běžnou KD (obsahy složek a hodnoty parametrů byly srovnatelné). Rovněž nebyl prokázán statisticky významný rozdíl ($\alpha = 0,05$) v jejich hustotě ($1,031 \text{ g.cm}^{-3}$), titrační (7,8 SH) a aktivní (pH 6,6) kyselosti. Ve vzorcích mléka dojnic krmených KD s přidavkem humátů a běžnou KD byl naopak prokázán statisticky významný rozdíl ($\alpha = 0,05$) v obsahu laktózy (4,9 % hm.; 4,8 % hm.), hrubých bílkovin (3,4 % hm.; 3,5 % hm.) a kaseinu (2,6 % hm.; 2,7 % hm.). Vzhledem k tomu, že získané trendy nejsou v souladu s trendy vyhodnocení celkového procentuálního rozdílu mezi prvním odběrem a odběry dalšími, které odstínilo vliv různého stadia laktace, plemena a individuality dojnice, lze je přisuzovat působení právě těchto vlivů (Stádník a kol., 2000; Gajdůšek, 2003; Hučko a kol., 2005; Křížová a Svobodová, 2010).

Na základě vyhodnocení celkové procentuální změny obsahu základních složek a vybraných fyzikálně - chemických parametrů byl prokázán nárůst obsahu sušiny (o 6,9 %), tuku (o 5,8 %), tukuprosté sušiny (o 8,9 %), hrubých bílkovin (o 16,7 %) a kaseinu (o 16,4 %) v mléce dojnic živených KD s přidavkem humátů. Stejný trend byl pozorován i v kontrolní skupině dojnic živených běžnou KD, avšak jednalo se o nárůst nižší (sušina o 2,6 %; tuk o 5 %; tukuprostá sušina o 1,6 %) a statisticky významně ($\alpha = 0,05$) nižší (hrubé bílkoviny o 1,9 %; kasein o 3,0 %). Toto zjištění je v souladu s výsledky studií Islama a kol. (2005) a Wang a kol. (2008), jež poukazují na zvýšení přirozené odolnosti a imunity zvířat a zlepšení absorpce a využití živin jejich organismem při aplikaci huminových látek, což by mohlo vést ke zvýšení obsahu některých živin také v jejich mléce.

Celková procentuální změna obsahu laktózy a hodnot titrační kyselosti, aktivní kyselosti a hustoty byla prokázána u obou skupin dojnic jako statisticky nevýznamná ($\alpha = 0,05$). Lze tedy usuzovat, že tyto parametry přidavkem huminových látek ke KD ovlivněny nebyly.

Vezmeme-li v úvahu, že krmnými zásahy lze ovlivnit obsah a množství proteinu v mléce pouze do vyčerpání genetické kapacity zvířete, tedy např. obsahem proteinu v KD, optimalizací ruminální fermentace, zahrnutím RUP (protein nedegradovatelný v bachoru), aminokyselin v ruminálně chráněné formě do KD, maximálním celkovým energetickým příjmem na den, doplňky tuku či píce a pastvou, lze tedy uzavřít, že přídavek produktu Humafit s obsahem humátu draselného statisticky významně ($\alpha = 0,05$) zvyšoval obsah proteinů, resp. hrubých bílkovin a kaseinu v analyzovaných vzorcích mléka. Získané výsledky jsou v souladu s výsledky studií Islama a kol. (2005) a Wanga a kol. (2008), jež poukazují na zlepšení absorpce a využití živin organismem zvířat při aplikaci huminových látek, které by mohlo vést ke zvýšení obsahu některých živin v jejich mléce.

Dále byla nalezena časová proměnlivost obsahu sušiny, tuku, hrubých bílkovin, kaseinu a hodnot aktivní kyselosti. Časovou závislost výše jmenovaných složek a *pH* lze odůvodnit kombinací vlivu různého stadia laktace, plemena, individuality dojnice a výživy (Ostersen et al., 1997; Doležal, 2000; Wang et al., 2008).

Budoucí studie na dané téma budou zaměřeny na vliv humátů v KD dojnic na minoritní složky mléka (např. popeloviny, profil mastných kyselin) a jeho technologické vlastnosti (fermentabilitu, syřitelnost apod.).

7 Závěr

Cílem diplomové práce bylo posoudit složení a kvalitu mléka dojnic krmených běžnou krmnou dávkou a krmnou dávkou obohacenou o huminové látky. Všechny hodnocené vzorky splňovaly v parametrech analyzovaných v této práci legislativní požadavky dané Vyhláškou č. 77/2003 Sb.

Statistickým vyhodnocením bylo zjištěno, že při krmení dojnic KD obohacenou o humáty dochází k vyššímu nárůstu ($\alpha = 0,05$) obsahu hrubých bílkovin (o 16,7 %) a kaseinu (o 16,4 %) v jejich mléce, než je nárůst těchto složek v mléce kontrolní skupiny zvířat (hrubé bílkoviny o 1,9 %; kasein o 3,0 %). Vyšší nárůst byl rovněž zaznamenán u sušiny (o 6,9 %), tuku (o 5,8 %) a tukuprosté sušiny (o 8,9 %) mléka při krmení KD obohacenou o humáty oproti mléku normálně krmených dojnic (sušina o 2,6 %; tuk o 5 %; tukuprostá sušina o 1,6 %), ale nejednalo se o zvýšení statisticky průkazné ($\alpha = 0,05$). V případě laktózy (4,9 % hm.), hustoty ($1,031 \text{ g.cm}^{-3}$), titrační (7,2 SH) a aktivní kyselosti (pH 6,6) nebyl pozorován vliv změny krmné dávky na jejich hodnoty ($\alpha = 0,05$).

Dále byla zjištěna časová závislost ($\alpha = 0,05$) obsahu sušiny, tuku, hrubých bílkovin, kaseinu a aktivní kyselosti. Naopak obsah tukuprosté sušiny, laktózy, titrační kyselost a hustota se s časem neměnily ($\alpha = 0,05$).

8 Seznam literatury

- Agazzi, A., Cigalino, G., Mancin, G., Savoini, G., Dell'Orto, V. 2007. Effects of dietary humates on growth and an aspect of cell-mediated immune response in newborn kids. 72 (2). 242-245.
- Codex Alimentarius (Milk and Milk Products). 2011. FAO and WHO. Italy. p. 244. ISBN: 978-92-5-105837-4.
- Creamer, L. K., MacGibbon, A. K. H. 1996. Some recent advances in the basic chemistry of milk proteins and lipids. International Dairy Journal. 6 (6). 539-568.
- ČSN ISO 1871. Potraviny a krmiva - Obecné pokyny pro stanovení dusíku metodou podle Kjeldahla. 2010. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha. 11 s.
- ČSN ISO 6731. Mléko, smetana a zahuštěné neslazené mléko – Stanovení obsahu celkové sušiny (Referenční metoda). 2011. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha. 9 s.
- Doležal, O. 2000. Mléko, dojení, dojírny. 1. vyd. Agrospoj. Praha. 241 s. ISBN:
- Dřevjaný, L., Kozel, V., Padrůněk, S. 2004. Holštýnský svět. ZEA Sedmihorky, s.r.o. ČR. 344 s.
- Dvořáková, J., Kuprová, V., Stádník, L., Louda, F. 2006. Vliv genotypu pro bílkoviny na mléčnou užitkovost. Sborník referátů z mezinárodní konference „Den mléka 2006“. ČZU. Praha. 157-159. ISBN: 80-213-1498-2.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. 1998. Dairy Chemistry and Biochemistry. Blackie academic & professional. London. p. 478. ISBN: 0-412-72000-0.
- Gajdůšek, S. 2003. Laktologie. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Brno. 84 s. ISBN: 80-7157-657-3.
- Gaucheron, F. 2011. Milk and dairy products: a unique micronutrient combination. Journal of the American College of Nutrition. 30 (5). 400–409.
- Huck, J. A., Porter, N., Bushed, M. E. 1991. Effect of humates on microbial activity. Journal of General Microbiology. 137. 2321–2329.

- Hučko, B., Kodeš, A., Mudřík, Z. Obsah tuku v mléce a možnosti jeho ovlivnění krmnou dávkou [online]. 2005 [cit. 2013-27-12]. Dostupné z <http://www.agris.cz/Content/files/main_files/75/153131/33_05.pdf>.
- Chun, R. F., Adams, J. S., Hewison, M. 2011. Immunomodulation by vitamin D: implications for TB. *Expert review of clinical pharmacology*. 4 (5). 583–591.
- Illek, J. 1998. Vliv výživy dojnic na kvalitu mléka. In: Kudrna, V. (ed.). *Produkce krmiv a výživa skotu*. Agrospoj. Praha. 362 s. ISBN: 80-239-4241-7.
- Islam, K. M. S., Schuhmacher, A., Gropp, J. M. 2005. Humic Acid Substances in Animal Agriculture. *Pakistan Journal of Nutrition*. 4 (3). 126-134.
- Kirchgessner, M., Friesecke, H., Koch, G. 1967. Nutrition and the composition of milk. Lockwood. London. p. 273. OCLC: 4256274.
- Kocabağlı, N., Alp, M., Acar, N., Kahraman, R. 2002. The effects of dietary humate supplementation on boiler growth and carcass yield. *Poultry Science*. 81. 227–230.
- Korhonen, H. J. 2009. Bioactive Components in Bovine Milk. In: Park, Y. W. (ed.). *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. Wiley-Blackwell. USA. p. 15-42. ISBN: 978-0-8138-1982-2.
- Krishnan, A. V., Feldman, D. 2011. Mechanisms of the anti-cancer and anti-inflammatory actions of vitamin D. *Annual review of pharmacology and toxicology*. Annual Reviews. 51. 311–336.
- Křížová, L., Svobodová, J. Vliv výživy zvířat na kvalitu masa, vajec a mléka [online]. *Vzdělávací seminář Vliv výživy hospodářských zvířat na kvalitu živočišných produktů s důrazem na zdraví člověka (Program rozvoje venkova ČR)*. 25. března 2010 [cit. 2013-27-12]. Dostupné z <http://www.vuchs.cz/akce/2009-11_2010-03-Vliv-vyzivy-hospodarskych-zvirat-na-kvalitu-zivocisnych-produktu/prezentace/Krizova-Svobodova_Vliv-vyzivy-zvirat-na-kvalitu-masa-vajec-a-mleka.pdf>.
- Kudrna, V., Homolka, P. Vliv krmné dávky dojnic na množství a kvalitu mléčného tuku [online]. *Vědecký výbor výživy zvířat – VÚŽV, Praha - Uhřetěves*. Prosinec 2007 [cit. 2013-27-12]. Dostupné z <<http://www.vuzv.cz/sites/Studei%20Kudrna%20vliv%20krmne%20davky%20dojnic%20na%20mlecny%20tuk.pdf>>.

- Larson, L. L., Wallen, S. E., Owen, F. G., Lowry, S. R. 1983. Relation of Age, Season, Production, and Health Indices to Iodine and Beta - Carotene Concentrations in Cow's Milk. *Journal of Dairy Science*. 66 (12). 2557-2562.
- Leerbeck, E., Søndergaard, H. 1980. The total content of vitamin D in human milk and cow's milk. *The British journal of nutrition*. 44 (1). 7–12.
- Lindmark - Månsson, H., Åkesson, B. 2000. Antioxidative factors in milk. *The British Journal of Nutrition*. 84. 103–110.
- Little, E. M., Holt, C. 2004. An equilibrium thermodynamic model of the sequestration of calcium phosphate by casein phosphopeptides. *European Biophysics Journal*. 33 (5). 435-447.
- MacGibbon, A. K. H., Taylor, M. W. 2006. Composition and Structure of Bovine Milk Lipids. In: Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. (eds.). *Advanced Dairy Chemistry: Volume 2: Lipids*. 3rd ed. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York. p. 801. ISBN: 978-0-387-26364-9.
- Majee, D. N., Schwab, E. C., Bertics, S. J., Seymour, W. M., Shaver, R. D. 2003. Lactation performance by dairy cows fed supplemental biotin and a B - vitamin blend. *Journal of Dairy Science*. 86. 2106–2112.
- Mamede, A. C., Tavares, S. D., Abrantes, A. M., Trindade, J., Maia, J. M., Botelho, M. F. 2011. The Role of Vitamins in Cancer: A Review. *Nutrition and Cancer*. 63 (4). 479–494.
- McDowell, L. R. 2003. *Minerals in Animal and Human Nutrition*. 2nd ed. Elsevier Science. The Netherlands. p. 644. ISBN: 0-444-51367-1.
- McGann, T. C., Buchheim, W., Kearney, R. D., Richardson, T. 1983. Composition and ultrastructure of calcium phosphate - citrate complexes in bovine milk systems. *Biochimica et Biophysica Acta*. 760 (3). 415–420.
- Metzger, L. Humic & Fulvic acids [online]. New AG International. listopad 2009 [cit. 2013-12-26]. Dostupné z <<http://www.humintech.com/pdf/humicfulvicacids.pdf>>.
- Meydani, M. 2000. Vitamin E and prevention of heart disease in high - risk patients. *Nutrition Reviews*. 58 (9). 278–281.
- Navrátilová, P., Králová (Dračková), M., Janštová, B., Přidalová, H., Cupáková, Š., Vorlová, L. 2012. *Hygiena produkce mléka*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Brno. 129 s. ISBN: 978-80-7305-625-4.

Opletal, L., Šimerda, B. Přírodní látky a jejich biologická aktivita. 3. Metabolity rostlin využitelné pro zlepšení kvality potravin živočišného původu [online]. Ministerstvo zemědělství ČR – Vědecký výbor pro výživu zvířat a Výzkumný ústav pro výživu zvířat Praha - Uhřetěves. červen 2009 [cit. 2014-01-03]. Dostupné z <<http://www.vuzv.cz/sites/OpletalMetabolityRostlin.pdf>>.

Opletal, L., Šimerda, B. Nové a potenciální doplňkové látky do krmiv přírodního původu [online]. Ministerstvo zemědělství ČR – Vědecký výbor pro výživu zvířat a Výzkumný ústav pro výživu zvířat Praha - Uhřetěves. květen 2005 [cit. 2014-01-03]. Dostupné z <<http://www.vuzv.cz/sites/File/vybor/Opletal-Nove%20a%20potencialni%20doplnekove%20l.pdf>>.

Ostensen, S., Foldager, J., Hermansen, J. E. 1997. Effects of stage of lactation, milk protein genotype and body condition at calving on protein composition and renneting properties of bovine milk. *Journal of Dairy Research*. 64 (2). 207-219.

Park, Y. W. 2009. *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. Wiley-Blackwell. USA. p. 426. ISBN: 978-0-8138-1982-2.

Parodi, P. W. 1999. Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. *Journal of Dairy Science*. 82 (6). 1339–1349.

Patel, A., Zhan, Y. 2012. Vitamin D in cardiovascular disease. *International journal of preventive medicine*. 3 (9). 664.

Pereira, P. C. Milk nutritional composition and its role in human health [online]. *Nutrition*. 30. října 2013 [cit. 2013-11-10]. Dostupné z <<http://www.sciencedirect.com/infodroje.czu.cz/science/article/pii/S0899900713004607#>>.

Rath, N. C., Huff, W. E., Huff, G. R. 2006. Effects of humic acid on broiler chicken. *Poultry Science*. 85. 410–414.

Ryšánek, D. Vliv mastitid na jakost a zdravotní nezávadnost mléka [online]. Výzkumný ústav veterinárního lékařství. květen 2007 [cit. 2013-27-12]. Dostupné z <http://www.vri.cz/userfiles/image/pracovnici/Rysanek/kapit_predn/Vliv_mastitid_na_jakost_mleka.pdf>.

Sağdıç, O., Dönmez, M., Demirci, M. 2004. Comparison of characteristics and fatty acid profiles of traditional Turkish yayik butters produced from goats', ewes' or cows' milk. *Food control*. 15 (6). 485-490.

- Santschi, D. E., Berthiaume, R., Matte, J. J., Mustafa, A. F., Girard, C. L. 2005. Fate of supplementary B - vitamins in the gastrointestinal tract of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 88. 2043–2054.
- Schieberle, P., Gassenmeier, K., Guth, H., Sen, A., Grosch, W. 1993. Character impact odour compounds of different kinds of butter. *LWT - Food Science and Technology*. 26 (4). 347-356.
- Singh, H., Flynn, A., Fox, P. F. 1989. Binding of zinc to bovine and human milk proteins. *The Journal of Dairy Research*. 56 (2). 235–248.
- Smit, L. E., Schönfeldt, H. C., Beer, W. H. J., Smith, M. F. 2000. The Effect of Locality and Season on the Composition of South African Whole Milk. *Journal of Food Composition and Analysis*. 13 (4). 345-367.
- Stádník, L., Louda, F., Toušová, R., Scheinherrová, K. Vliv výživy dojnic na obsah bílkovin v mléce [online]. AGRIS. 18. května 2000 [cit. 2013-27-12]. Dostupné z <http://www.agris.cz/zemedelstvi?id_a=109752>.
- Stevenson, F. J. 1994. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. 2nd ed. John Wiley & Sons. New York. 496 p. ISBN: 978-0-471-59474-1.
- Susic, M. From humic acids to petroleum [online]. Scientific report. 2009 [cit. 2014-01-02]. Dostupné z <<http://humicacid.wordpress.com>>.
- Suttle, N. F. 2010. *The mineral nutrition of livestock*. 4th ed. CABI. United Kingdom. p. 544. ISBN: 978-1-84593-472-9.
- Šustová, K., Sýkora, V. Zpracování mléka [online]. Portál e - learningových prezentací - Inovace studijních programů AF MENDELU. 22. srpna 2013 [cit. 2013-12-28]. Dostupné z <http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=408>.
- Thompson, S. Y., Henry, K. M., Kon, S. K. 1964. Factors affecting the concentration of vitamins in milk: I. Effect of breed, season and geographical location on fat - soluble vitamins. *Journal of Dairy Research*. 31 (1). 1-25.
- Underwood, E. J., Suttle, N. F. 1999. *The mineral nutrition of livestock*. 3rd ed. CABI Publishing. United Kingdom. p. 614. ISBN: 0-85199-128-9.

Urbánková, E. Izolace bílkovin z přírodních zdrojů (izolace kaseinu z mléka) [online]. Oficiální výukové stránky Fyzikálního ústavu UK (Oddělení biofyziky). 24. leden 2007 [cit. 2013-12-28]. Dostupné z <[http://alma.karlov.mff.cuni.cz/biofyzika/english/vyuka/Izolace Kaseinu.pdf](http://alma.karlov.mff.cuni.cz/biofyzika/english/vyuka/Izolace_Kaseinu.pdf)>.

Van Poppel, G. 1993. Carotenoids and cancer: an update with emphasis on human intervention studies. *European Journal of Cancer*. 29 (9). 1335–1344.

Van Rensburg, C. E. J., Malfeld, S. C. K., Dekker, J. 2001. Topical application of oxifulvic acid suppresses the cutaneous immune response in mice. *Drug Development Research*. 53 (1). 29–32.

Varga, G. A., Ishler, V. A. Managing nutrition for optimal milk components [online]. Proceedings from Western Dairy Management Conference (Nevada). March 2007 [cit. 2014-01-03]. Dostupné z <<http://www.wdmc.org/2007/Varga.pdf>>.

Velišek, J., Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravin I. OSSIS*. Tábor. 602 s. ISBN: 978-80-86659-15-2.

Vokurka, M., Hugo, J. 1995. *Praktický slovník medicíny*. 4. vydání. Nakladatelství Maxdorf. Praha. 477 s. ISBN 80-85800-28-4.

Walstra, P., Geurts, T. J., Noomen, A., Jellema, A., van Boekel, M. A. J. S. 1999. *Dairy Technology: principles of milk properties and processes*. Marcel Dekker, Inc. New York. p. 727. ISBN: 0-8247-0228-X.

Walstra, P., Wouters, J. T. M., Geurts, T. J. 2006. *Dairy Science and Technology*. 2nd ed. CRC Press. United States of America. p. 808. ISBN-10: 0-8247-2763-0.

Wang, Q., Chen, Y. J., Yoo, J. S., Kim, H. J., Cho, J. H., Kim, I. H. 2008. Effects of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. *Livestock Science*. 117. 270-274.

Wattiaux, M. A. Milk Composition and Nutritional Value, Chapter 19: Milk Composition and Nutritional Value [online]. The Babcock Institute for International Dairy Research and Development, e-Learning. 2006 [cit. 2014-01-02]. Dostupné z <http://bizplan-uz.com/learning/course/?COURSE_ID=6&LESSON_ID=549>.

Weller, R. F., Marley, Ch. L., Moorby, J. M. 2007. Effects of organic and conventional feeding regimes and husbandry methods on the quality of milk and dairy products. In:

Cooper, J., Niggli, U., Leifert, C. (eds.). Handbook of organic food safety and quality. Woodhead Publishing Limited. England. p. 97-143. ISBN: 978-1-84569-010-6.

Zdražil, K. 2002. Mlékařství. ISV Nakladatelství. Praha. 127 s. ISBN: 80-86642-15-1.

9 Seznam použitých zkratek

CCP	Colloidal calcium phosphate
CLA	Conjugated Linoleic Acid
FAD	Flavinadenindinukleotid
FMN	Flavinmononukleotid
KD	Krmná dávka
MK	Mastné kyseliny
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acids
RP	Rumen - protected
RUP	Rumen - undegradable protein
TMR	Total mixed ration
UHT	Ultra-high temperature processing
VFA	Volatile fatty acids

10 Seznamy

10.1 Seznam obrázků

Obrázek 1: Bioaktivní složky mléka a jejich potenciální využití pro zlepšení lidského zdraví

Obrázek 2: Předpokládaná struktura huminové kyseliny

Obrázek 3: Struktura krmné suroviny (produkt HUMAFIT - prášek)

10.2 Seznam tabulek

Tabulka 1: Bílkoviny v mléce

Tabulka 2: Klasifikace a zastoupení jednotlivých frakcí mléčného tuku

Tabulka 3: Zastoupení hlavních mastných kyselin v kravském mléčném tuku

Tabulka 4: Obsah minerálních látek v kravském plnotučném mléce

Tabulka 5: Obsah vitaminů skupiny B v běžných potravinách

Tabulka 6: Identifikace vzorkovaných dojnic

Tabulka 7: Složení přípravku HUMAFIT – prášek

Tabulka 8: Režim odběrů vzorků mléka

Tabulka 9: Procentuální vyjádření změn obsahu sušiny v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

Tabulka 10: Procentuální vyjádření změn obsahu sušiny v mléce dojnic krmených běžnou KD v průběhu experimentu

Tabulka 11: Procentuální vyjádření změn obsahu tuku v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

Tabulka 12: Procentuální vyjádření změn obsahu tuku v mléce dojnic krmených běžnou KD v průběhu experimentu

Tabulka 13: Procentuální vyjádření změn obsahu tukuprosté sušiny (*tps*) v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

Tabulka 14: Procentuální vyjádření změn obsahu tukuprosté sušiny (*tps*) v mléce dojnic krmených běžnou KD v průběhu experimentu

Tabulka 15: Procentuální vyjádření změn obsahu laktózy v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

Tabulka 16: Procentuální vyjádření změn obsahu laktózy v mléce dojnic krmených běžnou KD v průběhu experimentu

Tabulka 17: Procentuální vyjádření změn obsahu hrubých bílkovin v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

Tabulka 18: Procentuální vyjádření změn obsahu hrubých bílkovin v mléce dojnic krmených běžnou KD v průběhu experimentu

Tabulka 19: Procentuální vyjádření změn obsahu kaseinu v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

Tabulka 20: Procentuální vyjádření změn obsahu kaseinu v mléce dojnic krmených běžnou KD v průběhu experimentu

Tabulka 21: Procentuální vyjádření změn hodnot titrační kyselosti (*TK*) mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

Tabulka 22: Procentuální vyjádření změn hodnot titrační kyselosti (*TK*) mléka dojnic krmených běžnou KD v průběhu experimentu

Tabulka 23: Procentuální vyjádření změn hodnot aktivní kyselosti (*pH*) mléka dojnic krmených běžnou KD v průběhu experimentu

Tabulka 24: Procentuální vyjádření změn hodnot aktivní kyselosti (*pH*) mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

Tabulka 25: Procentuální vyjádření změn hodnot hustoty mléka dojnic krmených běžnou KD v průběhu experimentu

Tabulka 26: Procentuální vyjádření změn hodnot hustoty mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek v průběhu experimentu

Tabulka 27: Statistické vyhodnocení hypotéz H01 a H02

10.3 Seznam grafů

Graf 1: Porovnání obsahu sušiny v mléce dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 3 paralelních měření $\pm 95\%$ interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)

Graf 2: Krabicový graf závislosti obsahu sušiny mléka na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)

Graf 3: Porovnání obsahu tuku v mléce dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 3 paralelních měření $\pm 95\%$ interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)

Graf 4: Krabicový graf závislosti obsahu tuku v mléce na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)

Graf 5: Porovnání obsahu *tps* v mléce dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 3 paralelních měření $\pm 95\%$ interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)

Graf 6: Krabicový graf závislosti obsahu *tps* mléka na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)

Graf 7: Porovnání obsahu laktózy v mléce dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření $\pm 95\%$ interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)

Graf 8: Krabicový graf závislosti obsahu laktózy v mléce na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)

Graf 9: Porovnání obsahu hrubých bílkovin v mléce dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření $\pm 95\%$ interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)

Graf 10: Krabicový graf závislosti obsahu hrubých bílkovin v mléce na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)

Graf 11: Porovnání obsahu kaseinu v mléce dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření $\pm 95\%$ interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)

Graf 12: Krabicový graf závislosti obsahu kaseinu v mléce na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)

Graf 13: Porovnání hodnot titrační kyselosti mléka dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření $\pm 95\%$ interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)

Graf 14: Krabicový graf závislosti hodnot titrační kyselosti mléka na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)

Graf 15: Porovnání hodnot aktivní kyselosti (*pH*) mléka dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření $\pm 95\%$ interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)

Graf 16: Krabicový graf závislosti hodnot aktivní kyselosti (*pH*) mléka na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)

Graf 17: Porovnání hodnot hustoty mléka dojnic krmených běžnou KD a KD s přidavkem huminových látek. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření $\pm 95\%$ interval spolehlivosti ($\alpha = 0,05$)

Graf 18: Krabicový graf závislosti hodnot hustoty mléka na zvolené KD (KD s humáty vs. běžná KD)

11 Seznam příloh

Příloha č. 1: Naměřené hodnoty obsahu sušiny mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a mléka dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v % hm.

Příloha č. 2: Naměřené hodnoty obsahu tuku v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a mléce dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v % hm.

Příloha č. 3: Naměřené hodnoty obsahu tukuprosté sušiny (*tps*) mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a mléka dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v % hm.

Příloha č. 4: Naměřené hodnoty obsahu laktózy v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a v mléce dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v % hm.

Příloha č. 5: Naměřené hodnoty obsahu hrubých bílkovin v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a v mléce dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v % hm.

Příloha č. 6: Naměřené hodnoty obsahu kaseinu v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a v mléce dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v % hm.

Příloha č. 7: Naměřené hodnoty titrační kyselosti (TK) mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a mléka dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v SH

Příloha č. 8: Naměřené hodnoty aktivní kyselosti (*pH*) mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a mléka dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou bezrozměrné

Příloha č. 9: Naměřené hodnoty hustoty mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a mléka dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v g.cm^{-3}

Příloha č. 10: Základní statistické charakteristiky pro titrační kyselost, aktivní kyselost a hustotu u jednotlivých odběrů vzorků mléka

Příloha č. 11: Základní statistické charakteristiky u obsahu sušiny, tuku, tukuprosté sušiny a laktózy pro jednotlivé odběry vzorků mléka

Příloha č. 12: Základní statistické charakteristiky u obsahu hrubých bílkovin a kaseinu pro jednotlivé odběry vzorků mléka

Příloha č. 13: Hodnoty *F*-testu a *t*-testu pro hypotézu H_0

Příloha č. 1: Naměřené hodnoty obsahu sušiny mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a mléka dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v % hm.

Krmná dávka	Odběr 1	Odběr 2	Odběr 3	Odběr 4	Odběr 5	Odběr 6	Odběr 7
KD s humáty	13,1	12,0	14,1	13,8	14,4	13,1	13,5
KD s humáty	13,4	11,8	13,9	12,8	14,2	13,4	14,2
KD s humáty	14,0	12,1	14	12,8	14,6	13,0	14,5
KD s humáty	14,0	11,5	13,3	13,5	12,4	12,4	12,8
KD s humáty	13,9	12,0	12,5	14,5	12,4	13,0	12,9
KD s humáty	14,1	12,1	12,6	14,5	12,6	12,5	12,5
KD s humáty	11,8	12,5	12,8	12,6	11,8	13,0	13,5
KD s humáty	11,6	11,8	11,4	13,0	11,9	13,9	14,0
KD s humáty	11,9	12,2	12,8	12,5	12,0	12,8	13,8
KD s humáty	12,5	12,0	12,6	13,2	13,9	12,5	12,9
KD s humáty	12,9	12,1	12,2	12,8	14,6	12,6	12,6
KD s humáty	12,4	12,1	14,3	13,4	14,6	12,5	13,9
KD s humáty	12,0	13,0	14,0	12,6	12,9	13,5	15,0
KD s humáty	12,6	13,0	13,3	12,6	12,8	13,6	14,7
KD s humáty	12,6	12,7	12,7	12,7	13,4	13,0	14,4
běžná KD	13,8	15,2	15,3	13,4	13,4	13,4	14,6
běžná KD	13,9	15,2	15,3	13,5	12,7	13,3	14,6
běžná KD	14,2	14,4	14,5	13,3	12,8	13,7	13,4
běžná KD	12,1	11,1	10,5	12,5	11,8	12,7	12,7
běžná KD	12,3	11,2	11,0	12,2	12,1	12,3	12,5
běžná KD	11,4	12,2	10,9	12,2	11,9	12,3	13,6
běžná KD	13,0	13,3	12,6	12,4	13,2	13,6	12,8
běžná KD	12,7	11,4	13,1	12,7	11,9	14,0	13,3
běžná KD	13,5	11,9	12,5	12,9	12,0	13,9	13,3
běžná KD	11,7	11,3	11,5	11,9	12,4	12,6	12,3
běžná KD	11,7	11,6	12,1	11,8	12,8	12,2	12,5
běžná KD	12,3	11,8	11,3	12,2	12,4	12,9	11,9
běžná KD	13,2	12,8	12,9	14,2	14,5	13,9	13,1
běžná KD	13,5	12,8	13,4	14,2	14,4	13,2	13,0
běžná KD	13,1	12,9	13,2	14,3	14,9	13,7	13,3

Příloha č. 2: Naměřené hodnoty obsahu tuku v mléce dojníc krmených KD s přidavkem huminových látek a mléce dojníc krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v % hm.

Krmná dávka	Odběr 1	Odběr 2	Odběr 3	Odběr 4	Odběr 5	Odběr 6	Odběr 7
KD s humáty	5,2	3,7	4,1	3,4	5,6	4,8	4,9
KD s humáty	5,3	3,8	4,2	4,1	5,5	3,7	4,9
KD s humáty	5,1	3,7	4,2	5,0	5,7	4,9	5,1
KD s humáty	4,8	3,9	4,2	4,6	3,9	3,8	4,3
KD s humáty	4,7	3,7	4,4	3,7	3,9	3,6	3,8
KD s humáty	5,7	3,7	4,2	5,2	4,0	4,3	4,4
KD s humáty	4,2	3,7	4,1	3,8	3,8	4,0	3,9
KD s humáty	4,4	3,9	4,1	4,1	3,8	4,1	3,8
KD s humáty	3,9	4,2	4,2	4,0	3,9	4,2	5,1
KD s humáty	3,5	3,3	4,7	4,8	2,9	3,4	4,7
KD s humáty	3,7	3,5	4,8	5,0	3,0	3,6	4,6
KD s humáty	4,6	4,4	4,6	3,6	5,4	4,4	4,7
KD s humáty	4,7	3,8	4,5	3,9	4,8	3,9	5,3
KD s humáty	4,5	4,0	4,3	4,1	4,8	4,2	5,4
KD s humáty	3,9	4,1	4,2	4,1	4,0	4,6	5,6
běžná KD	4,5	3,7	4,9	4,8	5,0	3,3	4,4
běžná KD	4,3	3,8	4,9	5,0	4,3	4,5	4,3
běžná KD	4,6	4,8	5,0	5,1	4,5	4,4	5,4
běžná KD	3,8	3,4	4,2	3,9	3,8	3,8	4,5
běžná KD	4,0	3,4	4,1	4,1	4,8	3,5	4,5
běžná KD	3,7	3,5	3,3	4,1	3,9	4,2	4,8
běžná KD	4,7	3,7	4,0	4,0	3,9	3,6	4,2
běžná KD	4,7	4,0	4,3	4,2	4,0	3,4	4,7
běžná KD	4,6	3,6	4,8	4,4	3,6	5,3	4,8
běžná KD	3,6	3,5	3,7	4,0	3,8	3,4	3,7
běžná KD	3,6	3,5	3,7	4,1	3,9	3,5	3,9
běžná KD	3,7	3,6	3,6	4,3	4,0	3,8	4,1
běžná KD	4,8	4,4	4,8	4,5	5,5	3,5	4,4
běžná KD	4,4	4,4	4,9	4,6	3,7	4,8	4,5
běžná KD	5,0	4,5	5,2	5,7	5,7	4,9	4,6

Příloha č. 3: Naměřené hodnoty obsahu tukuprosté sušiny (*tps*) mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a mléka dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v % hm.

Krmná dávka	Odběr 1	Odběr 2	Odběr 3	Odběr 4	Odběr 5	Odběr 6	Odběr 7
KD s humáty	7,9	8,3	10,0	10,4	8,8	8,2	8,6
KD s humáty	8,1	8,0	9,7	8,7	8,7	9,7	9,2
KD s humáty	8,9	8,4	9,8	7,8	8,9	8,2	9,4
KD s humáty	9,3	7,6	9,1	8,9	8,5	8,6	8,5
KD s humáty	9,3	8,3	8,2	10,8	8,5	9,4	9,1
KD s humáty	8,4	8,4	8,3	9,3	8,6	8,2	8,1
KD s humáty	7,6	8,8	8,7	8,8	8,0	9,1	9,7
KD s humáty	7,2	8,0	7,3	8,9	8,2	9,8	10,2
KD s humáty	8,0	8,0	8,6	8,5	8,1	8,7	8,7
KD s humáty	9,0	8,7	8,0	8,5	11,0	9,1	8,3
KD s humáty	9,2	8,6	7,4	7,7	11,6	9,0	8,1
KD s humáty	7,8	7,7	9,7	9,8	9,2	8,1	9,2
KD s humáty	7,4	9,2	9,6	8,7	8,1	9,6	9,7
KD s humáty	8,1	9,1	9,0	8,5	8,0	9,4	9,3
KD s humáty	8,7	8,6	8,5	8,6	9,4	8,4	8,8
běžná KD	9,3	11,5	10,4	8,6	8,4	10,1	10,3
běžná KD	9,6	11,4	10,5	8,5	8,4	8,8	10,3
běžná KD	9,6	9,6	9,5	8,2	8,4	9,3	8,1
běžná KD	8,4	7,7	6,3	8,6	8,0	8,9	8,2
běžná KD	8,3	7,8	6,9	8,2	7,2	8,8	8,0
běžná KD	7,7	8,7	7,6	8,1	8,0	8,1	8,8
běžná KD	8,3	9,6	8,7	8,4	9,3	10,0	8,6
běžná KD	8,1	7,4	8,8	8,5	7,9	10,6	8,7
běžná KD	8,9	8,4	7,6	8,5	8,3	8,6	8,5
běžná KD	8,1	7,8	7,8	8,0	8,6	9,2	8,6
běžná KD	8,1	8,1	8,4	7,8	8,9	8,7	8,6
běžná KD	8,6	8,1	7,7	8,0	8,4	9,2	7,9
běžná KD	8,4	8,4	8,1	9,7	9,0	10,4	8,7
běžná KD	9,2	8,4	8,4	9,6	10,7	8,5	8,5
běžná KD	8,2	8,4	8,1	8,7	9,2	8,7	8,8

Příloha č. 4: Naměřené hodnoty obsahu laktózy v mléce dojníc krmených KD s přidavkem huminových látek a v mléce dojníc krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v % hm.

Krmná dávka	Odběr 1	Odběr 2	Odběr 3	Odběr 4	Odběr 5	Odběr 6	Odběr 7
KD s humáty	4,76	4,77	4,93	4,82	5,01	4,87	4,56
KD s humáty	4,76	4,76	4,93	4,82	5,01	4,85	4,58
KD s humáty	4,95	4,73	4,90	4,90	4,89	4,82	5,00
KD s humáty	4,95	4,73	4,92	4,92	4,88	4,83	5,00
KD s humáty	5,03	4,73	4,90	4,89	5,09	4,94	4,60
KD s humáty	5,04	4,71	4,93	4,89	5,09	4,95	4,59
KD s humáty	4,86	4,74	4,98	4,91	5,08	4,95	4,98
KD s humáty	4,84	4,73	4,99	4,96	5,07	4,94	5,00
KD s humáty	5,13	5,06	5,19	5,10	5,28	4,96	4,83
KD s humáty	5,15	5,07	5,19	5,09	5,26	4,96	4,84
běžná KD	4,76	4,74	4,48	4,47	4,35	4,57	5,18
běžná KD	4,77	4,75	4,48	4,48	4,36	4,56	5,15
běžná KD	5,05	4,81	4,88	4,91	4,87	4,92	4,88
běžná KD	5,06	4,81	4,87	4,91	4,87	4,91	4,86
běžná KD	4,85	4,71	4,71	4,90	4,76	4,78	4,58
běžná KD	4,83	4,71	4,72	4,90	4,78	4,78	4,59
běžná KD	4,96	4,73	4,98	4,86	4,94	4,96	5,12
běžná KD	4,96	4,73	4,79	4,85	4,96	4,97	5,13
běžná KD	5,06	4,93	4,93	4,86	4,91	5,06	5,01
běžná KD	5,07	4,94	4,92	4,86	4,92	5,07	4,99

Příloha č. 5: Naměřené hodnoty obsahu hrubých bílkovin v mléce dojníc krmených KD s přidavkem huminových látek a v mléce dojníc krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v % hm.

Krmná dávka	Odběr 1	Odběr 2	Odběr 3	Odběr 4	Odběr 5	Odběr 6	Odběr 7
KD s humáty	3,43	3,27	3,41	3,48	3,36	3,42	3,84
KD s humáty	3,42	3,27	3,41	3,48	3,36	3,42	3,85
KD s humáty	3,11	3,11	3,32	3,33	3,24	3,31	3,38
KD s humáty	3,10	3,12	3,32	3,35	3,25	3,31	3,39
KD s humáty	3,11	3,36	3,69	3,61	3,48	3,56	3,93
KD s humáty	3,11	3,35	3,70	3,60	3,46	3,56	3,93
KD s humáty	3,13	2,96	3,21	3,31	3,14	3,36	3,46
KD s humáty	3,14	2,96	3,21	3,34	3,14	3,38	3,46
KD s humáty	3,30	3,34	3,33	3,54	3,19	3,58	4,13
KD s humáty	3,30	3,35	3,32	3,53	3,20	3,57	4,14
běžná KD	3,17	2,96	2,74	3,15	3,28	3,15	3,40
běžná KD	3,18	2,96	3,25	3,15	3,29	3,15	3,40
běžná KD	3,27	3,21	3,46	3,75	3,74	3,53	3,62
běžná KD	3,27	3,22	3,48	3,74	3,74	3,54	3,62
běžná KD	4,15	4,20	4,26	4,23	4,02	4,20	3,28
běžná KD	4,16	4,21	4,26	4,24	4,01	4,20	3,28
běžná KD	3,28	3,14	3,06	3,31	3,25	3,16	3,54
běžná KD	3,30	3,16	3,06	3,31	3,27	3,15	3,54
běžná KD	3,57	3,49	3,49	3,63	3,60	3,50	3,74
běžná KD	3,56	3,48	3,49	3,63	3,60	3,51	3,75

Příloha č. 6: Naměřené hodnoty obsahu kaseinu v mléce dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a v mléce dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v % hm.

Krmná dávka	Odběr 1	Odběr 2	Odběr 3	Odběr 4	Odběr 5	Odběr 6	Odběr 7
KD s humáty	2,62	2,43	2,62	2,69	2,66	2,61	2,89
KD s humáty	2,61	2,45	2,62	2,69	2,67	2,59	2,90
KD s humáty	2,42	2,30	2,53	2,63	2,47	2,47	2,60
KD s humáty	2,42	2,31	2,53	2,64	2,47	2,50	2,61
KD s humáty	2,37	2,52	2,82	2,75	2,69	2,71	2,95
KD s humáty	2,38	2,51	2,84	2,75	2,67	2,73	2,94
KD s humáty	2,39	2,22	2,49	2,54	2,49	2,58	2,70
KD s humáty	2,38	2,22	2,49	2,53	2,50	2,60	2,70
KD s humáty	2,56	2,62	2,61	2,77	2,54	2,77	3,24
KD s humáty	2,56	2,62	2,61	2,77	2,52	2,77	3,23
běžná KD	3,17	3,24	3,20	3,19	2,95	3,15	2,62
běžná KD	3,17	3,24	3,21	3,20	2,96	3,15	2,62
běžná KD	2,52	2,34	2,28	2,54	2,49	2,40	2,75
běžná KD	2,54	3,35	2,28	2,53	2,49	2,40	2,73
běžná KD	2,74	2,63	2,66	2,81	2,74	2,71	2,84
běžná KD	2,73	2,63	2,64	2,82	2,75	2,71	2,84
běžná KD	2,39	2,19	2,44	2,39	2,49	2,37	2,63
běžná KD	2,39	2,20	2,37	2,39	2,50	2,38	2,63
běžná KD	2,57	2,48	2,71	2,96	2,97	2,77	2,84
běžná KD	2,57	2,48	2,72	2,96	2,97	2,79	2,83

Příloha č. 7: Naměřené hodnoty titrační kyselosti (TK) mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a mléka dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v SH.

Krmná dávka	Odběr 1	Odběr 2	Odběr 3	Odběr 4	Odběr 5	Odběr 6	Odběr 7
KD s humáty	7,20	6,84	7,14	7,65	7,40	7,76	7,10
KD s humáty	7,25	7,05	7,05	7,25	7,45	7,05	7,40
KD s humáty	6,80	6,75	7,25	7,25	6,90	7,55	7,40
KD s humáty	7,15	7,20	7,05	7,25	7,78	7,50	7,30
KD s humáty	6,80	6,95	7,25	6,44	7,34	7,76	7,15
KD s humáty	6,90	7,25	6,85	6,64	7,34	7,06	7,40
KD s humáty	6,90	7,00	7,25	7,05	6,45	7,25	7,00
KD s humáty	7,20	7,00	7,65	7,25	6,67	7,05	6,90
KD s humáty	7,05	7,25	7,05	7,05	7,45	7,05	7,20
KD s humáty	7,30	7,45	7,65	7,46	7,34	7,15	7,15
běžná KD	7,40	7,40	7,34	7,25	7,00	6,95	7,45
běžná KD	7,45	7,50	7,22	7,45	7,34	7,60	7,65
běžná KD	7,65	6,90	7,05	6,70	6,80	7,50	6,87
běžná KD	7,45	7,10	7,05	7,25	7,56	7,00	6,50
běžná KD	7,65	6,85	7,65	7,65	7,05	7,85	7,05
běžná KD	7,35	7,05	7,05	7,00	7,78	7,25	7,05
běžná KD	6,85	7,25	7,46	7,25	7,00	7,05	7,00
běžná KD	6,85	7,50	7,05	7,45	7,45	7,25	7,25
běžná KD	6,64	6,44	7,05	7,05	7,34	7,20	7,05
běžná KD	7,05	6,55	7,05	7,25	7,56	6,90	7,05

Příloha č. 8: Naměřené hodnoty aktivní kyselosti (*pH*) mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a mléka dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou bezrozměrné.

Krmná dávka	Odběr 1	Odběr 2	Odběr 3	Odběr 4	Odběr 5	Odběr 6	Odběr 7
KD s humáty	6,78	6,74	6,70	6,58	6,70	6,74	6,36
KD s humáty	6,80	6,73	6,71	6,60	6,73	6,79	6,37
KD s humáty	6,77	6,78	6,51	6,51	6,73	5,79	6,47
KD s humáty	6,78	6,77	6,58	6,49	6,72	5,78	6,48
KD s humáty	6,76	6,82	6,66	6,71	6,74	6,61	6,59
KD s humáty	6,80	6,81	6,68	6,66	6,76	6,64	6,63
KD s humáty	6,74	6,80	6,57	6,62	6,66	6,81	6,42
KD s humáty	6,79	6,79	6,55	6,64	6,69	6,84	6,43
KD s humáty	6,77	6,76	6,59	6,57	6,65	6,76	6,37
KD s humáty	6,80	6,77	6,62	6,53	6,67	6,75	6,39
běžná KD	6,77	6,82	6,44	6,62	6,65	6,77	6,51
běžná KD	6,80	6,82	6,42	6,63	6,66	6,78	6,47
běžná KD	6,75	6,83	6,57	6,61	6,72	6,61	6,58
běžná KD	6,77	6,82	6,59	6,59	6,73	6,63	6,62
běžná KD	6,69	6,76	6,69	6,61	6,72	6,75	6,49
běžná KD	6,71	6,75	6,75	6,59	6,78	6,77	6,52
běžná KD	6,64	6,76	6,50	6,55	6,62	6,50	6,24
běžná KD	6,62	6,76	6,46	6,53	6,65	6,51	6,24
běžná KD	6,76	6,78	6,60	6,61	6,66	6,73	6,53
běžná KD	6,76	6,77	6,64	6,58	6,69	6,79	6,51

Příloha č. 9: Naměřené hodnoty hustoty mléka dojnic krmených KD s přidavkem huminových látek a mléka dojnic krmených běžnou KD. Hodnoty jsou uvedeny v g.cm⁻³.

Krmná dávka	Odběr 1	Odběr 2	Odběr 3	Odběr 4	Odběr 5	Odběr 6	Odběr 7
KD s humáty	1,030	1,031	1,032	1,030	1,030	1,031	1,031
KD s humáty	1,030	1,031	1,032	1,030	1,030	1,031	1,031
KD s humáty	1,029	1,031	1,031	1,029	1,031	1,031	1,031
KD s humáty	1,029	1,031	1,031	1,029	1,031	1,030	1,031
KD s humáty	1,032	1,031	1,033	1,033	1,033	1,032	1,031
KD s humáty	1,032	1,031	1,033	1,032	1,032	1,032	1,031
KD s humáty	1,030	1,029	1,031	1,031	1,030	1,031	1,031
KD s humáty	1,030	1,029	1,031	1,033	1,030	1,031	1,031
KD s humáty	1,033	1,032	1,032	1,033	1,031	1,032	1,032
KD s humáty	1,032	1,032	1,032	1,033	1,031	1,032	1,032
běžná KD	1,032	1,031	1,031	1,031	1,031	1,031	1,032
běžná KD	1,031	1,031	1,031	1,031	1,031	1,031	1,032
běžná KD	1,031	1,031	1,031	1,032	1,032	1,032	1,032
běžná KD	1,032	1,031	1,031	1,031	1,032	1,032	1,032
běžná KD	1,032	1,033	1,031	1,031	1,030	1,032	1,030
běžná KD	1,032	1,033	1,031	1,031	1,030	1,031	1,030
běžná KD	1,032	1,031	1,031	1,032	1,031	1,031	1,031
běžná KD	1,033	1,031	1,031	1,032	1,031	1,030	1,031
běžná KD	1,032	1,032	1,031	1,032	1,032	1,030	1,030
běžná KD	1,032	1,032	1,031	1,032	1,032	1,030	1,030

Příloha č. 10: Základní statistické charakteristiky pro titrační kyselost, aktivní kyselost a hustotu u jednotlivých odběrů vzorků mléka

	průměr		směr. odchylka		medián		rozptyl		var. koeficient	
	KD s humáty	běžná KD	KD s humáty	běžná KD	KD s humáty	běžná KD	KD s humáty	běžná KD	KD s humáty	běžná KD
odběr										
titrační kyselost [SH]										
1	7,05	7,23	0,19	0,36	7,10	7,38	0,04	0,13	2,70	4,98
2	7,07	7,05	0,21	0,37	7,02	7,07	0,05	0,14	3,00	5,29
3	7,22	7,20	0,26	0,22	7,19	7,05	0,07	0,05	3,60	3,02
4	7,13	7,23	0,36	0,27	7,25	7,25	0,13	0,07	5,03	3,69
5	7,21	7,29	0,41	0,31	7,34	7,34	0,17	0,10	5,66	4,30
6	7,32	7,25	0,30	0,31	7,20	7,22	0,09	0,10	4,06	4,28
7	7,20	7,09	0,17	0,31	7,18	7,05	0,03	0,10	2,43	4,41
aktivní kyselost [pH]										
1	6,78	6,73	0,02	0,06	6,78	6,76	0,00	0,00	0,29	0,89
2	6,78	6,79	0,03	0,03	6,78	6,78	0,00	0,00	0,43	0,47
3	6,62	6,57	0,07	0,11	6,61	6,58	0,00	0,01	1,03	1,68
4	6,59	6,59	0,07	0,03	6,59	6,60	0,00	0,00	1,05	0,48
5	6,71	6,69	0,04	0,05	6,71	6,68	0,00	0,00	0,55	0,73
6	6,55	6,68	0,41	0,11	6,75	6,74	0,17	0,01	6,26	1,69
7	6,45	6,47	0,09	0,13	6,43	6,51	0,01	0,02	1,45	2,00
hustota [g.cm⁻³]										
1	1,03	1,03	0,00	0,00	1,03	1,03	0,00	0,00	0,14	0,06
2	1,03	1,03	0,00	0,00	1,03	1,03	0,00	0,00	0,10	0,08
3	1,03	1,03	0,00	0,00	1,03	1,03	0,00	0,00	0,08	0,00
4	1,03	1,03	0,00	0,00	1,03	1,03	0,00	0,00	0,17	0,05
5	1,03	1,03	0,00	0,00	1,03	1,03	0,00	0,00	0,10	0,08
6	1,03	1,03	0,00	0,00	1,03	1,03	0,00	0,00	0,07	0,08
7	1,03	1,03	0,00	0,00	1,03	1,03	0,00	0,00	0,04	0,09

Příloha č. 11: Základní statistické charakteristiky u obsahu sušiny, tuku, tukuprosté sušiny a laktózy pro jednotlivé odběry vzorků mléka

	průměr		směr. odchylka		medián		rozptyl		var. koeficient	
	KD s humáty	běžná KD	KD s humáty	běžná KD	KD s humáty	běžná KD	KD s humáty	běžná KD	KD s humáty	běžná KD
odběr										
sušina [% hm.]										
1	12,86	12,83	0,87	0,87	12,63	12,95	0,76	0,75	6,78	6,77
2	12,19	12,60	0,44	1,40	12,06	12,15	0,19	1,97	3,57	11,12
3	13,10	12,67	0,83	1,53	12,82	12,64	0,69	2,36	6,35	12,11
4	13,14	12,92	0,67	0,85	12,78	12,72	0,45	0,72	5,08	6,56
5	13,23	12,88	1,05	1,01	12,87	12,69	1,11	1,02	7,95	7,83
6	12,99	13,19	0,46	0,62	13,01	13,30	0,21	0,38	3,54	4,70
7	13,68	13,13	0,79	0,76	13,80	13,08	0,63	0,59	5,81	5,83
tuk [% hm.]										
1	4,53	4,24	0,64	0,47	4,57	4,37	0,41	0,22	14,08	11,01
2	3,82	3,85	0,27	0,46	3,79	3,69	0,07	0,21	7,09	11,86
3	4,31	4,35	0,23	0,62	4,22	4,27	0,05	0,38	5,28	14,21
4	4,22	4,44	0,56	0,51	4,08	4,26	0,31	0,26	13,23	11,57
5	4,33	4,29	0,91	0,67	4,00	3,98	0,83	0,45	21,06	15,69
6	4,09	3,99	0,45	0,64	4,08	3,77	0,20	0,42	11,03	16,15
7	4,70	4,42	0,58	0,40	4,73	4,46	0,34	0,16	12,39	9,05
tukuprostá sušina [% hm.]										
1	8,33	8,59	0,70	0,60	8,13	8,35	0,49	0,36	8,42	6,98
2	8,37	8,76	0,47	1,27	8,35	8,37	0,22	1,61	5,66	14,49
3	8,79	8,32	0,86	1,15	8,72	8,07	0,75	1,33	9,83	13,86
4	8,92	8,48	0,85	0,55	8,71	8,50	0,73	0,31	9,56	6,53
5	8,90	8,59	1,05	0,79	8,61	8,41	1,11	0,62	11,83	9,19
6	8,90	9,20	0,61	0,74	9,00	8,93	0,38	0,54	6,89	8,01
7	8,98	8,71	0,63	0,71	9,14	8,58	0,39	0,50	7,00	8,12
laktóza [% hm.]										
1	4,95	4,94	0,14	0,12	4,95	4,96	0,02	0,02	2,85	2,53
2	4,80	4,79	0,14	0,09	4,74	4,75	0,02	0,01	2,90	1,80
3	4,99	4,78	0,12	0,18	4,93	4,83	0,01	0,03	2,33	3,75
4	4,93	4,80	0,10	0,17	4,91	4,86	0,01	0,03	1,96	3,60
5	5,07	4,77	0,13	0,23	5,08	4,87	0,02	0,05	2,60	4,80
6	4,91	4,86	0,06	0,18	4,94	4,92	0,00	0,03	1,17	3,75
7	4,80	4,95	0,20	0,22	4,84	5,00	0,04	0,05	4,08	4,46

Příloha č. 12: Základní statistické charakteristiky u obsahu hrubých bílkovin a kaseinu pro jednotlivé odběry vzorků mléka

	průměr		směr. odchylka		medián		rozptyl		var. koeficient	
	KD s humáty	běžná KD	KD s humáty	běžná KD	KD s humáty	běžná KD	KD s humáty	běžná KD	KD s humáty	běžná KD
odběr										
hrubé bílkoviny [% hm.]										
1	3,22	3,49	0,13	0,38	3,14	3,29	0,02	0,14	4,17	10,77
2	3,21	3,40	0,16	0,46	3,27	3,22	0,03	0,21	4,97	13,47
3	3,39	3,46	0,17	0,49	3,33	3,47	0,03	0,24	5,11	14,19
4	3,46	3,61	0,12	0,40	3,48	3,63	0,01	0,16	3,34	11,00
5	3,28	3,58	0,13	0,30	3,25	3,60	0,02	0,09	3,82	8,38
6	3,45	3,51	0,11	0,40	3,42	3,51	0,01	0,16	3,20	11,50
7	3,75	3,52	0,30	0,17	3,85	3,54	0,09	0,03	8,02	4,89
kasein [% hm.]										
1	2,47	2,68	0,10	0,28	2,42	2,57	0,01	0,08	4,18	10,59
2	2,42	2,68	0,15	0,44	2,44	2,56	0,02	0,19	6,25	16,45
3	2,62	2,65	0,12	0,34	2,61	2,65	0,02	0,11	4,74	12,71
4	2,68	2,78	0,09	0,30	2,69	2,82	0,01	0,09	3,35	10,97
5	2,57	2,73	0,09	0,22	2,53	2,75	0,01	0,05	3,61	8,12
6	2,63	2,68	0,11	0,30	2,61	2,71	0,01	0,09	4,07	11,16
7	2,88	2,73	0,23	0,10	2,90	2,74	0,05	0,01	8,01	3,68

Příloha č. 13: Hodnoty *F*-testu a *t*-testu pro hypotézu H01

	<i>F</i> -test		<i>t</i> -test	
	<i>F</i>	<i>p</i>	<i>t</i>	<i>p</i>
sušina	1,5126	0,0359	1,0544	0,2929
tuk	1,1313	0,5304	0,7328	0,4645
tukuprostá sušina	1,2669	0,2294	0,6839	0,4948
laktóza	1,4222	0,1460	2,7905	0,0060
hrubé bílkoviny	2,4133	0,0003	-2,1992	0,0295
kasein	2,3159	0,0006	-2,3250	0,0215
titrační kyselost	1,1783	0,4975	-0,4079	0,6840
aktivní kyselost	2,2498	0,0009	-0,2784	0,7811
hustota	2,1126	0,0022	-1,0802	0,2820