

NOVELIZACE ODBORNÉHO POHLEDU NA KYSELOST SYROVÉHO KRAVSKÉHO MLÉKA, 2024

REVISION OF THE EXPERT OPINION ON THE ACIDITY OF RAW COW'S MILK, 2024

Oto Hanuš¹ – Hana Nejšlechbová¹ – Gavin Thompson² – Marcela Klimešová¹ – Murat Su²
Jaroslav Kopecký¹ – Radoslava Jedelská¹ – Jitka Čejková² – Petr Tichovský³

¹ Výzkumný ústav mlékárenský, Praha, Zemědělská 16, Šumperk, 787 01

² Bentley Czech s.r.o., Dolní, Prostějov 1, 796 01

³ Moravia Lacto a.s., Jiráskova 2430/94, Jihlava 1, 586 01

<https://doi.org/10.11118/978-80-7509-996-9-0108>



ABSTRAKT

Titrační kyselost mléka (TKM) je stará a důležitá technologická vlastnost, která má a nemusí mít významnou korelaci k aktivní kyselosti pH podle stavu mléka (primární a sekundární TKM, jejich poměr) a stavu pufrací kapacity mléka. Na TKM se technologickým vývojem v mlékařství, např. v Evropě, jako na kontrolní ukazatel kvality syrového mléka (proplácení mléka) téměř zapomnělo. Tak tomu ovšem není při kontrole zpracování mléka v mlékárnách. Také v mnoha zemích budujících mlékařství v náročných klimatických podmínkách je stále cenným ukazatelem. Proto je zde zájem o rychlé stanovení TKM pomocí rutinní infračervené spektroskopie, tedy o kalibrační modely. V databázích A a B byly derivovány poměrně úspěšné kalibrační modely MIR-FT pro TKM podle relevantních spekter: A kalibrační korelační koeficient $r = 0,695$ ($P < 0,001$), $n = 207$; A a B $r = 0,91$ ($P < 0,001$), $n = 414$. Při odhadu pH (A a B, $n = 418$) ze spekter MIR-FT $r = 0,907$ ($P < 0,001$) při validaci, což je překvapivě nadějný výsledek pro efektivní využití v analytické praxi. Až 82,3 % z variability odhadnutých hodnot pH (MIR-FT) bylo dáno variacemi v referenčních hodnotách. V ČR byl v srpnu 2023 zaznamenán problém s TKM při nákupu mlékáren, nižší hodnoty. Na vytvoření databázi byl novelizován pohled na interpretaci hodnot TKM z aktuálního pohledu po 40 letech vývoje a změn v mlékařství.

Klíčová slova: dojnice, mléko, titrační kyselost mléka, aktivní kyselost pH, protein, laktóza, počet somatických buněk, celkový počet mikroorganismů, rezidua inhibičních látek, sezóna, korelace, infračervená spektroskopie, kalibrační model, novela

ABSTRACT

Milk titratable acidity (TKM) is an old and important technological property, which may or may not have a significant correlation to active acidity pH according to the state of milk (primary and secondary TKM, their ratio) and the state of buffering capacity of milk. TKM was almost forgotten due to technological development in dairy farming, e.g. in Europe, as a control indicator of the quality of raw milk (milk payment). However, this is not the case when checking milk processing in dairies. It is also still a valuable indicator in many countries developing dairy farming in demanding climatic conditions. Therefore, there is an interest in rapid

determination of TKM using routine infrared spectroscopy, i.e. in calibration models. In databases A and B, fairly successful MIR-FT calibration models for TKM were derived according to the relevant spectra: A calibration correlation coefficient $r = 0.695$ ($P < 0.001$), $n = 207$; A and B $r = 0.91$ ($P < 0.001$), $n = 414$. When estimating pH (A and B, $n = 418$) from MIR-FT spectra $r = 0.907$ ($P < 0.001$) in validation, which is surprisingly promising result for effective use in analytical practice. Up to 82.3% of the variability of the estimated pH values (MIR-FT) was due to variations in the reference values. In the Czech Republic, in August 2023, a problem with TKM was noted when purchasing dairies, lower values. The created database was amended to look at the interpretation of TKM values from the current point of view after 40 years of development and changes in dairy farming.

Keywords: dairy cow, milk, milk titration acidity, active acidity pH, protein, lactose, somatic cell count, total count of microorganisms, residues of inhibitory substances, season, correlation, infrared spectroscopy, calibration model, novel

ÚVOD / INTRODUCTION

Titrační kyselost mléka (TKM) je, vedle obsahu tuku, jednou z nejdéle oficiálně měřených vlastností mléka, již 150 roků, a dodnes jeho důležitou technologickou vlastností. Za tak dlouhou dobu odborného sledování by se mohlo zdát, že by téměř vše, v této věci, mělo být jasné. Nicméně, jak ukazují aktuální praktické zkušenosti, není tomu ani zdaleka tak, zejména pro vývojovou dynamiku mlékařského prostředí, tedy průběžně se měnící podmínky, ve své mnohočetnosti.

Primárně se pomocí TKM posuzovalo možné nežádoucí kysání, tedy bakteriální rozklad laktózy a to znamená nižší hygienickou úroveň syrového mléka při zvýšené TKM. Toto bylo v dobách nižšího rozvoje rutinních mikrobiologických analytických metod pro plošné pokrytí kontroly kvality mléka, v dobách, kdy se k tomuto účelu používal také tzv. resazurinový test. Tato situace trvala u nás zhruba do konce 70. let minulého století. Až později (80. léta) byly k této hygienické kontrole mléka použity mikrobiologické kultivační metody (v manuálním a později poloautomatickém provedení (zařízení Petri Foss)) a později průtočná i automatická cytometrie, nejprve v provedení na rotujícím disku a později ve formě průtočné (např. Bactoscan, Bactocount), ke stanovení celkového počtu mezofilních mikroorganismů (CPM). Tak se limitní povolené rozpětí hodnot TKM dostalo v 70. až 90. letech do zaváděných standardů kvality syrového mléka. Toto rozpětí činilo nejprve 6 až 8 °SH (70. léta), později (80. léta) bylo zúženo na 6,2 až 7,8 °SH (Soxhlet-Henkel), např. ve vývoji normy ČSN 570529 (Syrové kravské mléko). Tímto způsobem, i podle těchto hodnot, bylo pak mléko zpeněžováno.

Souběžně, zejména od 40. let, probíhalo řešení systémů dojení krav, transportu a skladování (zejména chlazení mléka a čištění technologického zařízení) syrového mléka, od manuálních, přes mechanické až po poloautomatické, později i automatické, rozšířené až v tomto tisíciletí. V ČR lze rámcově konstatovat, že tato řešení, včetně zajištění hygienické kvality, byla v ČR úspěšně završena cca v 80. letech. Od té doby mírně poklesl zájem o horní limit TKM a začal být více sledován limit dolní (80. léta). Toto porušení již méně souviselo s hygienou, ale bylo spíše důsledkem nežádoucího zvodnění mléka, nebo nedostatečné energetické

výživy krav (Thieme et al., 1983a, b; Varvažovský et al., 1985; Famigli-Bergamini, 1987; Pen, 1995; Hanuš et al., 2021 a, b). Stále však oba limity mohly být případně porušeny nežádoucím průnikem dezinfekce dojicího zařízení do mléka. Ve všech případech lze hovořit o kontrole případné technologické nekázně v procesu získávání mléka.

S další technickým rozvojem přišly od 80. let postupně četné rutinní mlékařské analytické metody do praktické aplikace v systému kontroly kvality mléka pro rozbor bazénových vzorků. Bylo sledováno v základních ukazatelích postupně a plošně (obvykle jednou až čtyřikrát měsíčně) chemické složení mléka (obsahy tuku (T), hrubých bílkovin (HB), monohydrátu laktózy (L) a sušiny celkové i tukuprosté (STP), později kaseinu (KAS), močoviny (MOC), volných mastných kyselin (VMK) atp.), dále bod mrznutí mléka, CPM, počet somatických buněk (PSB) a rezidua inhibičních látek (RIL; převážně antibiotik). Dalo by se konstatovat, že pokrytí kontroly kvality suroviny v mlékařství je úplné, lze uvažovat, že nejkompletnější a nejfrekventovanější v kontrole kvality potravinových surovin v relevantních řetězcích vůbec. Od této doby, koncem 90. let, však klesl význam TKM v kontrole kvality suroviny a aplikace této metody zůstala každodenní praxí pouze v kontrole mezistupňů zpracování a technologické kvality v laboratořích mlékáren. TKM se tak stala téměř zapomenutou vlastností z hlediska kontroly. Mléčné laboratoře kontroly kvality syrového mléka metodu neprovádějí, obvykle chybí i příslušné vybavení, a ačkoliv některé laboratoře, např. veterinární, disponují i relevantní akreditací a mohou metodu provést, při trvale nulovém zájmu nemají pochopitelně operativně k dispozici příslušné roztoky, a při náhlém požadavku mohou reagovat až po čase, kdy bývá už ovšem pozdě, jak ukázalo na Moravě poslední léto 2023, jakkoliv pan F. von Soxhlet, význačný zemědělský chemik, byl původem z Brna.

Naznačený vývoj vyústil také v již zmíněnou kvalitní normu ČSN 570529 pro kontrolu kvality suroviny v mlékařství v ČR i na Slovensku koncem 90. let, která velmi pozitivně přispěla ke stavu věcí, nicméně, vlivem globalizace a obchodních řetězců, byla, jako celá řada dalších kvalitních potravinářských norem ČR, postupem zneplatněna. První stupeň byl platná, ale nezávazná, další pak již neplatná. Tolik odborná reminiscence. V legislativě EU pak zůstaly jen některé základní ukazatele kvality syrového mléka. Přesto, kvalita je kontrolována stále důsledně. Nicméně, velké části původního znění této normy, přes její neplatnost, bývají stále, z historicko-tradičních, ale i logických důvodů, zabudovávány do dodavatelsko-odběratelských smluv zemědělců a mlékáren v ČR, tedy včetně kvalitativní limitace TKM.

Protože však tento praktický problém případně zvýšené variability TKM byl od r. 2000 v mlékařství ČR poměrně úspěšně technologicky vyřešen, reálná kontrola TKM je u syrového mléka, jak bylo vysvětleno, velmi zřídka. Praktické problémy s TKM tak nebyly cca po 25 let zaznamenány (ani v létě, při vyšších teplotách, nebo větším problému energeticky nakrmit zvířata), a to ani vzdor téměř trojnásobnému průběžnému zvýšení dojivosti vlivem šlechtění a zlepšené výživy krav, kdy o cca 0,2 % vzrostl i obsah hrubých bílkovin a výrazně byl redukován CPM (cca v průměru pětikrát a více) a výskyt RIL (cca v průměru desetkrát a více). To vše v důsledku lepší se technologie výživy, chovu a dojení krav, což znamenalo velmi

zřetelný vzrůst kvality mléka (Hanuš et al., 2019). Proto poměrně překvapuje, když v srpnu 2023, po týdnu tropických dní, byly náhle hlášeny vážné problémy se sníženou TKM, zejména na jižní Moravě.

Ze tří důvodů bylo provedeno nové vyhodnocení vybraných aspektů variability hodnot TKM v ČR na větším datovém souboru se zahrnutím sezónního (2021 - 2022) a plemenného faktoru na bazénových vzorcích syrového kravského mléka: 1) pro aktualizaci poznatků vlivu současného CPM a sezóny na TKM (také pro zmíněné letní problémy 2023); 2) pro metodické potřeby souběžně běžícího projektu vývoje metod identifikace artifiční redukce PSB; 3) pro nalezení efektivních modelů kalibrace nepřímé rutinní metody infračervené spektroskopie MIR-FT pro rychlý odhad TKM.

MATERIÁL A METODIKA / MATERIAL AND METHODS

Byly opakovaně odebrány bazénové vzorky syrového kravského mléka ($n = 207$) z vazných, ale zejména volných (95 %) stájí ($n = 36$) od května 2021 do dubna 2022, měsíčně cca 16. Soubor zahrnoval cca 5 000 dojnic s poměrně vyrovnaným zastoupením dojených plemen Holštýn (62 %) a České strakaté (38 %) pro poměry v ČR. Vzorky byly přepraveny do laboratoře (VÚM Praha, Šumperk) v chladových podmínkách ($\leq 6\text{ °C}$), bez konzervace, a byly rozděleny: subvzorek (A) představoval původní mléko s primární TKM a byl uložen v chladničce ($\leq 5\text{ °C}$; cca 18 hodin); subvzorek (B) byl ponechán po cca 18 hodin do druhého dne při pokojové teplotě ($16 - 22\text{ °C}$), čímž došlo k náhodné modifikaci vzorku podle podmínek a zisku TKM cestou přirozeného pomnožení přítomné mikroflóry - pro potřeby dostatečného variačního rozpětí kalibrační škály. Vzorky A (původní mléko) byly druhý den analyzovány na TKM a řadu souvisejících mléčných ukazatelů, především metodou MIR-FT. Vzorky B (modifikované) byly druhý den měřeny na TKM a metodou MIR-FT. To znamená, že pro všechny vzorky, A i B, tak byla zaznamenána spektra MIR-FT. Dále byly původní vzorky mléka, v systému oficiální kontroly kvality mléka, bez konzervace nebo konzervovány Heschenovým činidlem a bronopolem (0,03 %), podle účelu analýzy, přepraveny v chladových podmínkách ($\leq 6\text{ °C}$) do akreditované (ČSN EN ISO/IEC 17025) laboratoře rozborů mléka ČMSCH a.s. (LRM) Brno – Tuřany k analýze podle relevantních operačních manuálů.

TKM byla stanovena podle ČSN 57 0530 (ve $^{\circ}\text{SH} = \text{ml} \times 2,5 \text{ mmol} \times \text{l}^{-1}$). Infraskpektra pro TKM byla stanovena nepřímou metodou infračervené spektroskopie MIR-FT (s Michelsonovým interferometrem a Fourierovou transformací) na přístroji Bentley DairySpec FT (Bentley Instruments, Chaska, Minnesota, USA). Vzorky byly analyzovány na složkové ukazatele a některé vlastnosti (T, HB, L, KAS, STP, MOC, VMK, BMM) na relevantně kalibrovaných infraanalýzátořech mléka metodou MIR-FT (CombiFoss FT+ MilkoScan 7 (Foss Electric, Hilleröd, Denmark)). PSB byl stanoven metodou průtočné cytometrie na CombiFoss FT+ Fossomatic 7 (Foss Electric, Hilleröd, Denmark). CPM byl stanoven na průtokovém cytometru BactoScan FC (Foss Analytical A/S, Hillerød, Dánsko). Aktivní kyselost mléka (pH) byla měřena použitím pH-metru 1100L (VWR pHenomenal pH, Darmstad, Germany). Elektrická konduktivita (VOD) mléka byla měřena za použití konduktometru Hanna (Rumunsko). RIL +/- nebo N/P byla kontrolována pomocí mikrobiologického postupu (*Geobacillus stearothermophilus*) inhibičním testem (při 65 °C) Eclipse 50 (ZEU-INMUNOTEC, Španělsko).

Databáze 207 původních vzorků a 414 vzorků celkem (původní a modifikované) byly vyhodnoceny statistickými metodami (MS Excel, Microsoft, Redmond, Washington, USA). Pro stanovené mléčné ukazatele byly vypočteny střední hodnoty (aritmetický průměr ($\bar{x}$), medián (m)), variabilita ve formě směrodatné odchylky ($sd = s_x$) a variačního koeficientu (v_x v %). Dále hodnoty PSB a CPM byly transformovány (dekadický log) pro regresní hodnocení a výpočet hodnoty geometrického průměru (g). Zaznamenaná spektra MIR-FT vyhodnotil podle TKM pan Craig Parsons (Bentley Instruments, Chaska, Minnesota, USA). Tím byly získány odhady TKM metodou MIR-FT. Byly vypočteny i relevantní lineární regrese a korelační koeficienty (r).

VÝSLEDKY A DISKUZE / RESULTS AND DISCUSSION

Proč jsme se v současnosti vrátili k problému TKM, této takřka archaické vlastnosti syrového mléka, bylo uvedeno třemi důvody. Všechny vzorky mléka byly negativní na výskyt RIL. V daném souboru původního mléka ($n = 207$) byl CPM ($\bar{x} \pm sd$) $18 \pm 61 \text{ } 10^3 \text{KTJ} \times \text{ml}^{-1}$ ($v_x 339 \%$) při geometrickém průměru (x_g) $9 \text{ } 10^3 \text{KTJ} \times \text{ml}^{-1}$. Základní ukazatele průměrné kvality (A, $n = 207$) byly tedy poměrně dobré, což naznačuje i PSB $204 \pm 103 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$ ($x_g = 181 \text{ } 10^3 \times \text{ml}^{-1}$) a $v_x 50,5 \%$. Soubor tak mohl charakterizovat průměrné aktuální poměry v ČR. Ostatní mléčné ukazatele charakterizující databázi jsou v Tab. 1.

Za popsaných podmínek prodlevy v uložení mléka se TKM zvýšila, v důsledku mikrobiální aktivity v dnešních podmínkách hygieny stájí, ze $7,28 \pm 0,57 \text{ } ^\circ\text{SH}$ ($v_x 7,8 \%$) na $13,76 \pm 6,96 \text{ } ^\circ\text{SH}$ ($v_x 50,6 \%$), to je v podstatě na dvojnásobek. Současný CPM v syrovém mléce je odlišný od dřívějšího, nejen tím, že byl redukován z dřívějších průměrných nižších statisíců (cca 200 – 300 plus minus, 80. léta) na současných $24 \text{ } 10^3 \text{KTJ} \times \text{ml}^{-1}$ (výrazně zlepšená hygienická kvalita) v ČR, ale především změnou poměru zastoupení acidogenních bakterií, které je méně výhodné (nižší zastoupení), než dříve. Relativně zvýšené zastoupení v současných nízkých CPM má velmi pravděpodobně lipolytická a proteolytická mikroflóra (psychrotrofní a sporulující bakterie). V databázi je patrný enormní vzrůst variability v TKM souboru B z původních 7,8 na 50,6 %, což naznačuje také na variabilitu CPM z hlediska mikrobiální skladby mezi stády dojnic, kdy v některých případech mléko kyslo mnohem rychleji než v jiných, jakkoliv byl všude výskyt RIL negativní. Podobnou dynamiku variability lze v průměru očekávat mezi stavem před 30 – 40 lety a dnes, což potvrzuje úvahu shora a aktualizuje pohled na možnou dynamiku TKM při případné technologické nekázni, ohledně hygieny dojení, transportu a uložení syrového mléka, v dnešních podmínkách. Obecně pak lze odhadovat, že tento typ nárůstu TKM v dnešních podmínkách je pomalejší, než byl kdy dříve, právě v důsledku technologických změn v hygieně získávání mléka a změně spektra mikroflóry syrového mléka.

Tabulka 1: Základní charakteristiky mléčných ukazatelů a primární TKM (A, n = 207) a sekundární s primární TKM (B, n = 207) v bazénových vzorcích mléka pro celý kalendářní rok a dvě dojená plemena.

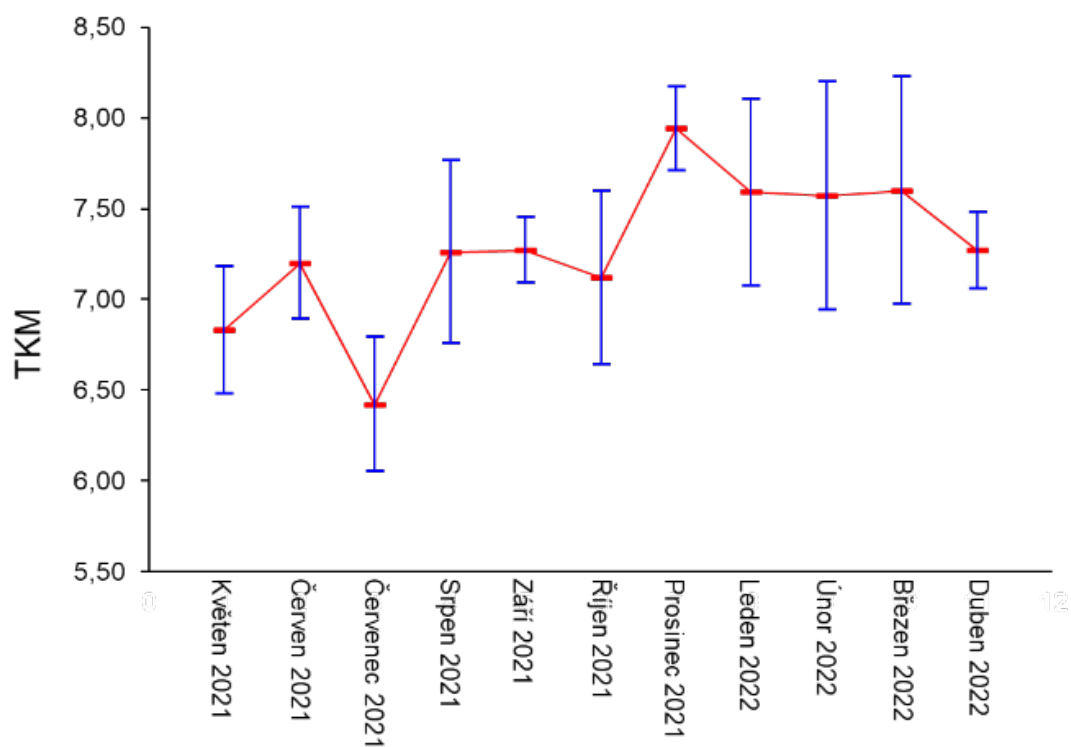
Ukazatel	TKM	VOD	pH	PSB	T	HB	L	STP	MOC	CPM
Jednotka	°SH	mS×cm ⁻¹	-	10 ³ ×ml ⁻¹	%	%	%	%	mg×l ⁻¹	10 ³ KTJ×ml ⁻¹
x A	7,28	4,46	6,75	204	4,03	3,48	4,99	9,1	256	18
sd	0,566	0,165	0,059	103	0,294	0,176	0,086	0,199	80	61
x B	13,76	4,87	6,25							
sd	6,961	0,426	0,553							
párový t-test	13,07	15,18	12,98							
signif.	P<0,001	P<0,001	P<0,001							

A, původní mléko; B přirozeně fermentované mléko; x aritmetický průměr; sd směrodatná odchylka; TKM, titrační kyselost mléka; VOD, vodivost (elektrická konduktivita); pH, aktivní kyselost; PSB, počet somatických buněk; T, obsah tuku; HB, obsah hrubých bílkovin; L, koncentrace monohydrátu laktózy; STP, obsah sušiny tukuprosté; MOC, koncentrace močoviny; CPM, celkový počet mezofilních mikroorganismů.

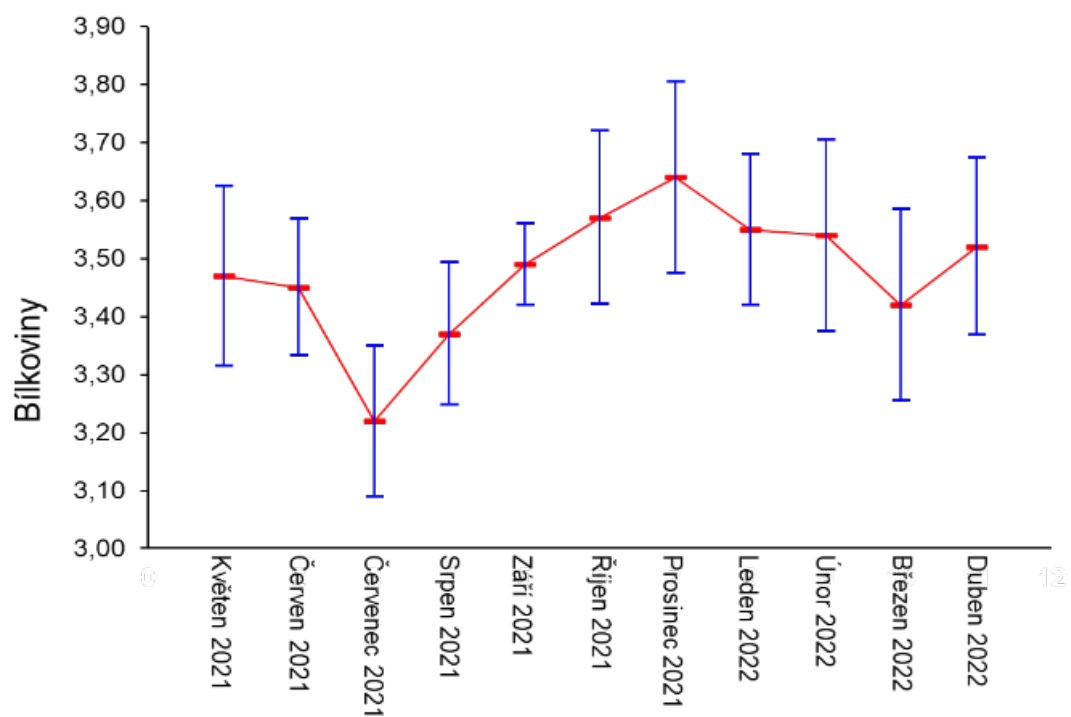
Korelace mezi TKM (primární) a aktivní kyselostí pH bývají zpravidla nevýrazné, v důsledku působení pufrční kapacity mléka. Byla zde uvedena korelace primární TKM (A, n = 207) s pH 0,08 ($P > 0,05$). Korelace pro TKM primární a sekundární (A plus B, n = 414) a pro TKM sekundární s primární (B, n = 207) a pH -0,89 a -0,85 ($P < 0,001$). Výraznější hodnoty korelací jsou právě důsledkem vlivu značného podílu získané TKM, tzn. případného podezření z negativního vlivu technologie na kvalitu.

Problém na konci srpna a v září 2023, na jižní Moravě a také částečně ve východních Čechách, po tropické periodě, spočíval v ohlášení nízké TKM a odmítnutí dodávek mlékárnou. Po odborném jednání bylo, na bázi vysvětlení s přihlédnutím k výsledkům této databáze, mléko přijato. Po časové analýze reálné situace bylo možné konstatovat, že došlo k náhodnému souběhu nižších hodnot TKM kolem 6,2 °SH i níže s více faktory, jako tendenčnímu výkladu významu TKM v daný moment a nějaké zvodněné dodávce s BMM -0,488 °C, při TKM 5,4 °SH. Avšak i četné dodávky mléka s 3,61 % bílkovin vykazovaly variace kolem TKM 6,2 °SH. Toto dohromady vyvolalo značný výkladový zmatek a unáhlené interpretace. Nicméně, podíl na tomto dnes již neočekávaném (i v létě) poklesu TKM, mohl mít v uvedeném období tepelný stres krav – v důsledku déle trvajícího vedra - použití energie zvířaty na chlazení jako ztráta, druhotná fermentace objemných krmiv, pokles žravosti, snížený příjem energie, pokles doживosti, snížený obsah bílkovin, resp. kaseinu v mléce. Tento je potřebné preventivně řešit, k čemuž byl uspořádán profesní workshop s výsledky této databáze. Obsah bílkovin v mléce do značné míry souvisí s dotací energie ve výživě dojníc (pokles = pokles) a zároveň určuje cca 30 % korespondující hodnoty TKM. V souběžné jiné, tedy paralelní, ale srovnatelné, databázi byl zaznamenán pokles obsahu bílkovin v inkriminované době o 0,2 %. Proto je tato úvaha relevantní.

Zde byly v této souvislosti a v souladu s úvahou výše zjištěny zajímavé korelace TKM k ostatním ukazatelům. Sezónní průběh (A, n = 207) TKM (Obr. 1) zřetelně korespondoval s dynamikou hrubých bílkovin (Obr. 2) podle korelace 0,61 ($P < 0,001$), maxima v zimě, minima v létě (např. v Turecku je tomu pro sezónnost TKM naopak (Özdemir a Kahyaoglu, 2020), možná z důvodu vlivu většího podílu sekundární TKM v důsledku infrastruktury technologie a klimatu). Podobně, jako u HB, logicky i u kaseinu a sušiny tukuprosté 0,55 a 0,53 (obojí $P < 0,001$).



Obrázek 1: Sezónní dynamika primární TKM (°SH; A, n = 207).



Obrázek 2: Sezónní dynamika obsahu hrubých bílkovin (%; A, n = 207).

Korelační vztah mezi obsahem laktózy a primární a sekundární TKM (A a B, $n = 414$) v aktuálních podmínkách mlékařského prostředí byl $-0,75$ ($P < 0,001$), zatímco v původním mléce (A, primární TKM, $n = 207$) byl jen $0,08$ ($P > 0,05$), kde právě sekundární podíl TKM z rozkladu laktózy na kyselinu mléčnou zajistil tuto konfiguraci. PSB v původním mléce (A) pak k primární TKM nebyl, za okolností dobré kvality, korelován, $r = -0,1$ ($P > 0,05$).

Již dříve vyjádřil vztah mezi TKM a pH Kratochvíl (1984) návrhem schématu, kde při vyšším obsahu bílkovin může i mléko s nadlimitní TKM ($7,8$ °SH) být kvalitní, bez získané sekundární kyselosti (i při TKM např. $8,8$ °SH), právě pro tento obsah bílkovin. Vlivem genetického zušlechťování, ale zejména lepší se výživy krav, především ve složce energetické, za cca dvacet let vzrostl obsah bílkovin cca o $0,2$ % i při cca trojnásobném vzrůstu dojivosti. V té době bylo limitní rozpětí TKM zúženo z 6 až 8 na $6,2$ až $7,8$ °SH, což úplně neodpovídá této zmíněné dynamice změn. Byl proto formulován návrh, že horní limit TKM, když při obsahu HB cca $3,3$ % bylo odhadnuto, že tvoří $2/5$ TKM, by měl být zvýšen o cca $0,18$ °SH, po 40 letech pro uvedené schéma. Původně (1984) bylo při posuzování standardní kvality mléka, oproti limitaci ČSN 570529, navrženo rozpětí TKM $5,6$ až $8,8$ °SH (střed $7,2$ °SH) při konfrontovaném pH $6,3$ až $7,2$ (střed $6,7$), což se z dnešního pohledu jeví jako poněkud odvážné. Při zohlednění popsaného vývoje, změn a současného stavu lze navrhnout TKM $5,78$ až $8,98$ °SH (střed $7,38$ °SH) při konfrontovaném pH $6,55$ až $6,95$ (střed $6,75$), při interpretaci kvality syrového mléka. V pojetí ČSN 570529 v poslední verzi 1993 TKM $6,2$ až $7,8$ °SH pak návrat k limitaci 6 až 8 °SH předchozí verze, i jako doporučený podklad pro případné aktuální dodavatelsko-odběratelské smlouvy.

Ve světě dnes řada mlékařsky méně tradičních zemí nyní buduje svoji potravinovou soběstačnost, zejména mlékařský systém. Dokladem je vyšší četnost vědeckých a odborných prací na téma TKM (Molina et al., 2001; Fischer et al., 2011; Machado et al., 2017; Özdemir a Kahyaoglu, 2020; Khastayeva et al., 2021; Nurtayeva, 2022) z uvedených lokalit v poslední době. Charakteristikou zde jsou těžší klimatické podmínky, je obtížné udržet trvale kvalitní výživu pro danou mléčnou užitkovost. Poměrně často extrémní teploty zatěžují hygienu mlékařské technologie a také jsou zde obtížné transportní vzdálenosti při problematičtější infrastruktuře. To klade vysoké nároky na dopravu a chlazení suroviny, ale také čas. Zde vzrostl zájem o rychlé rutinní měření TKM, především infračervenou spektroskopií MIR-FT pro kontrolu kvality suroviny, relevantních prací je však poměrně velmi málo (3; De Marchi et al. (2009, 2014), Colinet et al. (2013)). Také byly TKM i pH stanovovány prostřednictvím přístroje NIR-FT (Antaris, ThermoNicolet) v reflektančním modu, s poměrně příznivými výsledky, korelační koeficienty kalibrace $0,914$ až $0,978$ u TKM (Jankovská, 2004; Růžičková, 2007). Tyto výsledky však byly diskutovány v odborných komisích s vyjádřením pochybností, především klasických chemiků, jak by bylo možné, zejména u pH, měřit koncentraci vodíkových iontů známé velikosti vlnovými délkami v tak nevýhodném poměru k této velikosti cílové substance. Výsledky však ukazují, resp. se jeví pravděpodobné, že relevantní spektra mohou čerpat doplňkové informace z aktuálně korelujících (v daném případě k pH) látek směsi jako je mléko, a při daných technických

možnostech transformace (integrační sféra a Fourierova transformace (FT)) výtěžnosti signálu dosáhnout i z doprovodných zjištění uspokojivého řešení. Integrační sféra, v tomto případě v podobě skleněné koule, pak ovšem nabízí i poněkud prozaicko-mystičtější variantu vysvětlení tohoto překvapivého jevu, samozřejmě poněkud vně striktních vědeckých náhledů a úvah. Poněkud mírněji znějí tyto kritické námitky k TKM, kde cílové substance, skládající TKM, mají již převážně velikost organických molekul, tedy metodicky srozumitelnější experimentální design a výzkumnou hypotézu. Přesto reálné výsledky někdy překvapují tvůrce hypotézy, a jindy ne, podle toho, jak jsou hypotézy postaveny, jak už to tak bývá.

V daném případě databází A a B byly v transmisním modu MIR-FT (DairySpec FT) derivovány (Mr. Craig Parsons, Bentley Instruments, USA) poměrně úspěšné kalibrační modely pro TKM podle relevantních spekter MIR-FT: A kalibrační korelační koeficient 0,695 ($P < 0,001$), $n = 207$; A a B kalibrační korelační koeficient 0,91 ($P < 0,001$), $n = 414$. Ve druhém případě až 82,7 % variací v hodnotách TKM MIR-FT je determinováno variabilitou referenčních hodnot TKM. De Marchi et al. (2009, 2014) uvedli hodnotu 0,66 pro validaci korelace a Colinet et al. (2013) dosáhli pro TKM pomocí MIR-FT ještě poněkud efektivnější model s validací korelace 0,9, což bylo dosaženo i zde.

Model A ($n = 207$, původní mléko, primární TKM) je méně těsný, použitelný pro odhad TKM v oblastech bez problémů s infrastrukturou dopravy, chlazením mléka (dobré technologie), menší vzdálenosti, mírnější klima (menší fluktuace teplot). Model kombinovaný A a B ($n = 414$, primární a sekundární TKM), má vyšší korelaci (vyšší vysvětlení variability TKM v MIR-FT variabilitou TKM referenčních výsledků), je použitelný pro odhad TKM v oblastech s problémy s infrastrukturou dopravy, chlazením mléka (slabší technologie), velké vzdálenosti, drsnější klima (vysoké letní teploty - vyšší fluktuace teplot). U TKM byla provedena titrace mléka standardizovaným roztokem alkálie (reference). Pokud provádí činnost člověk, konec titrace je mírně subjektivní (lidské oko – když dva dělají totéž, není to totéž). Je zde pak možnost mírně měnit (přizpůsobovat) posunutí rovnice kalibračního modelu (konstanta) na lokální podmínky referenčních měření.

Při odhadu pH (A a B, $n = 418$) z hodnot spekter MIR-FT (Mr. Craig Parsons, Bentley Instruments, USA) byla stanovena regresní lineární rovnice $y = 0,9619x - 0,1593$ při směrnici blízké hodnotě 1 a relativně minimálním posunu přímky, blízkém hodnotě 0. Poměrně nový, a do značné míry překvapivě příznivý, poznatek byl rámován korelačním koeficientem 0,907 ($P < 0,001$), který slibuje vysokou efektivitu případné praktické aplikace. Zde až 82,3 % z variability odhadnutých hodnot pH (MIR-FT) bylo dáno variacemi v referenčních hodnotách pH a to navíc u validačního korelačního koeficientu kalibrace pH, neboť kalibrační model pro transformaci spekter MIR-FT pro odhad pH pocházel z jiné databáze z USA, zatímco referenční hodnoty z tohoto experimentu (ČR), stejně jako vlastní spektra MIR-FT (ČR).

ZÁVĚR / CONCLUSIONS

Práce ozřejmila historický vývoj přístupu k hodnotám titrační kyselosti a aktivní kyselosti mléka, jejich praktickou aktuální interpretaci s ohledem na četné faktory a nové možnosti analytických postupů.

PODĚKOVÁNÍ / ACKNOWLEDGEMENT

Sdělení vzniklo s podporou záměru MZe, RO 1424 a projektu MZe NAZV KvalSom, Země QK21010212. Dílčí aktivita Odboru živočišné výroby České akademie zemědělských věd.

LITERATURA / REFERENCES

Colinet, F. G., Soyeurt, H., Anceau, C., Vanlierde, A., Keyen, N., Dardenne, P., Gengler, N., Sindic, M. (2013): Potential estimation of titratable acidity in cow milk using mid-infrared spectrometry. In 37th International Committee for Animal Recording (ICAR) Meeting, Riga, Latvia, 2010. http://www.icar.org/Documents/Riga_2010/ppt/Colinet.pdf

ČSN 57 0529 (1993): Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování. Czech Normalization Institute, Prague.

ČSN 57 0530 (1972): Metody zkoušení mléka a tekutých mléčných výrobků. ČNI Praha.

De Marchi, M., Toffanin, V., Cassandro, M., Penasa, M. (2014): Invited review: Mid-infrared spectroscopy as phenotyping tool for milk traits. *Journal of Dairy Science*, 97: 1171–1186. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-6799>

De Marchi, M., Fagan, C. C., O'Donnell, C. P., Cecchinato, A., Dal Zotto, R., Cassandro, M., Penasa, M., Bittante, G. (2009): Prediction of coagulation properties, titratable acidity, and pH of bovine milk using mid-infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 92: 423–432. doi:10.3168/jds.2008-1163

Fischer, V., Ribeiro, M. E. R., Zanela, M. B., Marques, L. T., Abreu, A. S., Machado, S. C., Fruscalso, V., Barbosa, R. S., Stumpf, M. T. (2011): Leite instável não ácido: um problema solucio nável? XXI Congresso Brasileiro de Zootecnia, Universidade Federal de Alagoas, 23 a 27 de maio: 1–19.

Hanuš, O., Kučera, J., Říha, J., Hegedušová, Z., Jedelská, R. (2021 a): Význam hodnoty titrační kyselosti mléka nyní a dříve – část II. *Mlékařské listy - zpravodaj*, 32, 186(3): 1–8.

Hanuš, O., Roubal, P., Klimešová, M., Jedelská, R., Hegedušová, Z. (2019): Retrospektivní analýza trendů vývoje dojivosti a kvality syrového kravského mléka v České republice. *Mlékařské listy - zpravodaj*, 30, 172(1): 4–11.

Hanuš, O., Říha, J., Kučera, J., Hegedušová, Z., Jedelská, R. (2021 b): Význam hodnoty titrační kyselosti mléka dříve a nyní – část I. *Mlékařské listy - zpravodaj*, 32, 185(2): 1–7.

Jankovská, R. (2004): Využití blízké infračervené spektroskopie (NIR) při hodnocení vybraných mléčných produktů. *Doktorská disertační práce, MZLU v Brně*: 176.

Khastayeva, A. Z., Zhamurova, V. S., Mamayeva, L. A., Kozhabergenov, A. T., Karimov, N. Z., Muratbekova, K. M. (2021): Qualitative indicators of milk of Simmental and Holstein cows in different seasons of lactation. *Veterinary World*, 14(4): 956–963.

- Kratochvíl, L. (1984): Kyselost mléka a hodnota pH. *Náš chov*, 3, příloha Mlékárenský Průmysl: 1–2.
- Machado, S. C., Fischer, V., Stumpf, M. T., Stivanin, S. C. B. (2017): Seasonal variation, method of determination of bovine milk stability, and its relation with physical, chemical, and sanitary characteristics of raw milk. *Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science*, 46(4): 340–347. <https://doi.org/10.1590/s1806-92902017000400010>
- Molina, L. H., González, R., Brito, C., Carrillo, B., Pinto, M. (2001): Correlacion entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechem. *Archivos de medicina veterinaria / Archives Medicine Veterinary*, 33(2). <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2001000200012>
- Nurtayeva, Z. (2022): Analysis of qualitative and quantitative indicators of milk production and processing at the enterprises of the Akmola region. *Potravinárstvo, Slovak Journal of Food Sciences*, 16: 69–79. <https://doi.org/10.5219/1720>
- Özdemir, D., Kahyaoglu, D. T. (2020): Identification of microbiological, physical, and chemical quality of milk from milk collection centers in Kastamonu Province. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 44: 118–130. doi:10.3906/vet-1908-86
- Pen, A. (1995): Ursachen des erhöhten Säuregrades in der Kuhmilch. Bericht über die 22. Tierzuchttagung BAL Gumpenstein, Aktuelle Forschungsergebnisse und Versorgungsempfehlungen in der Rindermast und Milchviehfütterung: 51–57.
- Růžicková, J. (2007): Aplikace NIR spektrometrie v kontrole kvality zemědělských materiálů a produktů. *Disertační práce, MZLU Brno*: 136.
- Thieme, D. A., Dettmer, R., Schmeichel, A. (1983 a): Zur physiologischen Säurezahl-Norm für Herdenmischmilch. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 38(1): 13–16.
- Thieme, D. A., Grunwald, A., Kron, A., Sander, W., Schmeichel, A. (1983 b). Normalabweichungen der Säurezahl von Herdenmich und deren Ursachen. *Monatshefte für Veterinärmedizin*, 38(1): 16–24.
- Varvažovský, V., Kukačka, F., Mácha, F., Kroulík, J. et al. (1985): Sledování příčin výskytu nestandardního mléka v kyselosti pod 6,2 ml a s omezenými prokysávacími schopnostmi v návaznosti na úroveň výživy. *ÚKZÚS Praha, Závěrečná zpráva 1984–1985*: 21.
- Kontaktní adresa / Contact Information: prof. Ing. Oto Hanuš, Ph.D., Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha, Zemědělská 16, Šumperk 787 01, Česká republika, e-mail: hanus.oto@seznam.cz*