

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



**Změny v obsahu bílkovinných frakcí kozího mléka
v průběhu laktace**

Diplomová práce

Autor práce: Jana Opravilová

Obor studia: Výživa a potraviny

Vedoucí práce: doc. Ing. Alena Hejtmánková, CSc.

© 2017 ČZU v Praze

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Změny v obsahu bílkovinných frakcí kozího mléka v průběhu laktace vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne 8. 4. 2017 _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala paní doc. Ing. Aleně Hejtmánkové, CSc., za odborné vedení práce, trpělivost a čas, který mi věnovala. Děkuji i mé rodině a dalším blízkým za podporu.

Změny v obsahu bílkovinných frakcí kozího mléka v průběhu laktace

Souhrn

Kozí mléko se v České republice těší stále větší oblibě. Vliv na jeho stravitelnost, nutriční hodnotu i výtěžnost při výrobě sýrů má jak celkový obsah bílkovin, tak i obsah jednotlivých bílkovinných frakcí.

Metodou HPLC s detektorem diodového pole byly stanoveny jednotlivé bílkovinné frakce, konkrétně α -kasein, β -kasein, γ -kasein, α -laktalbumin a β -laktoglobulin A i B v kozím mléce plemene koza bílá krátkosrstá a koza sánská. Studován byl vliv fáze laktace a počtu somatických buněk na celkový obsah i procentuální zastoupení jednotlivých kaseinových a syrovátkových bílkovin. Souběžně byly analyzovány bazénové vzorky mléka z jednotlivých farem.

Nejvyšší celkový obsah bílkovin byl stanoven v bazénových vzorcích mléka kozy sánské chované na farmě F3, a to $2,27 \pm 0,36$ g/100 ml, zároveň bylo v mléce tohoto plemene stanoveno vyšší procentuální zastoupení α S1-kaseinu a na konci laktačního období také α S2-kaseinu. Celkový obsah bílkovin i zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí v bazénových vzorcích mléka kozy bílé krátkosrsté z farmy F1 a F2 si byly velmi podobné, průměrný celkový obsah bílkovin v mléce z farem F1 a F2 byl $1,38 \pm 0,25$ g/100 ml (Farma F1) a $1,6 \pm 0,25$ g/100 ml (Farma F2). Dále byl zaznamenán pokles celkového obsahu bílkovin ve střední fázi laktace a změna zastoupení jednotlivých frakcí kaseinů a syrovátky v průběhu laktace. Procentuální zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí ve vzorcích kozího mléka se také výrazně měnilo s počtem somatických buněk. Jelikož nebyly pozorovány žádné charakteristické souvislosti, je pravděpodobné, že na procentuální zastoupení jednotlivých frakcí působí i jiné vlivy. Pozorované změny v procentuálním zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí lze využít jak při výrobě dietetických preparátů tak při zpracování mléka a produkci mléčných výrobků.

Klíčová slova: kozí mléko, syrovátkové proteiny, kaseiny

Changes in the content of the protein fractions of goat's milk during lactation

Summary

Goat milk has become increasingly popular in the Czech Republic. Total protein content and the content of individual protein fractions has significant effect on the digestibility of the goat milk and on the nutritional value of the yield in cheese production.

Individual protein fractions were set by HPLC with diode array detector, namely α -casein, β -casein, γ -casein, lactalbumin, α - and β -lactoglobulin A and B in goat milk breed white short goat and goat Shan. We studied the influence of lactation stage and number of somatic cells to the total content and proportions of parts of casein and whey protein. Concurrently we analyzed milk samples from milk pools from individual farms.

The highest total protein content was found in a bulk milk samples of the Shan goat raised on the F3 farm. The respective values are 2.27 ± 0.36 g / 100 ml. Moreover the study finds a higher percentage of α S1-casein in the sample of this breed. Furthermore, at the end of the lactation period, we found a higher amount of α S2-casein in the milk sample produced by the Shan breed. The total protein content of the representation of the individual protein fractions in bulk milk samples from goats white shorthair farm F1 and F2 were very similar. The average total protein content of milk for farms F2 and F1 were 1.38 ± 0.25 g / 100 ml (Farm F1) of 1.6 ± 0.25 g / 100 ml (Farm F2). Additionally, we find a decrease in total protein content in the middle stage of lactation and a change in the representation of individual casein fractions and whey during lactation. The percentages of protein fractions in the samples of goat milk also varies significantly with the number of somatic cells. The results suggest that there are other, unobserved variables that have an effect on the percentage of the individual fractions. Observed changes in the percentage of individual protein fractions can be used in both the production of dietetic preparations and in processing of milk and dairy products.

Keywords: goat's milk, whey protein, casein

Obsah

1	Úvod	7
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	8
2.1	Cíle práce.....	8
2.2	Vědecké hypotézy.....	8
3	Literární rešerše	9
3.1	Význam mléka ve výživě	9
3.1.1	Vápník.....	9
3.1.2	Tuky.....	10
3.1.3	Sacharidy	10
3.2	Dětská výživa	10
3.3	Složení mléka.....	11
3.3.1	Tuky.....	11
3.3.2	Bílkoviny	12
3.3.3	Kaseiny	13
3.3.4	Syrovátkové bílkoviny	14
3.4	Změny při skladování, zpracování mléka	15
3.5	Nesnášenlivost mléka	15
3.6	Kozí mléko.....	16
3.6.1	Složení kozího mléka.....	16
3.6.2	Tuky.....	17
3.6.3	Sacharidy	18
3.6.4	Bílkoviny	19
3.6.5	Kaseinové bílkoviny.....	19
3.6.6	Syrovátkové bílkoviny	24
3.7	Výtěžnost kozího mléka při výrobě sýrů.....	26
3.8	Fermentované mléčné výrobky.....	27
3.9	Porovnání různých druhů mlék	27
3.10	Využití metody HPLC v analýze proteinů	29
4	Materiál a metody.....	31
4.1	Chemikálie.....	31
4.2	Pomůcky.....	31
4.3	Přístroje.....	31
4.4	Experimentální materiál	32

4.5	Příprava vzorků.....	32
4.6	Chromatografické podmínky.....	33
5	Výsledky.....	36
6	Diskuze.....	52
7	Závěr.....	56
8	Seznam použité literatury.....	57
9	Přílohy:.....	65
10	Seznamy.....	68
10.1	Seznam zkratk.....	68
10.2	Seznam obrázků	68
10.3	Seznam tabulek	68
10.4	Seznam grafů.....	69
10.5	Seznam příloh.....	70

1 Úvod

Bílkoviny jsou významnou součástí mléka. Mléčné bílkoviny dle jejich vlastností při srážení dělíme na syrovátkové a kaseinové. Obě frakce jsou důležitým parametrem pro nutriční hodnotu mléka a výrobků z něj a ovlivňují také technologickou výtěžnost jeho zpracování.

Ve výživě jsou mléčné bílkoviny ceněny jako plnohodnotný zdroj všech aminokyselin, které jsou pro tělo dobře dostupné. Sirovátkové proteiny jsou hojně využívány nejen ve sportovní výživě, ale také pro výrobu mléčných formulí a další léčebné výživy.

Obsah a složení jednotlivých frakcí bílkovin mají vliv při zpracování mléka. Zejména při výrobě tvarohů a sýrů.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

2.1 Cíle práce

Cílem diplomové práce je optimalizace HPLC metody pro stanovení jednotlivých bílkovinných frakcí v kozím mléce v jedné analýze a sledování jejich změn v průběhu laktace a porovnání a statistické zhodnocení zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí v kozím mléce různých plemen.

2.2 Vědecké hypotézy

- Různé bílkovinné frakce v kozím mléce lze s dostatečnou spolehlivostí stanovit v jedné analýze vhodnou metodou HPLC.
- Zastoupení bílkovinných frakcí v kozím mléce se liší během laktace.
- Zastoupení bílkovinných frakcí v kozím mléce různých plemen může být odlišné.

3 Literární rešerše

3.1 Význam mléka ve výživě

Skot byl domestikován přibližně před 7 tisíci let. První obrazové důkazy o využívání mléka pro obživu člověka pochází z Mezopotámie a Egypta. Důkazy o využití mléka k produkci sýrů jsou staré 4 tisíce let a zmínky o sýrařském zpracování mléka skotu lze najít i ve Starém zákoně. Mléko tedy hraje důležitou roli ve výživě člověka již velmi dlouho. Z historického hlediska se dá skotu v kavkazské populaci připisat stejně zásadní význam, jaký měla sója pro populaci asijskou. Obě tyto suroviny byly hlavním zdrojem bílkovin. Mléko je dodnes velmi důležitou potravinou. Je zdrojem esenciálních aminokyselin, vápníku, zinku, jodu, vitaminů B2, B12 a vitamínu A (Hanuš et al., 2004; Stránský, 2004).

3.1.1 Vápník

Vápník by měl být přijímán především z potravy, jelikož při podávání preparátů obsahujících vápník existuje riziko narušení metabolismu stopových prvků, zejména železa a zinku. Mléko obsahuje přibližně 120 mg vápníku na 100 g. Vápník je využitelný přibližně z 25 – 40 %. Jeho dobrá vstřebatelnost souvisí s chemickými formami, v jakých se vápník v mléku vyskytuje. Z 20 – 40 % je zde vápník ve formě rozpustných solí - citrátu a hydrogenfosforečnanu, asi 20 % je ve formě koloidního kaseinátu vápenatého a méně než polovina je vázána v téměř nerozpustném fosforečnanu vápenatém. V kysaných mléčných výrobcích, v nichž vzniká prokvašením laktózy mléčná kyselina, se navíc vytváří dobře vstřebatelný laktát vápenatý. Využitelnost vápníku je výrazně nižší z tavených sýrů, kde jejich vstřebatelnost snižují fosforečnany používané jako tavicí soli. Využitelnost vápníku z mléka zvyšují také mléčné bílkoviny, laktóza a volné aminokyseliny. Vápník je proto pro tělo výrazně dostupnější z mléka než z rostlinných zdrojů, kde se jeho vstřebatelnost díky fytové a šťavelové kyselině a vláknině snižuje na 5 – 10 %. Nejvíce vápníku je obsaženo v tvrdých sýrech, kde je jeho průměrný obsah 800 mg/100 g. Pro splnění doporučené denní dávky vápníku, která je stanovena na 1000 mg/den, stačí lehce přes 100 g tvrdého sýra, je však nutné přihlídnout ještě k jeho vstřebatelnosti. Z výživového hlediska je doporučeno, aby byly mlékem a mléčnými výrobky hrazeny 2/3 doporučené denní dávky vápníku a to sýry,

mlékem a kysanými mléčnými výrobky v poměru 1:1:1. Vápník je v těle vázán především v kostech a zubech ve formě hydroxyapatitu, fluoridu a uhličitanu. Dále má vápník zásadní význam pro nervové vedení vzruchu, nervosvalovou kontrakci, hemokoagulaci, vylučování hormonů a uplatňuje se také při mnoha metabolických procesech (Dostálová, 2016; Kalač, 2008; Kohout et al., 2016; Matouš, 2010).

3.1.2 Tuky

Další živinou, která je v mléce obsažena, je mléčný tuk. Mléko obsahuje průměrně 3,7 % tuku, ale jeho obsah v mléčných výrobcích značně kolísá. Mléčný tuk obsahuje asi 60 % nasycených mastných kyselin a 5 – 6 % trans nenasycených mastných kyselin (dnes spíše méně), které zvyšují hladinu krevních lipidů. Avšak asi třetinu nasycených mastných kyselin tvoří mastné kyseliny s krátkým řetězcem, což dělá mléčný tuk dobře stravitelným. Mléčný tuk obsahuje také cholesterol. Jeho množství značně kolísá od asi 2 mg na 100 g odstředěného mléka po přibližně 240 mg na 100 g másla. I přes tento fakt se v řadě studií prokázal hypocholesterolemický efekt při konzumaci mléka s obsahem tuku do 2 % a zakysaných mléčných výrobků. Na hypocholesterolemickém účinku se podílí obsah orotové kyseliny, vápníku, fosfolipidů a hydroxymethylglutarové kyseliny. Tuk je nositelem sensorických vlastností mléka a v neposlední řadě také vitaminů rozpustných v tucích (Kohout et al., 2016; Kohout, 2010).

3.1.3 Sacharidy

Často diskutovanou složkou mléka jsou sacharidy. Jejich obsah v mléce je kolem 5 %, z 90 % obsahují laktózu, sacharid složený z glukózy a galaktózy. Laktóza může být zdrojem zdravotních potíží pro jedince s laktózovou intolerancí (Kohout, 2010; Velíšek et Hajšlová, 2009).

3.2 Dětská výživa

Mléko má také nezastupitelný význam ve výživě dětí, kde je kravské mléko využíváno jako náhradní mléčná výživa, pokud dítě nemůže být ze závažných důvodů kojeno, ale také v pozdějším věku jako významný zdroj mnoha živin a minerálních látek důležitých pro

mineralizaci kostní tkáně a zdravý vývoj zubů. Některé studie zmiňují i příznivý vliv mléka v prevenci rizika vyššího krevního tlaku dětí i dospělých (Tláškal, 2006).

3.3 Složení mléka

Mléko je komplexní směs tuků, bílkovin, sacharidů, minerálů, vitamínů a dalších složek dispergovaných ve vodě. Je tvořeno především vodou z 87 – 91 %, dále tuky, v kozím mléce je asi 4,5 % obsah tuků. Sacharidy tvoří cca 4,3 %. Celkové proteiny přibližně 3,2 %, z toho připadá 2,6 % na kaseiny a 0,6 % na syrovátkové proteiny. Přibližně 0,8 % kozího mléka tvoří minerální látky (Velíšek et Hajšlová, 2009). Rozdíly v obsahu základních složek, různých druhů mléka jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Základní chemické složení mléka (hodnoty jsou uvedeny v %)

Složka	kozí mléko	ovčí mléko	kravské mléko	lidské mléko
celkové proteiny	3,2	4,6	3,2	0,9 - 1,6
kaseinové proteiny	2,6	3,9	2,6	0,4
proteiny syrovátky	0,6	0,7	0,6	0,5
tuky	4,5	7,2	3,9	4,5
sacharidy	4,3	4,8	4,6	7,1
minerální látky	0,8	0,9	0,7	0,2

Velíšek et Hajšlová, 2009

3.3.1 Tuky

Podíl tukové složky v mléce značně kolísá. Obvykle obsahuje vysoký podíl nasycených mastných kyselin (SFA) a to 70 až 75 %, ty se tvoří především v důsledku hydrolýzy a následné biohydrogenace z tuků z potravy v bachoru. Mononenasycené mastné kyseliny (MUFA) tvoří 20 až 25 % a polynenasycené mastné kyseliny (PUFA) 5 % mléčného tuku (Křížová et al., 2017).

Nejnovější studie ukazují, že tento poměr lze změnit například doplněním stravy koz o prospěšné lipidy připravené s izolátem syrovátkové bílkoviny, ta poskytuje PUFA ochranu proti biohydrogenaci v bachoru (Weinstein et al., 2015).

Nasycené mastné kyseliny jsou aterogenní, zvyšují hladinu cholesterolu v plazmě a zvyšují pravděpodobnost výskytu ischemické choroby srdeční. Množství nasycených

mastných kyselin je možné výrazně snížit a zlepšit tak koncentraci žádoucích lipidů vhodnou volbou krmiva. Přidáním olejnatých semen do krmiva se sníží obsah nasycených mastných kyselin v mléce, díky snížení „de novo“ syntézy mastných kyselin v mléčné žláze.

Nenasycené mastné kyseliny jako je α -linolenová kyselina (C18:3, n3), konjugovaná kyselina linolová (CLA - C18:2, c9t11) a olejová kyselina (C 18:1, n9c), které jsou v mléce zastoupeny, naopak mohou přinášet určité benefity, mezi něž lze zahrnout snižování celkového obsahu cholesterolu v krvi, antikarcinogenní a antidiabetické účinky, prevenci srdečních onemocnění a zlepšení imunity (Křížová et al, 2017).

3.3.2 Bílkoviny

Mléko je důležitým zdrojem plnohodnotných bílkovin. Bílkoviny jsou pro lidský organismus nezbytné. Plní mnoho významných funkcí. Bílkoviny různých struktur mají funkci enzymatickou. Aktivita enzymů je v organismu velmi citlivě regulována, a proto jsou enzymy nepřetržitě syntetizovány a odbourávány. Transport a ukládání látek v organismu je zajišťován bílkoviny – hemoglobin transportuje kyslík a oxid uhličitý, albuminy mastné kyseliny a některé lipidy, železo je ukládáno ve feritinu a jeho transport je uskutečňován pomocí proteinu transferinu. I pohyb člověka je na buněčné úrovni ve svalové tkáni zajišťován dvěma typy bílkovin – aktinem a myosinem. Dále mají bílkoviny funkci podpůrnou, zajišťují imunitní obranu, umožňují transformaci energie, regulaci metabolických procesů, umožňují vznik a přenos nervového vzruchu a ve formě plazmatických bílkovin udržují a stabilizují krevní objem. Z tohoto výčtu funkcí bílkovin v organismu je jistě patrná jejich důležitost. Proto je dostatečný příjem bílkovin pro organismus zásadní (Matouš, 2010; Holeček, 2006).

Bílkoviny přijímané potravou mohou sloužit jako zdroj energie, avšak pro organismus jsou důležitější jako zdroj aminokyselin, které tělo využívá pro syntézu vlastních bílkovin. Důležitá je tedy biologická hodnota přijaté bílkoviny. Biologická hodnota vyjadřuje přítomnost a množství nepostradatelných aminokyselin. Za plnohodnotné se považují bílkoviny vajec, mléka a masa. Naopak některé rostlinné zdroje mohou mít nedostatek esenciálních aminokyselin, zejména lysinu, tryptofanu a methioninu.

Dospělé osoby by měli denně přijímat 0,8 – 1 g bílkovin na kg tělesné váhy. Organismus zvyšuje svou potřebu bílkovin po nemoci, úrazu, fyzické aktivitě a v těhotenství. Nebezpečný

je pro organismus jak nedostatek, tak i nadbytek bílkovin. Déle trvající nedostatek bílkovin ve stravě se projeví jako kwashiorkor. Příznaky kwashiorkoru jsou otoky, atrofie kosterního svalstva a ascites. Nadměrný příjem bílkovin je obvykle spojen s vyšším příjmem nasycených mastných kyselin a cholesterolu, může tedy způsobit hypercholesterolémii, aterosklerózu nebo hypertenzi. Přímý vliv vysokého příjmu bílkovin nad 1,5 g/kg/den vede ke zvýšení dusíkatých katabolitů v plasmě, zvyšuje glomerulární filtraci a ovlivňuje funkci jater (Matouš, 2010; Holeček, 2006).

Množství proteinu v mléce je rozhodující pro jeho obchodní, technologickou a biologickou hodnotu. Čím více proteinů je v syrovém mléce, tím vyšší je výtěžnost při jeho technologické úpravě, jako je výroba fermentovaných mlék nebo sýrů. Mléčné proteiny mají dvě hlavní složky a to kaseinovou, která tvoří průměrně 80 % a syrovátkovou, tvořící průměrně 20 % proteinů mléka (Ottillia, 2009).

V posledních letech je stále větší pozornost věnována sledování specifických proteinových frakcí v mléce, získaných štěpením proteinů. Tyto proteinové frakce, kromě své výživové hodnoty, regulují fyziologické procesy a mohou mít příznivý vliv na celkový zdravotní stav (Ottillia, 2009).

Vysoká koncentrace aminokyselin s rozvětveným řetězcem (BCAA), přítomných v mléčné bílkovině je důležitá pro udržení růstu tkání, opravu a prevenci katabolických činností během cvičení. Mléko také obsahuje aminokyselinu cystein, která zvyšuje hladinu glutationu a vykazuje silné antioxidační vlastnosti, a tím pomáhá tělu v boji proti různým nemocem. Mléčné proteiny jsou využívány pro výrobu sportovní výživy, pečiva, salátových dresinků, jako emulgátory i pro výrobu kojenecké i speciální výživy (Rafiq et al., 2016).

3.3.3 Kaseiny

Kaseinová složka mléka obsahuje α S-kaseiny, β -kaseiny, γ -kaseiny a κ -kaseiny. Kaseiny se v mléce nevyskytují jako monomery, ale jsou agregovány do komplexů a micel. Micely vznikají při teplotě vyšší než 5 °C. Nejprve dochází k agregaci molekul do submicel po 25 – 30 molekulách kaseinů a tyto jsou pak uspořádány do micel. Kaseinová micela obsahuje přibližně 20 000 molekul kaseinů, má kulovitý tvar, její průměrná molekulová hmotnost je 108 kDa a průměrná velikost přibližně 100 nm. Nepocházející části jsou směřovány do středu a polární jsou lokalizovány na povrchu. Polární části jsou tvořeny fosfoserinovými zbytky α S a

β -kaseinů a threoninovými zbytky κ -kaseinu vázané glykosidickou vazbou s oligosacharidy, které interagují s vápenatými ionty a vodou. Spojování micel brání jejich solvátový hydratační vodný obal, který má záporný náboj (Forman et al.; 1996, Fox et al., 2004, Roginski et al., 2003; Velíšek et Hajšlová, 2009). Bylo zjištěno, že kaseinové micely na sebe vážou hydroxyapatit, vitamín A a hydrofobní sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností (Wang et al., 2017).

V kravském mléce jsou nejvíce zastoupeny α S-kaseiny, které se vyskytují ve formě α S1 a α S2 a obě tyto varianty mají další genetické modifikace A, B, C a D. Nejčastěji se vyskytují ve variantě B. Kasein α S1 je ve své nejobvyklejší B variantě složen ze 199 aminokyselin, 8 fosfoserinových zbytků vázaných především v polohách 43 – 80, ty dávají této části molekuly polární charakter, a nepolární postranní řetězce lokalizované v polohách 100 – 199. Kasein α S2 má podobnou strukturu, avšak kasein α S1 je citlivější na přítomnost vápenatých iontů se kterými tvoří nerozpustnou vápenatou sůl. Jako λ -kaseiny jsou označovány fragmenty α S1-kaseinu (Velíšek et Hajšlová, 2009).

B-kaseiny se skládají z 209 aminokyselinových zbytků, 5 fosfoserinových zbytků a nepolárních postranních řetězců. V prostředí s vápenatými ionty tvoří β -kaseiny sůl rozpustnou při teplotách nižších než 1 °C. Proteolytické enzymy rozkládají β -kaseiny za vzniku γ -kaseinů. Odštěpí-li se zbytek s počtem aminokyselin 1 – 28 vzniká γ 1-kasein, při odštěpení zbytku 1 – 105 vzniká γ 2-kasein a odštěpení zbytku 1 – 107 dá vzniknout γ 3-kaseinu (Velíšek et Hajšlová, 2009).

Poslední kaseinovou složkou jsou κ -kaseiny. V mléce se vyskytují ve dvou genetických variantách – A a B. Běžnější B varianta je složena ze 169 aminokyselinových zbytků a sacharidů. κ -kaseiny obsahují především rozvětvený tetrasacharid, ale existují i κ -kaseiny s navázaným rozvětveným nebo lineárním trisacharidem, disacharidem nebo N-acetyl-D-galaktosaminem. Cukry jsou vázány glykosidickou vazbou na threonin s pořadovým číslem 133. K-kasein tvoří rozpustné soli s vápenatými ionty, čímž stabilizuje α S1-kasein a β -kasein (Velíšek et Hajšlová, 2009).

3.3.4 Syrovátkové bílkoviny

Syrovátka obsahuje přibližně 50 % všech složek mléka. Dlouho však díky nízké koncentraci těchto složek, tvoří 6,4 – 7 % obsahu sušiny, byla syrovátka považována za

odpadní produkt. Dnes je však stále více využívána nejen v lidské výživě, ale také ve farmaceutickém průmyslu a kosmetice (Jansová et al., 2007).

Syrovátkové bílkoviny zůstávají v syrovátce po izoelektrickém vysrážení kaseinu (pH = 4,6) při 20 °C. V syrovátce se také vyskytují proteolytické štěpy kaseinu a proteiny z membrány tukových kuliček. Mezi syrovátkové proteiny patří α -laktalbumin, sérový albumin, β -laktoglobulin, imunoglobuliny (IgG, IgA, IgM) a polypeptidy – proteosy a peptony. Podobně jako kasein vykazují genetický polymorfismus.

Hlavní složkou jsou β -laktoglobuliny, které tvoří 50 % syrovátkových proteinů. β -laktoglobulin je tvořen 162 aminokyselinami, má 3 genetické varianty a v mléce se vyskytuje jako dimer. Při záhřevu nebo v přítomnosti vápenatých iontů nevratně denaturuje.

α -laktalbumin tvoří přibližně 30 % proteinů syrovátky. Existuje ve dvou genetických variantách a je součástí některých enzymů. Objev těchto dvou genetických variant vyvolal v roce 1995 zájem o výzkum mléčných bílkovin.

Biologicky významné jsou zejména vysokomolekulární globulární glykoproteiny, které mají účinnost protilátek – imunoglobuliny (Bordin et al., 2001; Borková et Snášelová, 2005; Farrel et al., 2004; Velíšek et Hajšlová, 2009).

3.4 Změny při skladování, zpracování mléka

Při pasteraci, sterilaci, fermentaci, zahušťování, sušení a dalších procesech dochází ke změnám složení, struktury i vlastností mléčných bílkovin.

Termolabilní jsou především syrovátkové bílkoviny. Při pasteraci denaturuje 50 – 90 % bílkovin syrovátky a dochází k inaktivaci většiny enzymů. Při sterilaci denaturuje 100 % bílkovin. Denaturované mléčné bílkoviny ovšem mají vyšší nutriční hodnotu než bílkoviny syrového mléka.

Kaseiny při pasteraci a sterilaci nedenaturují, dochází u nich však k defosforylaci, proteolýze a agregaci. (Velíšek et Hajšlová, 2009;)

3.5 Nesnášenlivost mléka

Nesnášenlivost mléka je v poslední době často řešena a probírána v médiích i veřejnosti. Problémy s nesnášenlivostí mléka lze rozdělit na laktózovou intoleranci a alergii na bílkovinu kravského mléka. Laktózová intolerance je způsobena deficitem laktázy v kartáčovém lemu

enterocytů tenkého střeva. Problémy při ní způsobuje mléčný cukr – laktóza, který není štěpen v tenkém střevě díky nepřítomnosti enzymu laktázy. Tento enzym štěpí vazbu mezi glukózou a galaktózou, monosacharidy obsaženými v laktóze. V dospělosti dochází k postupnému ubývání aktivity laktázy a to v závislosti na rase, zeměpisné šířce a pravidelné konzumaci mléka a mléčných výrobků. Odhaduje se, že v České republice trpí asi 50 % populace ve věku nad 40 let laktózovou intolerancí. I pacienti s laktózovou intolerancí dobře snášejí kysané mléčné výrobky. Laktózová intolerance však může vzniknout i sekundárně jako příznak jiných onemocnění. Dochází k ní při onemocněních tenkého střeva, jak akutních, mezi něž patří gastroenteritidy, tak chronických, ty jsou zastoupeny například neléčenou celiakií, Crohnovou chorobou a dalšími nemocemi. Laktózová intolerance se často objevuje také jako vedlejší účinek chemoterapie. Při alergii na bílkovinu kravského mléka, dochází k alergické reakci na některou z bílkovin kravského mléka, nejčastěji na β -laktoglobulin. Alergie na bílkovinu kravského mléka je nejčastější alergií u dětí do 3 let, která ve většině případů do dospělosti vymizí (Kohout, 2016).

3.6 Kozí mléko

Pokud mléko pochází od zdravé a dobře krmené dojné kozy je to bílá, neprůhledná tekutina s mírně sladkou chutí a nemá prakticky žádný pach. Fyzikální a chemické vlastnosti mléka jsou závislé na výrobních podmínkách a charakteristikách jednotlivých zvířat. Kozí mléko společně s ovčím mlékem představuje 4,25 % ze světové produkce mléka. Největší produkce kozího mléka je v Asii (Kalantzopoulos, 2003; Pavič et al, 2002; Tziboula, 2002). Významnými konzumenty kozího mléka v Evropě jsou zejména obyvatelé Francie a Itálie, kde mají bohaté zastoupení kozí sýry. Mléčné výrobky z kozího a ovčího mléka jsou tradiční součástí národního hospodářství v mnoha středomořských zemích, například ve Španělsku, Řecku, Turecku a Maroku (Park et al., 2007). V České republice spotřeba kozího mléka neustále stoupá (Bucek et al., 2006).

3.6.1 Složení kozího mléka

Složení kozího mléka je velmi podobné mléku kravskému. Kozí mléko obsahuje přibližně 13 % celkové sušiny, z toho asi 3,8 % tuku, 3,5 % proteinů, 4,1 % laktózy a 0,8 % minerálních látek. Podobně jako kravské mléko má 3 – 4 krát vyšší obsah proteinů a minerálů

a méně laktózy než mléko mateřské. Celková sušina a kalorická hodnota je u kozího, kravského i mateřského mléka podobná (Solaiman, 2010).

Kozí mléko se liší od kravského mléka v několika fyzikálně-chemických vlastnostech. Tyto vlastnosti vysvětlují rozdíly v technologickém chování obou mlék. Nižší výnos kozího mléka při výrobě sýrů je z velké části způsoben nižším obsahem kaseinu a specifickými vlastnostmi kaseinových micel v mléce koz. Kozí mléko má také jiný podíl hlavních kaseinů (α_1 , α_2 , β , κ) ve srovnání s mlékem kravským. Existují také velké rozdíly v obsahu α_1 -kaseinu a α_2 -kaseinu mezi různými plemeny koz i jednotlivými kozami, z důvodu výskytu genetických polymorfismů všech mléčných bílkovin, které mají vliv na vlastnosti mléka při výrobě sýrů (Ottillia, 2009). Kozí mléko má asi o 13 % více vápníku než mléko kravské, obsahuje také více fosforu. Je také dobrým zdrojem hořčíku, sodíku a železa (Kapadiya et al., 2016).

Složení kozího mléka se mění s výživou zvířete, plemenem, podmínkami životního prostředí, sezónou i fází laktace. Tuk, celková sušina a obsah bílkovin v mléku jsou vysoké na začátku laktace, pak rychle klesají a minima dosahují v průběhu druhého až třetího měsíce laktace (Ottillia, 2009). Dle Caka et al. (2016) byl obsah tuku v mléce nejnižší v rané fázi laktace. Obsah bílkovin, laktózy, tukuprosté sušiny a celkový obsah sušiny byl nejvyšší v polovině laktační fáze. Hodnota pH byla nejvyšší v pozdním stádiu laktace (Cak et al., 2016). Variabilita složení mléka, mezi jednotlivými zvířaty stejného plemene, je přičítána také rozsáhlému a komplexnímu genetickému polymorfismu kaseinů kozího mléka (Yadav et al., 2016). Bylo zjištěno, že typ farmy a roční období má vliv na obsah tuku, bílkovin, celkový obsah sušiny a mastných kyselin. Rozdíly v obsahu laktózy nebyly zjištěny (Kučecič et al., 2016).

3.6.2 Tuky

Celkový obsah tuku se většinou od kravského mléka příliš neliší (Yadav et al., 2016). Obsah tuku se v průběhu laktace pohybuje od 2,4 – 7,8 % (Solaiman, 2010). Kozí mléčný tuk se skládá z 98% z volných lipidů a 1 – 3 % z vázaných lipidů, které jsou převážně ve formě fosfolipidů vázaných v tukových globulích, z nich je 47 % neutrálních a 53 % polárních lipidů (Solaiman, 2010). Kozí mléčný tuk má prakticky nulový obsah karotenů, což způsobuje jeho bílou barvu (Dostálová, 2006). Průměrné složení mastných kyselin v kozím, kravském a mateřském mléce je znázorněno v tabulce 2. Velikost tukových kapének v kozím mléce se

pohybuje průměrně kolem $3,8 \pm 0,2 \mu\text{m}$, zatímco v mléce kravském je průměr velikosti tukových kapének $4,1 \pm 0,2 \mu\text{m}$. Menší tukové kapénky přispívají k lepší stravitelnosti kozího mléka, protože poskytují lepší disperzi a homogennější směs tuku. Velká celková plocha globulí usnadňuje enzymům kontakt s lipidy. Ty ale na druhou stranu snáze podléhají působení lipolytických enzymů, což způsobuje vady na chuti a vůni (Dostálová, 2006; Et-Thakafy, 2012; Yadav et al., 2016). Kozí mléčný tuk se liší od kravského v obsahu svých mastných kyselin. Kozí mléko má vyšší obsah máselné (C4:0), kapronové (C6:0), kaprylové (C8:0), kaprinové (C10:0), laurové (C12:0), myristové (C14:0), palmitové (C16:0) a linolové (C18: 2) kyseliny a nižší obsah stearové (C18:0) a olejové (C18:1) kyseliny. Vysoký podíl mastných kyselin s krátkým a středně dlouhým řetězcem v kozím mléce přispívá ke snadnějšímu a rychlejšímu trávení. Triacylglyceroly se středně dlouhým řetězcem jsou absorbovány ve střevě přímo, bez předchozí degradace a reesterifikace. Pro absorpci není nutná tvorba micel, protože molekuly jsou vedeny přímo do portální žíly. Kozí mléko navíc neobsahuje protein aglutinin, který podporuje shlukování tukových kuliček (Yadav et al., 2016).

Tabulka 2: Průměrné složení mastných kyselin v kozím, kravském a mateřském mléce v g/100 g tuku

mastné kyseliny	kozí mléko	kravské mléko	mateřské mléko
SFA	2,37	2	1,85
triglyceridy se stř. řetězcem	1,02	0,72	0,64
MUFA	1,06	0,92	1,65
PUFA	0,15	0,13	0,45

(Solaiman, 2010)

3.6.3 Sacharidy

Hlavním sacharidem kozího mléka je laktóza. Kozí mléko obsahuje asi o 0,4 % méně laktózy a asi 10 krát více oligosacharidů než mléko kravské. Tím může být zajímavé pro výrobce speciální dětské výživy. Kozí mléko také nabízí větší rozmanitost kyselých a neutrálních oligosacharidů než mléko kravské a ovčí (Solaiman, 2010).

3.6.4 Bílkoviny

Obsah bílkovin v kozím mléce je obdobný jako v mléce kravském. Příliš se neliší ani ve složení aminokyselin. V kozím mléce byl zjištěn vyšší obsah esenciálních aminokyselin o 0,92 g na 100 g bílkovin. Mírně se liší také obsahem jednotlivých aminokyselin v kaseinu. Kozí mléko obsahuje méně leucinu (cca o 20 mg.g⁻¹) a threoninu (cca o 35 mg.g⁻¹). Ukazuje se, že bioaktivní peptidy obsažené v kaseinech i syrovátce by mohly být využity například v prevenci i léčbě hypertenze jako ACE inhibitory (Ibrahim et al., 2016).

Aminokyselinový profil kozího mléka je podobný tomu z mléka krav i ovcí. Nejvíce je zastoupen glutamát, prolin a leucin. Esenciální aminokyseliny tvoří přibližně 40 % z celkového počtu aminokyselin v kozím mléce. Množství cysteinu v kozím mléce je podobné množství v mléce mateřském a je vyšší než v kravském mléce, nicméně kravské mléko obsahuje více methioninu (Hejtmánková et al., 2012).

3.6.5 Kaseinové bílkoviny

Průměrná velikost kaseinových micel v kozím mléce je 260 nm. (Wang et al., 2017). V zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí lze nalézt rozdíly mezi kozím a kravským mlékem. To pravděpodobně přispívá k nižší tepelné stabilitě a lepší stravitelnosti kozího mléka. Tohoto rozdílu lze také využít u některých pacientů, kteří trpí alergií na bílkovinu kravského mléka. Udává se, že kozí mléko nevdá asi 1/3 alergiků na bílkovinu mléka kravského. Pro hypoalergenní vlastnosti kozího mléka svědčí nízký obsah α S1-kaseinu, čímž se podobá mléku mateřskému. Při srážení kaseinů kozího mléka v prostředí žaludku s pH 4 vzniká lépe fermentovatelná, jemnější a lépe stravitelná sraženina. Složení kaseinu kozího mléka udává tabulka číslo 3.

Tabulka 3: Složení kaseinu kozího mléka

Kaseinová frakce	Podíl na celkovém kaseinu [%]
β -kasein	0*-64
κ -kasein	15-29
α S1-kasein	0*-28
α S2-kasein	10-25

(Roginski et al., 2003) *Nulový obsah v případě „nulové“ alely.

α S1-kasein se v kozím mléce nachází v 18 genetických variantách, tato varianta také určuje koncentraci této proteinové frakce v mléce a dle toho dochází také k dělení na kozí mléka silná, střední, slabá a nulová. V případě, že α S1-kasein není v mléce přítomen, může být zvýšená tvorba ostatních kaseinů. Nižší obsah α S1-kaseinu relativně zvyšuje obsah ostatních kaseinových frakcí a micely mají větší průměr (Devold et al, 2010; Mátlová et al., 2010; Rafiq et al., 2016). Hladiny α S1-kaseinu mají vliv na stravitelnost. Čím více je α S1-kaseinu v mléce přítomno, tím delší je trávení mléka. α S1-kasein je zcela hydrolyzován enzymy až ve dvanáctníku (Yadav et al., 2016). Syntéza α S1-kaseinu však nemusí vždy v kozím mléce probíhat. Tato vlastnost je specifická pro původní norské kozy. Tato mutace je označována jako exon 12 D alela a je způsobena delecí v exonu 12 na α S1-kasein genu. Tato alela se vyskytuje i u heterozygotů, ale nepřítomnost α S1-kaseinu se projeví jen u recesivních homozygotů. V populaci původních norských koz je asi 70 % výskyt koz s recesivními alelami. „Nulové“ alely se kromě norských koz objevují také u španělského plemene Canaria a italských plemen Frisa a Garganica. Nepřítomnost α S1-kaseinu ovlivňuje bílkovinný profil mléka i jeho pH. Kaseinová frakce α S1 má významný vliv na pevnost gelu. Po přidání syřidla mají silná mléka větší pevnost než slabá. Avšak i vzorky mléka s nízkým obsahem α S1-kaseinu jsou schopny tvořit silnou sraženinu. Tyto výsledky ukazují, že životní prostředí a další faktory mohou mít významný vliv na vlastnosti mléka (Devold et al., 2010).

Bylo prokázáno, že kaseinové geny mají vliv na vlastnosti mléka. Geny pro kozí kaseiny (CN) jsou umístěny na chromozomu 6 jako shluk zabírající 250 kilobází (kb). α S1-CN, β -CN a α S2-CN jsou citlivé na vápník a jsou kódovány geny CSN1S1, CSN2 a CSN1S2. CSN1S1 a CSN2, jsou od sebe vzdáleny pouze o 12 kb. K-CN je kódován genem CSN3 a je důležitý pro stabilizaci kaseinových micel (Küpper et al., 2010).

Gen CSN1S1 se rozprostírá na poměrně velké transkripční jednotce o 16.7 kb a skládá se z 19 exonů různé délky od 24 párů bází (bp) do 358 bp (Marletta et al., 2007). Dosud bylo charakterizováno 18 alel s různými rychlostmi syntézy α S1-CN, které mohou být rozděleny do čtyř skupin, na silné alely (A, B 1, B 2, B 3, B 4, B, C, H, L a M), střední alely (E a I), slabé alely (F a G) a nulové alely (01, 02 a N) (Küpper et al., 2010). Různé CSN1S1 genotypy vykazují různá množství α S1-kaseinu v rozmezí od 7 g.l⁻¹ pro silnou alelu homozygotních koz, až po 0,9 g.l⁻¹ pro slabou alelu respektive 0 g.l⁻¹ na alelu nulovou u homozygotů (Marletta et al.,

2007). Frekvence alel CSN1S1 se u jednotlivých plemen značně liší (Küpper et al., 2010). Varianty α 1-CN v kozím mléce jsou shrnuty v tabulce 4. Primární struktury A, B1, B2, B3, B4, C, E, H, I a L proteinových variant obsahují 199 zbytků a liší se substitucí jedné aminokyseliny způsobenou jednou bodovou mutací. D a F varianty jsou charakterizovány interní delecí 11 nebo 37 aminokyselinových zbytků (Marletta et al., 2007).

Tabulka 4: Alely/varianty α 1-CN kozího mléka

Alela/varianta	Záměna
A	Glu(77)→Gln
B1	Reference 199 amk zbytků
B2	Leu(16)→Pro
B3	Leu(16)→Pro; Arg(100)→Lys
B4	Leu(16)→Pro; Arg(100)→Lys; Thr(195)→Ala
C	Leu(16)→Pro; Arg(100)→Lys; Thr(195)→Ala; His(8)→Ile
D	Leu(16)→Pro Delece amk. 59→69
E	Leu(16)→Pro; Arg(100)→Lys; Thr(195)→Ala Inserce LINE z 457-458 bp na 124. z 19. exonu
F	Leu(16)→Pro Delece z amk. 59→95 Delece z 23.nukleotidu(nt) z 9. exonu a inserce z 11 bp a 3 bp v následujících intronech
G	Glu(77)→Gln Delece amk. 14→26
H	Glu(77)→Gln; Arg(1)→Lys
I	nevyjádřeno
L	Leu(16)→Pro; Arg(90)→His
M	Ser(66)→Leu
O1	Delece ~8.5kb začátku ze 181 nukleotidu na 12. intronu
O2	Velká nevyjádřená inserce
N	Delece z C na 23. nukleotid z 9. exonu bez inserce 11 bp a 3 bp v následujícím intronu

(Marletta et al., 2007)

CSN2 gen je menší než ostatní dva na vápník citlivé geny kaseinu, skládá se z 9 exonů v rozmezí od 492 (bp) do 24 bp. B-kasein, který je hlavní kaseinovou frakcí kozího mléka, byl dlouho považován za monomorfní (Marletta et al., 2007). Dnes je pro CSN2 geny známo 8 alel A, A1, B, C, C1, E, a 0, a 0 [primární varianta]. Obě 0,0 varianty jsou spojeny s nulovým obsahem β -kaseinu (Küpper et al., 2010). Zodpovědná je za to mutace, při které se předčasně vyskytuje stop kodon v exonu 7 (Caroli et al., 2006). Bylo zjištěno, že přítomnost alaninu v poloze 177 maturovaného proteinu, kóduje v kozím mléce i v mléce dalších přežvýkavců CSN2 A alela, zatímco alela CSN2 C kóduje v téže poloze aminokyselinu valin (Caroli et al., 2006). Přehled variant β -kaseinu v kozím mléce udává tabulka číslo 5.

Tabulka 5: Varianty/alely β – kaseinu v kozím mléce

varianta/alela	záměna
A	Reference 207 amk zbytků
A1	C→T na 180. nt z 9. exonu
O'	166 ak zbytků
O	Delece z A na pozici 16 ze 7. exonu
B	nevyjádřeno
C	Ala(177)→Val
D	Ala(177)→Val, Val(207)→Asn
E	Ser(166)→Tyr, C→A na pozici 370 ze 7. exonu

(Marletta et al., 2007)

Gen CSN1S2 je 18,5 kb dlouhý a skládá se z 18 exonů, o délce od 21 do 266 bp. Je známo sedm alel, které vykazují tři úrovně exprese (Marletta et al., 2007). Varianty A, B, C, E a F jsou spojeny s normálním obsahem α S2-CN, D s nižším obsahem, a O s nedostatkem specifického kaseinu (Küpper et al., 2010). V případě kozího mléka je možné předpokládat, že CSN1S2 E varianta pochází z CSN1S2 C, protože obě alely sdílejí isoleucin místo lysinu v poloze 167 maturovaného proteinu (Caroli et al., 2006). V tabulce 6 se nachází přehled variant α S2-kaseinu v kozím mléce.

Tabulka 6: Varianty/alely α S2-kaseinu v kozím mléce

Varianta/alela	Záměna
A	208 amk zbytků
B	Glu(64)→Lys, G→A na 10. nt z 9. exonu
C	Lys(167)→Ile, A→T na 15. nt z 16. exonu
D	205 amk zbytků, delece ze 122–124 amk zbytků, Thr (121)→Asn delece ze 106-bp zahrnující posledních 11 bp z 11. exonu a prvních 95 bp následujících intronů
E	Lys(167)→Ile; Pro(193)→Arg, C→G na 28. kodonu z 16. exonu
F	Val(7)→Ile, G→A na 13. nt v 3. exonu
O	109 amk zbytků G→A na 80. nt v 11. exonu
Sub A	Delece C-konečného tetrapeptidu
Sub B	Delece C-konečného tetrapeptidu

(Marletta et al., 2007)

Ve srovnání s kaseiny citlivými na vápník vykazuje CSN3 kasein charakteristické vlastnosti. Je to jediný glykosylovaný a hydrofilní kasein, takže je rozpustný v širokém rozsahu koncentrací vápenatých iontů. Jeho signální peptid se skládá z 21 zbytků, zatímco signální peptidy na vápník citlivých kaseinů obsahují pouze 15 zbytků. Gen κ -kaseinu se skládá z 5 exonů, z nichž 4 nesou více než 90 % informací kódujících zralý protein. Kozy

vykazují mezi přežvýkavci nejvyšší počet alel na CSN3. 15 jedno nukleotidových polymorfismů identifikovaných na úrovni DNA, vede k výskytu 16 alel - A, B, B [primární varianta], B" C, C [primární varianta], D, E, F, G, H, I, J, K, L, M. 13 z nich je charakterizováno změnami na úrovni proteinu, zatímco 3 alely vykazují tiché mutace (Küpper et al., 2010). Přehled variant κ -kaseinu v kozím mléce zobrazuje tabulka 7.

Tabulka 7: Varianty/alely κ -kaseinu v kozím mléce

Varianta/alela	Záměna
A	171 zbytků
B	Val(119)→Ile, G(471)→A
B'	Val(119)→Ile, C(170)→T, G(471)→A
B''	Val(119)→Ile, C(290)→T, G(471)→A
C	Val(65)→Ile; Val(119)→Ile; Ala(156)→Val; Ser(159)→Pro, T(245)→C, G(284)→A, G(309)→A, G(471)→A, C(583)→T, T(591)→C
C'	Val(65)→Ile; Val(119)→Ile; Ala(156)→Val; Ser(159)→Pro, T(245)→C, G(284)→A, G(309)→A, G(471)→A, C(583)→T, A(509)→G, T(591)→C
D	Gln(44)→Arg; Val(65)→Ile; Val(119)→Ile; Ser(159)→Pro, T(245)→C, A(247)→G, G(309)→A, G(471)→A, T(591)→C
E	Asp(90)→Gly; Val(119)→Ile, A(385)→G, G(471)→A
F	Val(119)→Ile; Ser(159)→Pro, T(245)→C, G(471)→A, T(591)→C
G	Val(65)→Ile; Val(119)→Ile; Ser(159)→Pro, T(245)→C, G(309)→A, G(471)→A, T(591)→C
H	Asn(53)→Ser; Val(119)→Ile, A(274)→G, G(471)→A
I	Val(65)→Ile; Val(119)→Ile, G(309)→A, G(471)→A
J	Tyr(61)→Cys; Val(119)→Ile, A(298)→G, G(471)→A
K	Gln(44)→Arg; Val(119)→Ile, A(247)→G, G(471)→A
L	Val(65)→Ile; Val(119)→Ile; Ser(159)→Pro, G(309)→A, G(471)→A, T(591)→C
M	Asp(90)→Asn; Val(119)→Ile; Val(145)→Ala; Ser(159)→Pro, T(245)→C, G(384)→A, G(471)→A, T(450)→C, T(591)→C

(Marletta et al., 2007)

Kaseiny jsou rezervoárem širokého spektra bioaktivních peptidů. Bioaktivní peptidy jsou drobné regulační látky s vlastnostmi podobnými hormonům. Bioaktivní peptidy jsou neaktivní v sekvenci proteinu, ale můžou se uvolnit enzymatickou proteolýzou v různých částech gastrointestinálního traktu při trávení potravin. Přehled kaseinových prekurzorů, z nich vznikajících bioaktivních peptidů a jejich účinky jsou uvedeny v tabulce 8. Tyto vlastnosti kozího mléka by mohly být využity při výrobě funkčních potravin (Marletta et al., 2007).

Tabulka 8: Bioaktivní látky v kozím mléce.

kaseinový prekurzor	bioaktivní peptid	bioaktivita
α -, β -kasein	kasomorfiny	opioidní agonista
κ -kasein	kasoxiny	opioidní antagonist
α -, β -kasein	kasokininy	ACE-inhibitor
α -, β -kasein	imunopeptidy	imunomodulátor
κ -kasein	kasoplateliny	Antithrombotický efekt
α -, β -kasein	fosfopeptidy	minerály vázající schopnost

(Marletta et al., 2007)

3.6.6 Syrovátkové bílkoviny

Kozí jakož i ovčí syrovátka mají jedinečnou syrovátkovou bílkovinovou kompozici ve srovnání se syrovátkou skotu (Moatsou et al., 2005). Podle většiny studií, mléčné bílkoviny syrovátky představují přibližně 20 % celkových proteinů. β -laktoglobulin (β -Lg) a α -laktalbuminu (α -La) jsou nejdůležitější syrovátkové bílkoviny vzhledem k jejich vysokému obsahu celkových proteinů syrovátky a významu pro potravinářský průmysl (Janovič et al., 2005). Poměr β -Lg / α -La, závisí na typu plemene, a rozdíly v poměrech β -Lg / α -La mohou souviset s různými funkčními vlastnostmi mléčné syrovátky (Moatsou et al., 2005). Stanovením syrovátkových bílkovin v kozím a ovčím mléce v průběhu laktace se zabývala Hejtmánková et al., (2012). Obsah celkového proteinu, stejně jako obsah syrovátkových bílkovin v kozím mléce, plemene koza bílá krátkosrstá, byl na rozdíl od mléka ovčího téměř konstantní po celé období laktace a pohyboval se kolem střední hodnoty. Průměrný celkový obsah bílkovin kozího mléka byl $2,75 \pm 0,2$ %. Průměrná hodnota obsahu syrovátkového proteinu v celkovém proteinu byla v kozím mléce $15,8 \pm 2,61$ %. Nejvíce byly v syrovátkových bílkovinách zastoupeny α -laktalbumin a β -laktoglobulin, v kozím mléce tvořily $86,7 \pm 2,23$ % z celkového syrovátkového proteinu.

Hlavní složkou syrovátkových proteinů v kozím mléce byl identifikován α -laktalbumin, avšak na konci období laktace se obsah β -laktoglobulinu prudce zvýšil. Koncentrace β -laktoglobulinu v kozím mléce byl, s výjimkou konce laktačního období, vždy nižší než koncentrace α -laktalbuminu. Průměrný poměr mezi β -laktoglobulinem a α -laktalbuminem v mléce kozy bílé krátkosrsté byl 0,59 a pohyboval se v období laktace v rozmezí od 0,25 do 1,94 (Hejtmánková, 2012). Pro jiná plemena se poměry mezi β -laktoglobulinem a α -laktalbuminem pohybovaly v rozmezí od 2,02 do 3,04 (Moatsou et al, 2005). Nejvyšší

koncentrace β -laktoglobulinu v kozím mléce byla zjištěna na konci laktačního období. Význam rostoucí koncentrace β -laktoglobulinu odpovídá skutečnosti, že se jedná o hlavní bílkovinu v syrovátce přežvýkavců a může hrát důležitou roli při vázání a transportu hydrofobních ligandů jako jsou retinoidy, alkeny, a mastné kyseliny. Navíc je důležitým zdrojem aminokyselin pro potomstvo (Hejtmánková, 2012, Konotopis et al., 2004). Kozí β -laktoglobulin i α -laktalbumin se vyskytují ve dvou formách. Kozí α -laktalbumin postrádá metionin a je podobný ovčímu analogu. (Roginski et al., 2003).

Celkové zastoupení esenciálních aminokyselin je asi 40 %. Nejvíce jsou v kozí syrovátce zastoupeny aminokyseliny glutamát, alanin a leucin, stejně jako celkově v mléce, ale oproti mléku je v syrovátce sníženo množství methioninu a naopak zvýšen obsah alaninu a glycinu. Obsah lysinu, isoleucinu, leucinu, valinu, a argininu je podobný jako v mléce (Hejtmánková et al., 2012).

Nejcitlivější na tepelné namáhání byly syrovátkové bílkoviny kozího mléka, jsou citlivější k tepelnému namáhání než syrovátkové bílkoviny kravského a ovčího mléka. Při záhřevu na 72 °C po dobu 10 minut, došlo k denaturaci 36 % syrovátkových bílkovin (Jansová et al., 2007).

Je také známo, že kozí syrovátka obsahuje látky, které, i když v nízkých koncentracích, mohou ovlivnit metabolické, imunologické a fyziologické procesy, a tím přispívají k pozitivním účinkům kozího mléka na lidský organismus (Silanikove et al., 2010).

Ve studii (de Souza Araújo et al., 2016) byla zkoumána schopnost kozí syrovátky zabránit střevnímu zánětu v experimentálním modelu krys indukovaných kyselinou octovou. Podávání kozí syrovátky (1, 2, a 4 g.kg⁻¹ tělesné hmotnosti) mělo na zánět tlustého střeva krys pozitivní účinky. Zlepšily se střevní zánětlivé markery, včetně myeloperoxidázové aktivity, hladiny leukotrienu, snížila se produkce prozánětlivých cytokinů IL-1 a tumor nekrotizujícího faktoru- α . Kromě toho, podávání kozí syrovátky významně snížilo střevní oxidační stres snížením hladiny malondialdehydu a zvýšením celkového obsahu glutathionu. Kozí syrovátka může být tedy potenciálně využita v léčbě zánětlivých střevních onemocnění (de Souza Araújo et al., 2016).

3.7 Výtěžnost koziho mléka při výrobě sýrů

Prvotním určujícím faktorem výtěžnosti sýrů je složení mléka a technologie, která určuje podíl komponent zachycených do sýra (Van Boekel, 1993). Podle Foxe et al. (2004) se maximální výtěžnost v praxi pohybuje okolo 75 % z celkového obsahu bílkovin v mléce (Fox et al., 2004).

Koagulace při sýření se liší s rozdíly ve složení mléka, a to zejména v závislosti na pH, obsahu vápníku a velikosti micel (Pirisi et al., 1994).

Remeuf et al. (1991) zjistili, že doba flokulace se snižuje se snížením velikosti micel. Je známo, že κ -kasein hraje zásadní roli ve struktuře micel v kravském mléce (Schmidt, 1982). Remeuf et al. (1989, 1991), a Laurent et al. (1992) zjistili pozitivní korelaci mezi pevností gelu a obsahem proteinů nebo kaseinu v kozím či kravském mléce. Remeuf et al. (1989) popsali negativní korelaci mezi velikostí kaseinových micel koziho mléka a pevností gelu, což se dobře shoduje s výsledky studie Pirisi et al. (1994). Gelová pevnost a výtěžek sýra se zvyšuje s nárůstem obsahu kaseinu. Tvaroh z mléka s vyšším obsahem α S1-kaseinu, měl vyšší řezný odpor a také menší ztráty tuku.

Vyšší tvrdost a plasticita sýrů z mléka s vyšším obsahem α S1-kaseinu, byla pravděpodobně způsobena vyšším obsahem sušiny a menším průměrem micel. Nicméně, po jednom měsíci zrání, byly sýry vyrobené z mléka s nižším obsahem α S1-kaseinu pevnější a měly více tvárnou strukturu než sýry vyrobené z mléka s vyšším obsahem α S1-kaseinu. Tyto vlastnosti jsou pravděpodobně spojeny s tím, že sýr si udržel nižší obsah vody a měl značně nižší obsah tuku (Pirisi et al., 1994).

Mléko koz s vyšší syntézou α S1-kaseinu bylo bohatší na sušinu, tuk a kasein a mělo menší střední velikost micel. Ukázalo se, že mléko těchto koz mělo lepší vlastnosti při srážení syřidlem. Celkový obsah pevných látek v sýru, využití tuků a hrubý výtěžek byly významně vyšší. Byly pozorovány také strukturní rozdíly, a to zejména v tvrdosti a pevnosti, u sýrů z mléka s různým obsahem α S1-kaseinu. Obsah α S1-kaseinu má tedy výrazný vliv na fyzikálně-chemické vlastnosti mléka a jeho kvalitu při využití k výrobě sýrů (Pirisi et al., 1994). Výtěžnost mléka snižují intramamární infekce, jako je například subklinická mastitida (Leitner et al., 2007). Ukázalo se že, vysoký obsah fenolů v mléce zlepšoval kvalitu mléka, v ohledu k jeho oxidační stabilitě, účinnosti zpracování a kvalitě mléčných výrobků (O'Connell et Fox, 2001).

Některé sýry jsou vyráběny zvláštní technologií využívající vysoké tepelné ošetření (cca při 90 °C) mléka, které poskytuje vyšší výtěžnost sýrů. Například v jižní Itálii je typický tradiční sýr vyráběný z kozího mléka nazývaný Cacioricotta, kde je proteolýza základem biochemických procesů v průběhu zrání sýru a přispívá k vývoji chuti a textury sýru (Bucek et al., 2007).

3.8 Fermentované mléčné výrobky

Produkty z kozího mléka jsou díky svým biochemickým, nutričním a organoleptickým vlastnostem považovány za vysoce kvalitní produkty. Spotřeba kozího mléka má pozitivní vliv na metabolismus Fe, kostní obrat a enzymatickou antioxidační ochranu (Moreno-Fernandez, 2016).

Studie (Moreno-Fernandez, 2016) ukázala, že s výjimkou alaninu, v jehož obsahu rozdíly nebyly statisticky významné, jsou všechny ostatní aminokyseliny ve fermentovaném kozím mléce více zastoupeny než ve fermentovaném kravském mléce, rozdíly se pohybovali mezi 13 a 46 %.

Profil mastných kyselin kravského a kozího fermentovaného mléčného tuku ukázal, že s výjimkou hodnot pro C11:0, C13:0, C16:0, C18:0, C20:5, C22:5, a celkového množství nasycených a mononenasycených mastných kyselin, všechny ostatní sledované mastné kyseliny byly obsaženy v kravském a kozím mléce v odlišném množství. C4:0, C14:0, C14:1, C15:0, C16:0, C16:1, C17:0, C18:3 a C20:4 byly ve fermentovaném kozím mléce ve významně nižším množství ve srovnání s fermentovaným kravským mlékem. Naopak byl ve fermentovaném kozím mléce ve srovnání s fermentovaným kravským mlékem vyšší obsah C8 0, C10:0, C18:2, n-6 a PUFA n-3 ($P < 0, 01$) pro C6:0, C18:1, n-9, PUFA a PUFA n-6 (Moreno-Fernandez et al., 2016).

3.9 Porovnání různých druhů mlék

Při hodnocení obsahu minerálních látek ve fermentovaných výrobcích by zjištěn stejný obsah K, P a I v kravském i kozím fermentovaném mléce. Ovšem obsah Ca, Mg, Zn, Fe, Cu, Se byl vyšší v kozím mléce.

Fermentované kozí mléko mělo nižší množství vitamínu C, kyseliny listové a vitamínu E a vyšší hodnoty vitamínu B6, B12, A a D3 (Moreno-Fernandez et al., 2016).

Plazmin (PL) je hlavní mléčná proteináza, zvýšení její aktivity může vést k degradaci kaseinu v mléce a snížení výtěžku sýra. Kozí mléko obsahuje celý systém PL: PL, plazminogen (PG), inhibitory PL, PG aktivátory a inhibitory PG aktivátorů (Yadav et al., 2016).

Obsah minerálních látek v mléce francouzsko-alpských a anglo-nubijských kozích plemen vykazoval vyšší hodnoty Ca, P, K, Mg, a Cl a nižší hodnoty Na a S než v kravském mléce (Yadav et al., 2016).

V kozím mléce převládají podobné bakteriální rody jako v mléce mateřském. Jedná se rody *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., a *Lactobacillus* spp (Li et al., 2017). Kozí mléko obsahuje laktoperoxidázu, která je účinná proti bakteriím způsobujícím cholera (*Vibrio cholerae*), tyfus (*Salmonella typhi*), zápal plic (*Klebsiella pneumoniae*), úplavici (*Shigella dysenteriae*) a kažení potravin (*Staphylococcus aureus*) (Yadav et al., 2016). Ukázalo se, že kvašené kozí mléko (*Lactobacillus fermentus ME-3*) vykazuje u zdravých jedinců antioxidační a anti-aterogenní účinky, snižuje tedy riziko kardiovaskulárních onemocnění. Na myším modelu se prokázalo, že kozí mléko fermentované *Lactobacillus rhamnosus*, stimuluje mukózní imunitní systém a zlepšuje ochranu proti infekcím střev a dýchacích cest. Fermentované výrobky by mohly mít příznivý vliv proti vysokému krevnímu tlaku. Fermentace by také mohla zvýšit obsah listové kyseliny, kterou kozí mléko neobsahuje (Yadav et al., 2016).

Produkcí, složením i oxidačními procesy v mléce lze upravit stravou koz. Jako přínosné se ukázalo například přidání čaje *Moringa oleifera* do krmiva (Babiker et al., 2017).

Bylo testováno využití oleje *Echium* jako doplňku stravy koz. *Echium* olej se získává ze semen *Echium plantagineum*, což je léčivá rostlina z čeledi brutnákovité (*Boraginaceae*). Olej má charakteristický profil mastných kyselin (FA), je bohatý na n-3 a n-6 mastné kyseliny. Doplnění krmiva o tento olej bylo užitečné pro zvýšení produkce mléka a obsahu mléčných bílkovin, jakož i ke zlepšení celkového profilu mastných kyselin. Bylo zaznamenáno významné snížení hypercholesterolemických nasycených mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem a poměru n-6 / n-3 MK. Dále bylo pozorováno významné zvýšení VLC PUFA, jako jsou eikosapentaenová kyselina (20:5, n-3, všechny cis-5, 8, 11, 14, 17, EPA), dokosahexaenová kyselina (22:6, n-3, všechny cis – 4, 7, 10, 13, 16, 19, DHA) a dihomog- γ -linolenová kyselina (20:3, n-6, všechny cis – 8, 11, 14, DGLA). Nicméně, je třeba olej chránit

proti biohydrogenaci v bachoru, jinak se příznivé účinky na mléko téměř neprojeví (Renna et al., 2016).

Byl testován také vliv dietního začlenění řasy *Chlorella pyrenoidosa* na profil mastných kyselin a na aktivitu superoxiddismutázy, glutathionreduktázy a laktoperoxidázy v kozím mléce. Výsledky ukázaly, že přidavek 11 g řasy *Chlorelly pyrenoidosy* do stravy koz po dobu 28 dní nemělo znatelný vliv na výtěžek kozího mléka, chemické složení ani profil mastných kyselin a další sledované parametry (Tsiplakou et al., 2017).

Byl zjištěn významný vliv věku a délky laktace na obsah bílkovin, tuků, celkové sušiny, tukuprosté sušiny, kaseinu a dojivost. Nicméně, měsíc narození a počet narozených mláďat neovlivnilo složení mléka. Byl zkoumán vliv B1, B2, B3 a E alel CSN1S1 genu na produkci a složení mléka kozy sánské. Bylo zjištěno, že B3 a E alely ovlivňují složení mléka. Vliv B1 a B2 alel na složení mléka nebyl zatím prokázán. Alela B3 měla významný vliv na obsah bílkovin, tuků, celkové sušiny, tukuprosté sušiny, kaseinu a laktózy. E alela výrazně ovlivnila obsah tuku a celkové sušiny.

Obsah proteinů, tuků, celkové sušiny, tukuprosté sušiny a kaseinu byl sledován u koz s různými alelami. U koz s alelami B3 / B3 byl obsah vyšší než u koz s alelami B3 / NB3 (NB3: non-B3) a NB3 / NB3. Pro E alely bylo zjištěno, že kozy s alelami NE / NE mají v mléce vyšší obsah tuků a celkové sušiny, než jejich E / E a E / NE protějšky (Turhan Dincel et al., 2016).

3.10 Využití metody HPLC v analýze proteinů

Chromatografické metody mají rozsáhlé uplatnění v izolaci mléčných proteinů. Výhodou HPLC techniky je její rychlost, jednoduchost a možnost automatizace (Borková et Snášelová, 2005). Nicméně rozhodující faktor pro rozvoj HPLC je citlivost této metody. V dnešní době se vyvíjejí stále menší kolony s menším průměrem a nové typy stacionárních fází, které jsou schopny selektivně vázat určité typy analytu (Mitulovic et Mechter, 2006).

Analýza mléčných proteinů může být provedena pomocí reverzní fáze, výměnou iontů (jak aniontů, tak i kationtů), molekulovou permeační chromatografií i hydrofobní kapalinovou chromatografií (Borková et Snášelová, 2005).

Reverzní fáze HPLC je technika chromatografické separace analytů na základě jejich hydrofobních vlastností (Borková et Snášelová, 2005). Je založená na interakci mezi vzorkem, hydrofobní stacionární fází a hydrofilní polární mobilní fází, tento postup je nejpoužívanější

separační technikou v proteomice, a používá se již od roku 1976 (Mitulovic et Mechter, 2006). Kvantifikace druhů mléka touto metodou se provádí v rozsahu koncentrací proteinů 5 – 95 %. Metoda byla úspěšně použita pro stanovení pravosti a množství individuálních druhů mlék v ovčích a kozích sýrech. Lze ji využít k detekci přídavku kravského mléka do mléka kozího analýzou syrovátkových proteinů. Nevýhodou této metody je, že nezaznamená rozdíl mezi kozím a ovčím mlékem, jelikož jejich syrovátkové proteiny mají velmi podobné retenční časy (Borková et Snášelová, 2005).

Iontová chromatografie je založen na separaci iontovou výměnou mezi mobilní a stacionární fází. Anexová rychlá proteinová kapalinová chromatografie byla použita pro identifikaci pravosti kozích produktu. Autorům se podařilo oddělit kaseiny kravského a kozího mléka, ale vzorek byl negativně ovlivněn značnou proteolýzou, nebylo možné identifikovat příměsi. Tuto techniku je možné použít pro identifikaci kravského mléka v kozím mléce detekcí bovinního α S1-kaseinu (Borková et Snášelová, 2005).

V případě hydrofobní interaktivní chromatografie probíhá separace látek v hydrofobní stacionární fázi snížením iontové síly mobilní fáze. Tato technika byla použita pro separaci a stanovení α S1-, α S2-, β - a κ -kaseinu v kravském, ovčím a kozím mléce, jejich směsí a sýrů. Touto metodou lze stanovit příměs jiného druhu mléka, pokud je jeho koncentrace alespoň 10% nebo vyšší (Borková et Snášelová, 2005).

Přístrojové vybavení pro HPLC výzkum v proteomice se neliší od běžného HPLC vybavení. Čerpací systémy, separační kolony a detektory používané pro detekci proteinů jsou používány i pro konvenční analýzu. Rozdíl je však v rychlosti průtoku a tedy i rozměrech chromatografických kolon a parametrech stacionární fáze (Mitulovic et Mechter, 2006).

4 Materiál a metody

4.1 Chemikálie

Všechny použité chemikálie (mimo deionizované vody) jsou značky Sigma-Aldrich

- Kyselina trifluoroctová (TFA) – řada ReagentPlus[®], čistota ≥ 99%
- Dithiotreitol (DTT) – řada BioUltra, $c = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$, čistota p.a.
- Acetonitril – CHROMASOLV[®] Plus pro HPLC, čistota ≥ 99,9 %
- Guanidin hydrochlorid, čistota ≥ 99,5 %
- Citran sodný, čistota ≥ 99 %
- Kasein celkový z bovinního mléka – Technical Grade
- α -kasein – lyofilizovaný prášek, čistota ≥ 70 %
- β -kasein – lyofilizovaný prášek, řada BioUltra, čistota ≥ 98 %
- κ -kasein – lyofilizovaný prášek, čistota ≥ 70 %
- β -LgB - lyofilizovaný prášek, čistota ≥ 90 %
- β -LgA - lyofilizovaný prášek, čistota ≥ 90 %
- α -La - lyofilizovaný prášek, čistota ≥ 85 %
- Deionizovaná voda (odpor = 18,2 M Ω)

4.2 Pomůcky

- Běžné laboratorní sklo
- Automatické pipety (100–1000 μl)
- Injekční stříkačky (2 ml)
- PVDF mikrofiltry s porozitou 0,45 μm , Chromservis, Česká Republika
- HPLC krimpovací vialka (2 ml)

4.3 Přístroje

- Kapalinový chromatogram e2695 s PDA detektorem 996 (Waters Corporation, USA)
- Centrifuga 5810R (Eppendorf, Německo)
- Filtrační přístroj na demineralizaci vody značky Millipore, s vodní vývěvou
- Spektrofotometr NIR na mléko Dairy Spec FT

- Analytické váhy (Kern&Sohn GmbH, Německo)
- Ultrazvuková lázeň (Notus – Powersonic, Slovakia)
- Mrazicí box (Liebherr Mediline, Německo)
- Lednice (Candy, Itálie)

4.4 Experimentální materiál

Bylo analyzováno kozí mléko nadojené ve třech různých farmách (F1, F2 a F3) nacházejících se v různých místech České republiky. Na farmách F1 a F2 je chováno shodně plemeno koza bílá krátkosrstá (KBK), na farmě F3 je chováno plemeno koza sánská (KS). Bazénové vzorky mléka i vzorky mléka získané individuálním nádojem byly odebírány opakovaně v průběhu laktačního období. V individuálních vzorcích mléka byly ve Výzkumném ústavu mlékárenském, který zajišťoval odběr vzorku, stanoveny počty somatických buněk a vzorky mléka byly roztrženy do tří skupin podle jejich počtu. Individuální vzorky mléka zařazené do stejné skupiny byly slity a následně byly jednotlivé skupiny mlék analyzovány. Počty somatických buněk v jednotlivých skupinách byly následující $< 500 \times 10^3$, $500 - 1000 \times 10^3$ a $> 1000 \times 10^3$.

4.5 Příprava vzorků

Přibližně 10 ml syrového nehomogenizovaného mléka bylo odstředěno na centrifuze Eppendorf 5810R rychlostí 12000 rpm (15 281g) při teplotě 4 °C po dobu 10 minut. Poté bylo odstředěné mléko necháno 5 minut v mrazicím boxu (-20 °C) a následně slito mléčné sérum (supernatan). K 0,5 ml mléčného séra bylo přidáno 2,5 ml pufru obsahujícího 6M guanidin-HCl, 20mM dithiothreitol a 5mM citran trisodný a naředěno 7,5 ml deionizované vody. Vzorek byl krátce vortexován a ponechán 1 hodinu inkubovat. Poté byl vzorek opět krátce vortexován a následně přefiltrován přes membránový filtr (celulóza-acetát, 0,45 μm) do vialky. Na filtraci každého vzorku bylo nutno použít nový mikrofiltr, neboť část vzorku se na filtru zachytí, metoda pravděpodobně nejen z těchto důvodů neposkytuje 100% výtěžnost.

4.6 Chromatografické podmínky

- Analytická kolona: Vydac 214TP C4 5 μm (průměr 2,1 mm, délka 150 mm), (Grace Discovery Sciences, USA)
- Složení mobilní fáze A – H₂O: acetonitril (10:90), (v/v) s podílem 0,1 % TFA
- Složení mobilní fáze B – H₂O: acetonitril (90:10), (v/v) s podílem 0,1 % TFA
- Průtok mobilní fáze: 0,25 ml.min⁻¹
- Typ eluce: gradientová
- Teplota chromatografické kolony: 40 °C
- Objem analyzovaného vzorku: 20 μl
- Doba analýzy: 71 minut
- Podmínky detekce: detektor diodového pole (PDA), vlnová délka $\lambda = 218 \text{ nm}$
- Schéma gradientové eluce je uvedeno v Tabulce 9

Tabulka 9: Podmínky gradientové eluce.

Čas (min)	Průtok (ml/min)	%A	%B	Typ křivky
0	0,25	78,5	21,5	6
3	0,25	73,5	26,5	6
6	0,25	71,4	28,5	6
16	0,25	69,4	30,6	6
27	0,25	63,9	36,1	6
31	0,25	63,9	36,1	2
39	0,25	62,2	37,8	6
52	0,25	58,7	41,3	11
63	0,25	56,7	43,3	11
66	0,25	56,7	43,3	6
69	0,25	78,5	21,5	6
71	0,25	78,5	24,5	6

Standardy kaseinů i syrovátkových bílkovin byly rozpuštěny ve výše uvedeném pufru a použity k tvorbě kalibračních křivek. Všechny kalibrační křivky byly lineární ve zvoleném koncentračním rozsahu, odpovídajícímu očekávaným hodnotám sledovaných analytů v mléce (korelační koeficient $R = 0,972 - 0,999$). Nejnižší hodnota korelačního koeficientu odpovídá kalibrační závislosti κ -kaseinu. Meze detekce (LOD) a meze stanovitelnosti (LOQ) pro jednotlivé bílkovinné frakce jsou uvedeny v Tabulce 10.

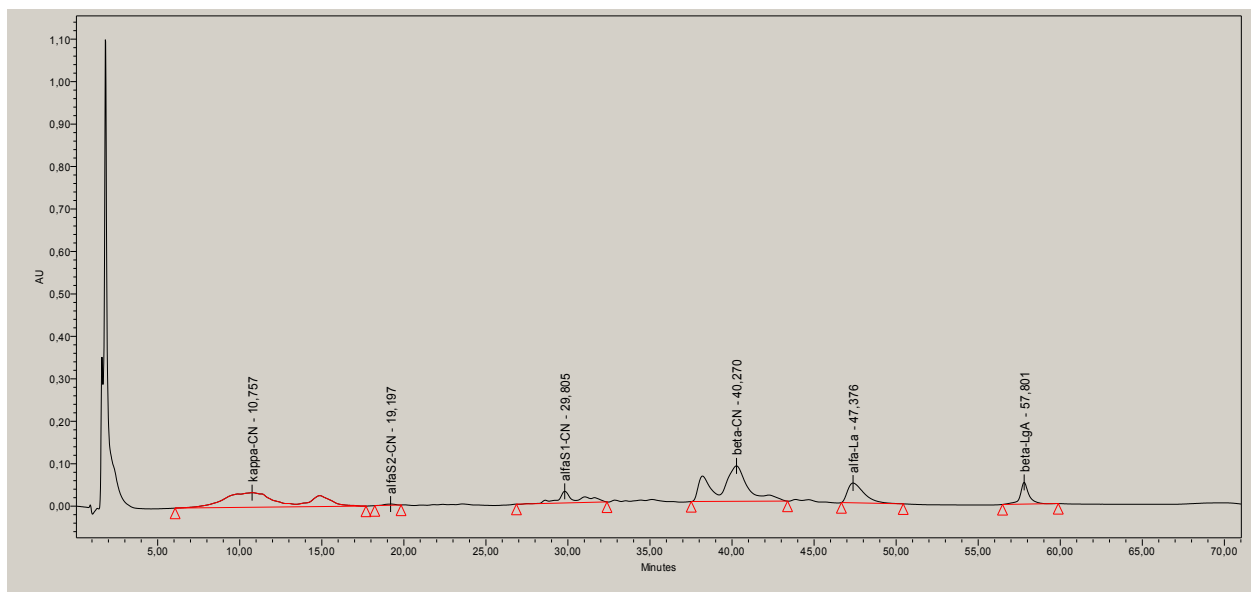
Tabulka 10: Meze detekce a stanovitelnosti sledovaných analytů.

Bílkovinná frakce	Symbol	LOD [mg/ml]	LOQ [mg/ml]
α_{S1}-kasein	α_{S1}-CN	0,02	0,07
α_{S2} -kasein	α_{S2} -CN	0,05	0,17
β -kasein	β -CN	0,05	0,17
κ -kasein	κ -CN	0,02	0,07
α -laktalbumin	α -La	0,03	0,10
β -laktoglobulin A	β -Lg A	0,03	0,10
β -laktoglobulin B	β -Lg B	0,02	0,07

Z chromatogramů kozího mléka obr. 1 a obr. 2 je zřejmé, že ve srovnání s chromatogramem kravského mléka (příloha 1) dochází ke změně retenčního času (posun k nižším hodnotám) syrovátkových bílkovin s výjimkou β -laktoglobulinu A a navíc se v chromatogramech kozího mléka vyskytují pouze 2 chromatografické píky syrovátkových bílkovin, z nichž jeden s velmi vysokou pravděpodobností odpovídá β -laktoglobulinu A. Protože dochází k posunu retenčního času druhého píku syrovátkových bílkovin a zároveň nejsou dostupné příslušné standardy kozího mléka, nelze s dostatečnou přesností rozhodnout, zda druhý chromatografický pík přísluší α -laktalbuminu nebo β -laktoglobulinu B nebo zda případně dochází ke koeluci těchto 2 látek. Tento pík byl vyhodnocen dvojným způsobem. Jednak jako by se jednalo o α -laktalbumin, v druhém případě o β -laktoglobulin B.

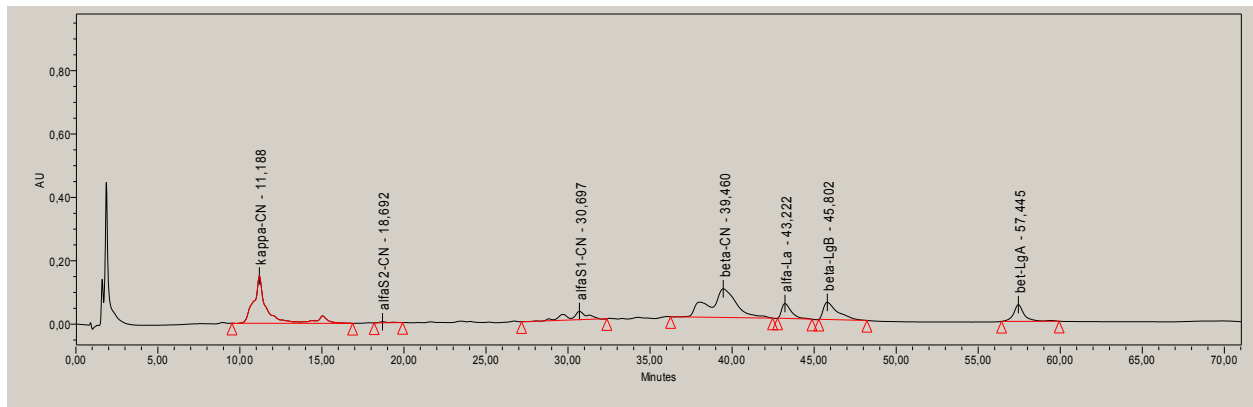
V druhém případě by však v mléce nebyl přítomen téměř žádný laktalbumin (tomu byl přiřazen jiný chromatografický pík s velmi malou plochou) a navíc vypočtené % zastoupení kaseinových frakcí v mléce bylo průměrně o 10 % nižší a u některých vzorků kleslo až na 60 %. Z těchto důvodů, se zdá být pravděpodobnější, že se jedná o α -laktalbumin. Tato hypotéza je podpořena prací Ruprichové et al. (2014), ve které autoři uvádějí chromatogramy syrovátkových bílkovin kravského, kozího a ovčího mléka a na rozdíl od kravského a ovčího mléka v chromatogramu kozího mléka jsou přítomny pouze 2 chromatografické píky, a to α -laktalbumin a β -laktoglobulin bez rozlišení, zda jde o typ A nebo B. Metodu lze považovat za plně vyhovující pouze pro stanovení kaseinových frakcí v kozím mléce, pro spolehlivé stanovení jednotlivých syrovátkových bílkovin musí být metoda dále optimalizována.

Obr 1. Chromatogram kozího mléka, v němž nebyl detekován β -laktoglobulin B



plemeno koza bílá krátkosrstá

Obr. 2. Chromatogram kozího mléka, v němž byl detekován β -laktoglobulin B

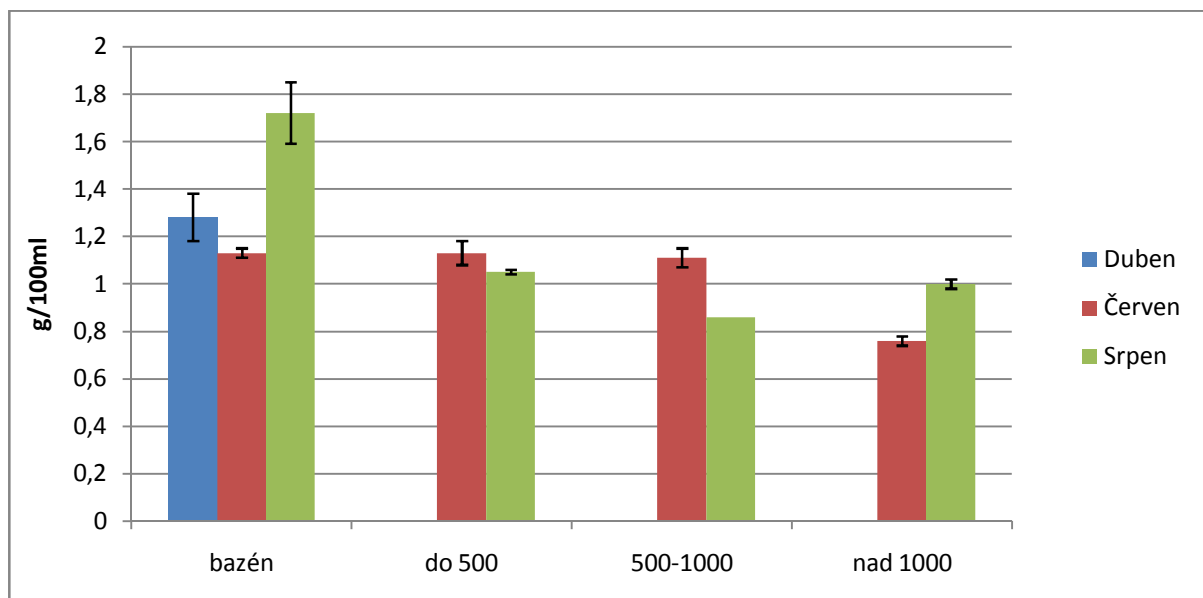


plemeno koza sánská

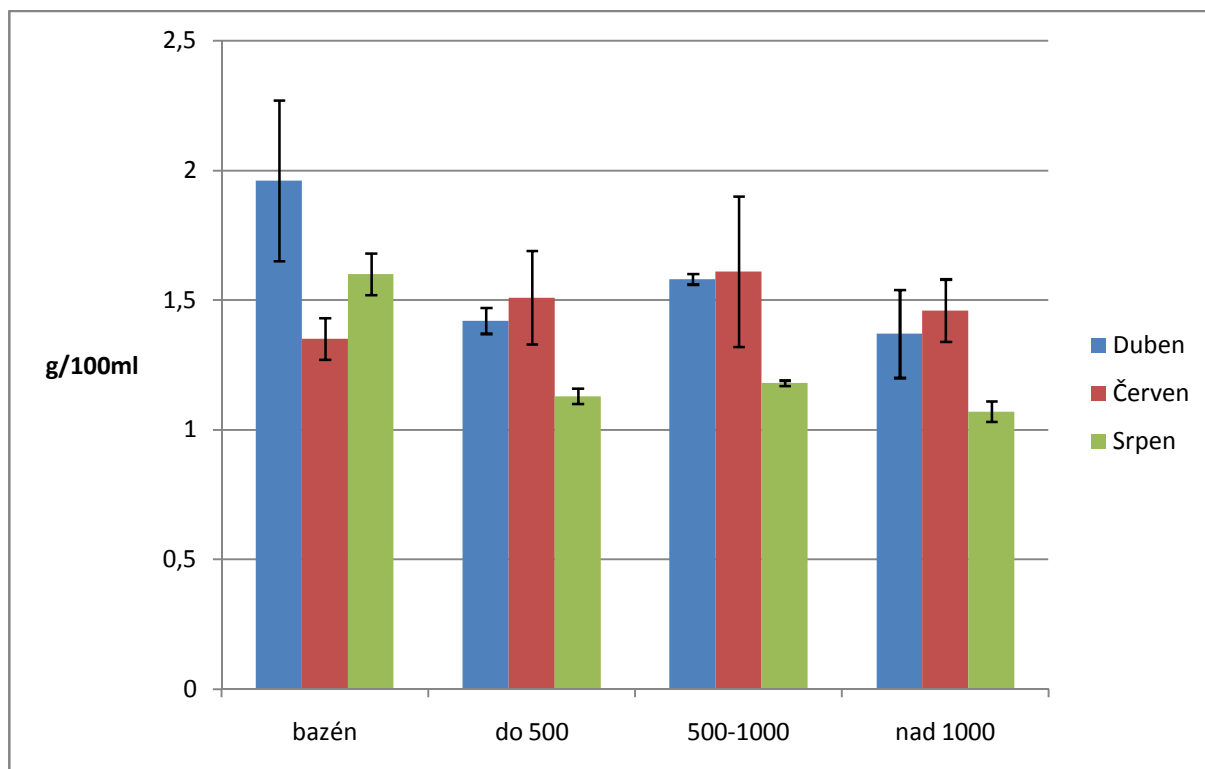
5 Výsledky

V grafech číslo 1 – 3 je znázorněno celkové množství bílkovin v analyzovaných vzorcích kozího mléka na jednotlivých farmách v bazénových vzorcích mléka a vzorcích mléka rozdělených do jednotlivých skupin podle počtu somatických buněk. Celkový obsah bílkovin je udán jako součet obsahu jednotlivých bílkovinných frakcí stanovených metodou HPLC.

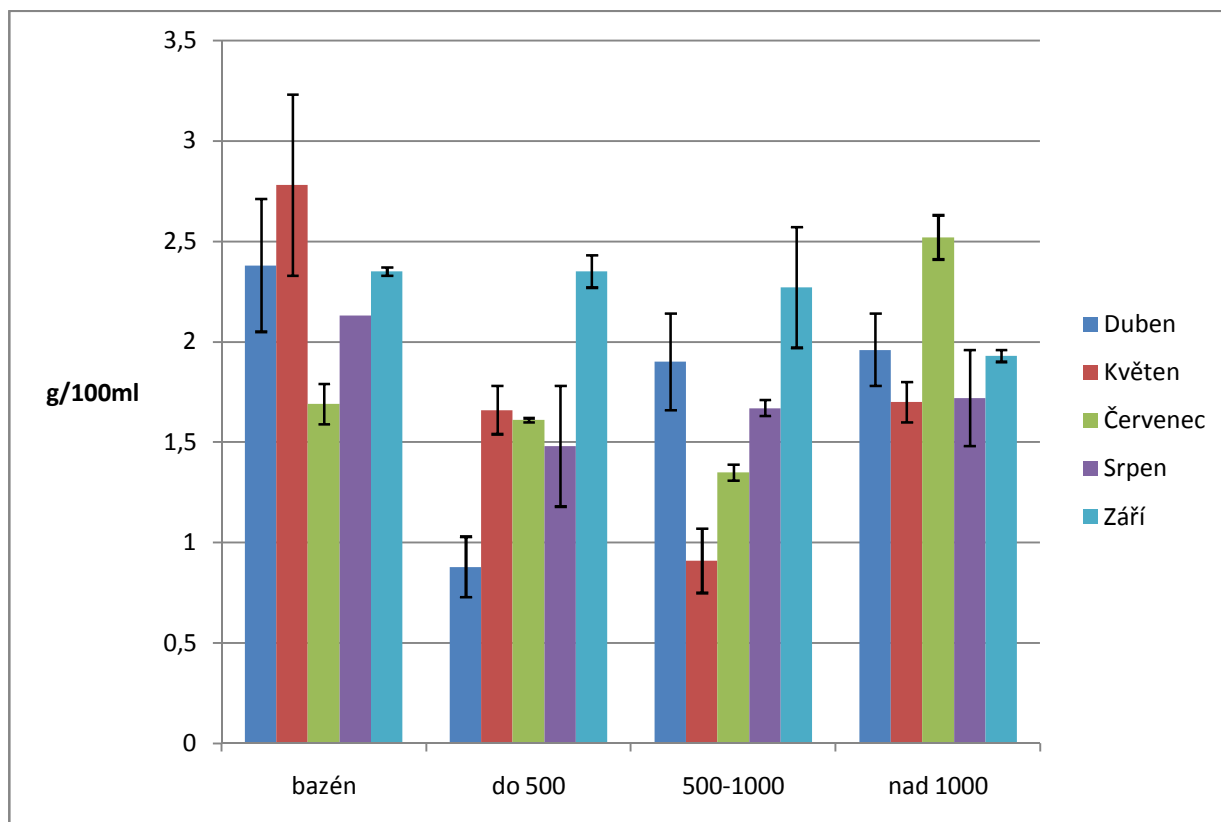
Graf 1: Celkový obsah bílkovin v mléce dle počtu somatických buněk, farma F1



Graf 2: Celkový obsah bílkovin v mléce dle počtu somatických buněk, farma F2

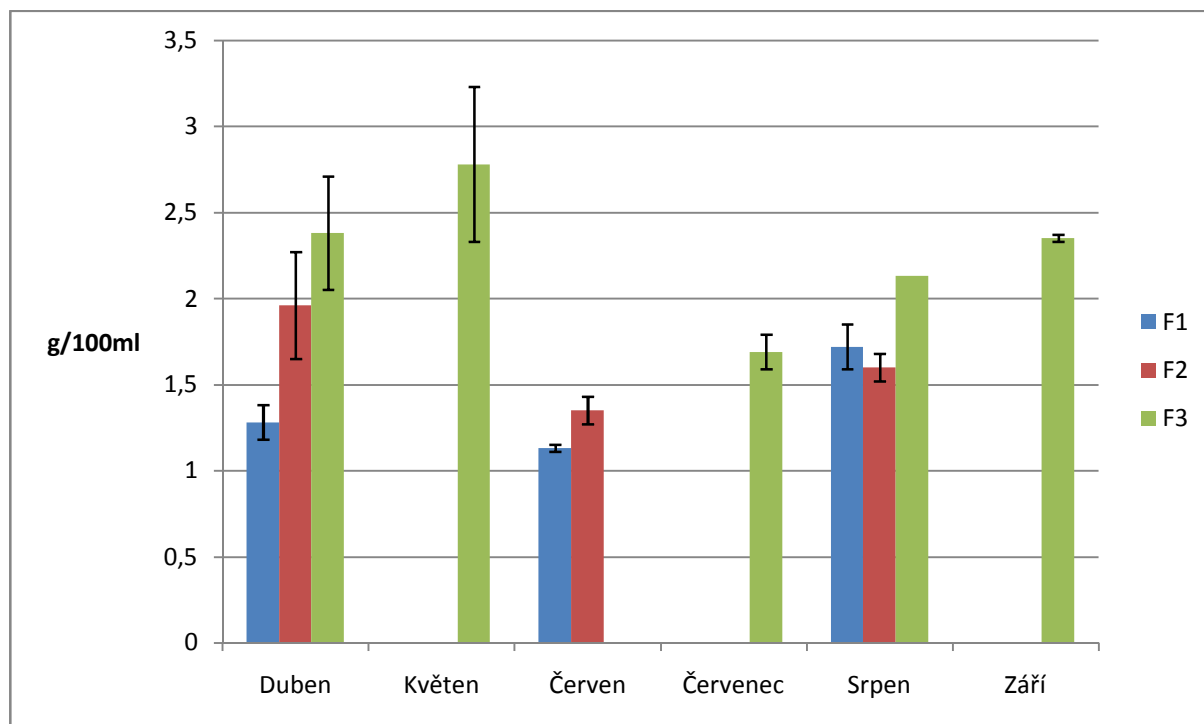


Graf 3: Celkový obsah bílkovin v mléce dle počtu somatických buněk, farma F3



V grafu č. 4 je znázorněn celkový obsah bílkovin v bazénových vzorcích mléka odebíraných na všech farmách v různých fázích laktačního období.

Graf 4: Porovnání celkového obsahu bílkovin v bazénových vzorcích mléka dle doby laktace



Procentuální zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí včetně procentuálního zastoupení kaseinového podílu a vypočteného celkového množství bílkovin ve všech analyzovaných vzorcích kozího mléka je uvedeno v tabulkách 11 a 12.

Tabulka 11: Výsledky analýz – mléko rozděleno do skupin dle počtu somatických buněk.

Farma	Plemeno	Počty SB[x10 ³]	Datum odběru	α_{S1} -CN [%]	α_{S2} -CN [%]	β -CN [%]	κ -CN [%]	α -La [%]	β -LgA [%]	β -LgB [%]	Σ CN [%]	Σ Proteiny g/100 ml
F1	KBK	< 500	Červen	6,96±1,50	0,63±0,16	27,6±0,86	68,8±2,08	31,4±2,33	68,6±2,33	< LOD 1	61,40±1,71	1,13±0,05
F1	KBK	500-1000	Červen	4,48±0,14	0,77±0,01	27,96±0,64	66,79±0,78	41,4±1,84	58,8±1,84	< LOD 1	65,9±1,15	1,11±0,04
F2	KBK	> 1000	Červen	7,10±0,84	0,90±0,05	70,4±0,81	21,6±0,37	63,6±0,79	36,4±0,79	< LOD 1	76,0±1,94	1,46±0,12
F3	KS	< 500	Duben	27,8±1,54	1,41±0,81	51,9±3,13	18,9±0,77	35,8±2,45	64,2±4,15	< LOD 1	52,7±2,63	0,88±0,15
F3	KS	500–1000	Duben	22,1±1,70	0,27±0,07	25,16±1,52	52,49±2,63	32,6±3,63	67,4±3,63	< LOD 1	60,7±3,08	1,90±0,24
F3	KS	>1000	Duben	21,5±0,71	0,31±0,11	61,1±1,24	17,1±0,75	75,8±7,22	24,2±7,22	< LOD 1	81,2±1,52	1,96±0,18
F3	KS	<500	Květen	20,5±0,97	0,68±0,05	21,82±0,75	57,02±1,67	43,0±1,71	57,0±1,71	< LOD 1	70,1±0,63	1,66±0,12
F3	KS	500–1000	Květen	20,3±7,41	3,31±2,96	43,13±5	33,25±4,92	23,9±1,7	76,9±1,7	< LOD 1	38,74±6,08	0,91±0,16
F3	KS	>1000	Květen	19,1±0,18	0,57±0,05	62,3±0,24	18,0±0,09	69,7±0,92	30,3±0,92	< LOD 1	79,4±1,20	1,70±0,10

Tabulka 11: Pokračování

Farma	Plemeno	Počty SB[x10³]	Datum odběru	α_{S1}-CN [%]	α_{S2}-CN [%]	β-CN [%]	κ-CN [%]	α-La [%]	β-LgA [%]	β-LgB [%]	Σ CN [%]	Σ Proteiny g/100 ml
F2	KBK	>1000	Duben	7,86±0,27	0,31±,03	72,58±1,19	19,24±1,22	84,04±2,11	15,96±2,11	< LOD 1	75,84±0,22	1,37±0,17
F1	KBK	>1000	Červen	7,01±2,08	3,05±0,97	25,85±11,62	61,08±10,17	81,44±0,87	18,56±0,87	< LOD 1	57,19±3,36	0,76±,02
F2	KBK	500-1000	Červen	16,44±1,30	1,66±0,36	46,48±0,66	35,42±1,65	23,45±3,13	76,55±3,13	< LOD 1	51,74±3,3	1,61±0,29
F2	KBK	500-1000	Duben	10,61±0,42	0,77±0,06	59,9±0,49	28,72±0,13	29,38±0,92	70,62±0,92	< LOD 1	64,88±0,44	1,58±,02
F2	KBK	< 500	Červen	11,64±1,03	< LOD	57,77±1,93	30,59±1,15	29,42±4,64	70,58±4,64	< LOD 1	64,81±4,42	1,51±0,18
F3	KS	>1000	Srpen	13,69±3,43	3,16±0,98	63,88±7,14	19,28±2,78	20,14±2,65	30,56±1,12	49,3±2,85	74,38±4,03	1,72±0,24
F3	KS	>1000	Září	15,55±0,69	3,53±0,36	63,5±1,09	17,42±0,4	3,29±1,07	21,69±0,84	75,02±1,38	74,21±0,13	1,93±0,03
F3	KS	500-1000	Srpen	12,31±0,17	0,79±0,03	65,78±0,56	21,12±0,6	67,03±0,36	32,97±0,36	< LOD 1	79,17±0,08	1,67±0,04
F3	KS	< 500	Září	17,28±0,62	5,06±0,21	62,35±0,5	15,3±0,37	62,46±1,08	37,54±1,08	< LOD 1	84,07±0,38	2,35±0,08
F3	KS	500-1000	Září	23,12±6,69	5,75±1,42	55,15±5,71	15,98±2,41	43,94±0,47	56,06±0,47	< LOD 1	88,51±5,55	2,27±0,3
F1	KBK	>1000	Srpen	7,35±0,36	2,62±0,25	56,71±1,93	33,31±1,36	3,81±0,27	50,84±3,44	45,35±3,31	49,79±4,15	1,00±0,02
F1	KBK	500-1000	Srpen	8,37±0,15	< LOD	61,18±0,32	28,46±0,28	3,71±0,73	42,25±0,15	54,03±0,86	56,42±2,32	0,86±0,00
F1	KBK	< 500	srpen	3,92±0,25	1,29±0,4	69,75±0,89	25,05±0,57	1,7±0,3	39,42±1,32	58,88±1,62	65,52±0,47	1,05±0,01

Tabulka 11: Pokračování

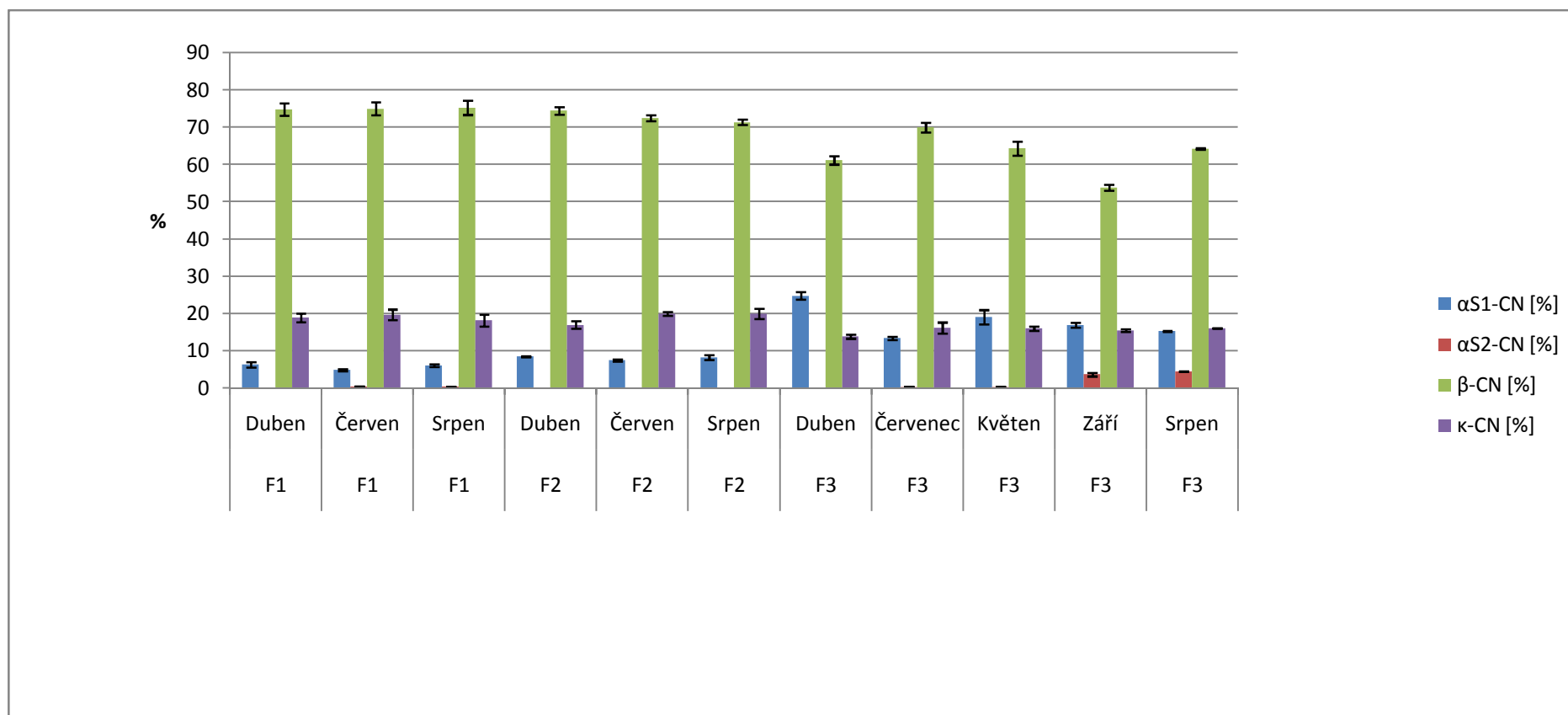
Farma	Plemeno	Počty SB[x10 ³]	Datum odběru	α_{S1} -CN [%]	α_{S2} -CN [%]	β -CN [%]	κ -CN [%]	α -La [%]	β -LgA [%]	β -LgB [%]	Σ CN [%]	Σ Proteiny g/100 ml
F3	KS	< 500	Červenec	14,89±0,26	4,46±0,45	61,9±0,12	18,74±0,32	59,14±0,61	40,86±0,61	< LOD 1	78,04±0,27	1,61±0,01
F2	KBK	500- 1000	Srpen	4,06±0,08	1,54±0,1	65,34±0,31	29,06±0,47	49,44±0,41	50,56±0,41	< LOD 1	74,64±0,62	1,18±0,01
F3	KS	500- 1000	Červenec	12,66±0,38	2,72±0,09	65,24±0,82	19,37±0,44	55,44±1,52	44,56±1,52	< LOD 1	77,01±1,09	1,35±0,04
F2	KBK	< 500	Srpen	14,58±2,47	1,3±0,25	50,18±2,14	25,94±0,19	54,2±0,83	45,8±0,83	< LOD 1	78,52±0,70	1,13±0,03
F3	KS	< 500	Srpen	16,42±0,97	< LOD	63,48±1,45	20,09±0,69	60,76±3,41	39,24±3,41	< LOD 1	80,56±0,75	1,48±0,30
F2	KBK	< 500	Duben	7,58±0,28	< LOD	72,81±0,15	19,62±0,42	61,16±1,09	38,84±1,09	< LOD 1	75,30±0,78	1,42±0,05
F2	KBK	>1000	Srpen	12,91±0,08	2,64±0,28	59,37±1,48	25,08±1,56	41,5±0,91	9,45±0,17	49,04±0,75	79,41±0,38	1,07±0,04
F3	KS	>1000	Červenec	19,4±0,17	0,67±0,01	61,5±0,90	18,5±1,08	66,2±0,14	33,7±0,14	< LOD 1	86,5±0,63	2,52±0,11

Tabulka 12: Výsledky analýz bazénových vzorků kozího mléka

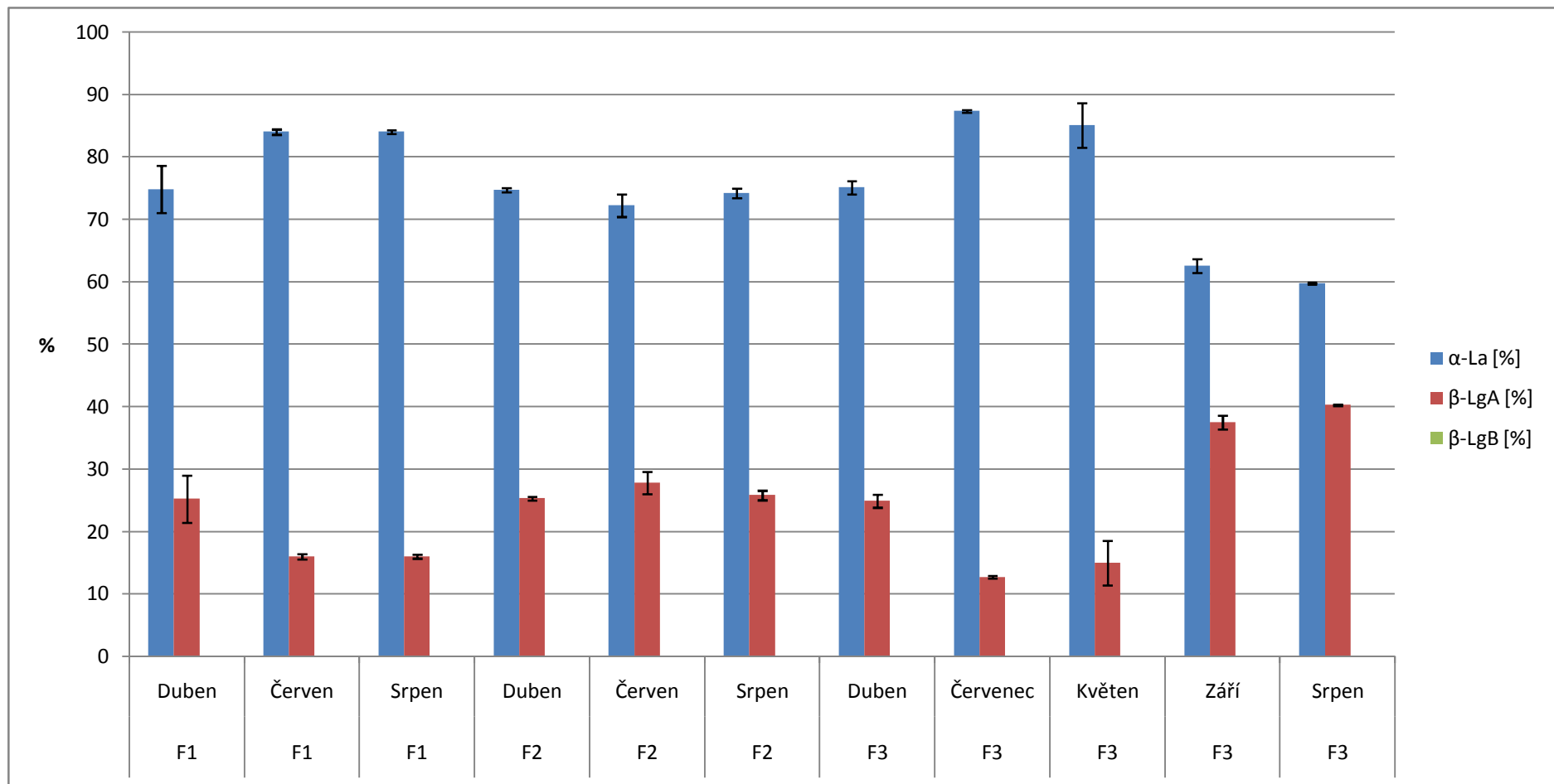
Farma	Plemeno	Datum odběru	α_{S1} -CN [%]	α_{S2} -CN [%]	β -CN [%]	κ -CN [%]	α -La [%]	β -LgA [%]	β -LgB [%]	Σ CN [%]	Σ Proteiny g/100 ml
F1	KBK	Duben	6,30±0,75	< LOD	74,8±1,67	18,9±1,19	74,8±3,79	25,2±3,79	< LOD	72,3±1,38	1,28±0,10
F1	KBK	Červen	4,89±0,26	0,43±0,07	75,0±1,74	19,7±1,44	84,0±0,43	16,0±0,43	< LOD	77,7±0,18	1,13±0,02
F1	KBK	Srpen	6,06±0,38	0,37±0,04	75,3±1,92	18,2±1,56	84,0±0,31	16,0±0,31	< LOD	80,45±0,25	1,72±0,13
F2	KBK	Duben	8,50±0,14	< LOD	74,5±1,00	17,0±1,00	74,7±0,31	25,3±0,31	< LOD	81,0±2,08	1,96±0,31
F2	KBK	Červen	7,50±0,30	< LOD	72,5±0,84	20,0±0,55	72,2±1,79	27,8±1,79	< LOD	78,1±1,26	1,35±0,08
F2	KBK	Srpen	8,21±0,65	< LOD	71,4±0,75	20,0±1,40	74,2±0,77	25,8±0,77	< LOD	80,2±0,12	1,60±0,08
F3	KS	Duben	24,8±0,99	< LOD	61,2±1,13	13,9±0,56	75,1±1,06	24,9±1,06	< LOD	84,2±2,09	2,38±0,33
F3	KS	Červenec	13,45±0,44	0,34±0,01	70,0±1,27	16,2±1,47	87,3±0,20	12,7±0,20	< LOD	83,49±0,87	1,69±0,10
F3	KS	Květen	19,1±1,9	0,33±0,02	64,33±1,88	16,02±0,59	85,04±3,57	14,96±3,57	< LOD	85,44±2,00	2,78±0,45
F3	KS	Září	16,96±0,64	3,7±0,5	53,85±0,76	15,49±0,34	62,53±1,1	37,47±1,1	< LOD	85,28±0,77	2,35±0,02
F3	KS	Srpen	15,28±0,19	4,46±0,05	64,21±0,2	16,06±0,07	59,74±0,13	40,26±0,13	< LOD	84,96±0,01	2,13±0,00

V grafu č. 5 je znázorněno procentuální zastoupení jednotlivých frakcí kaseinových bílkovin z celkového množství přítomného kaseinu v bazénových vzorcích mléka odebíraných na všech sledovaných farmách v průběhu laktace. Graf č. 6 znázorňuje procentuální zastoupení jednotlivých stanovených syrovátkových bílkovin z celkového vypočteného množství syrovátkových bílkovin ve stejných bazénových vzorcích mléka, pro něž jsou v grafu č. 5 uvedeny podíly jednotlivých kaseinových frakcí.

Graf 5: Zastoupení jednotlivých frakcí kaseinových bílkovin v bazénových vzorcích, dle farem a dle fáze laktace

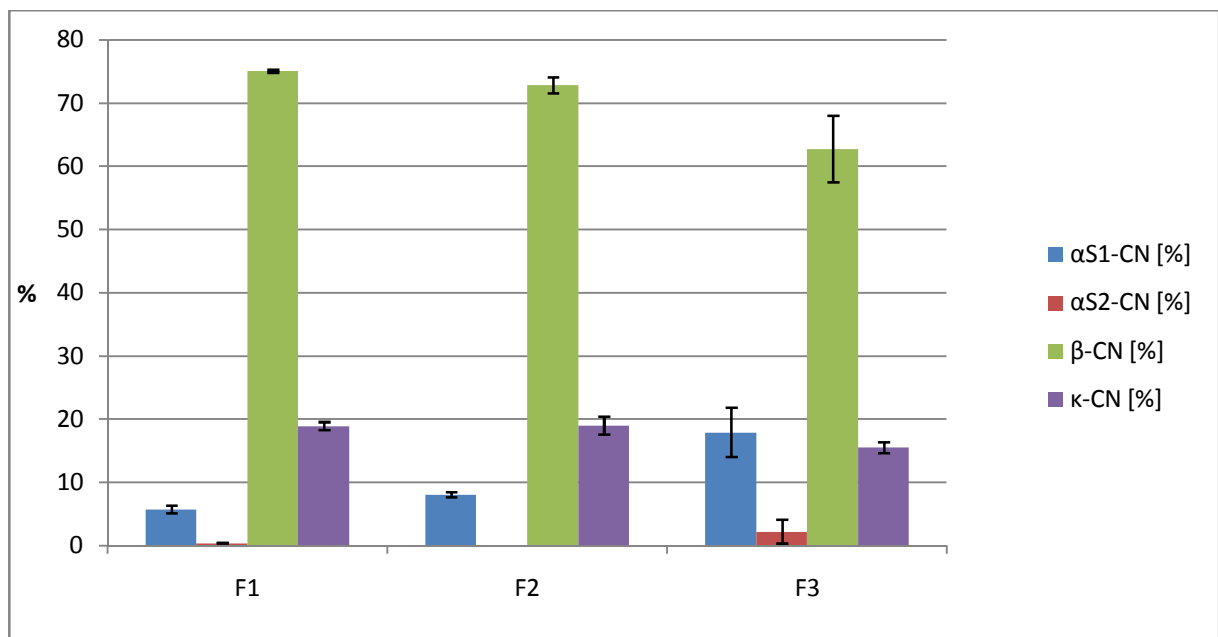


Graf 6: Zastoupení jednotlivých frakcí syrovátkových bílkovin v celkovém množství syrovátkových bílkovin v bazénových vzorcích, dle farem a dle fáze laktace

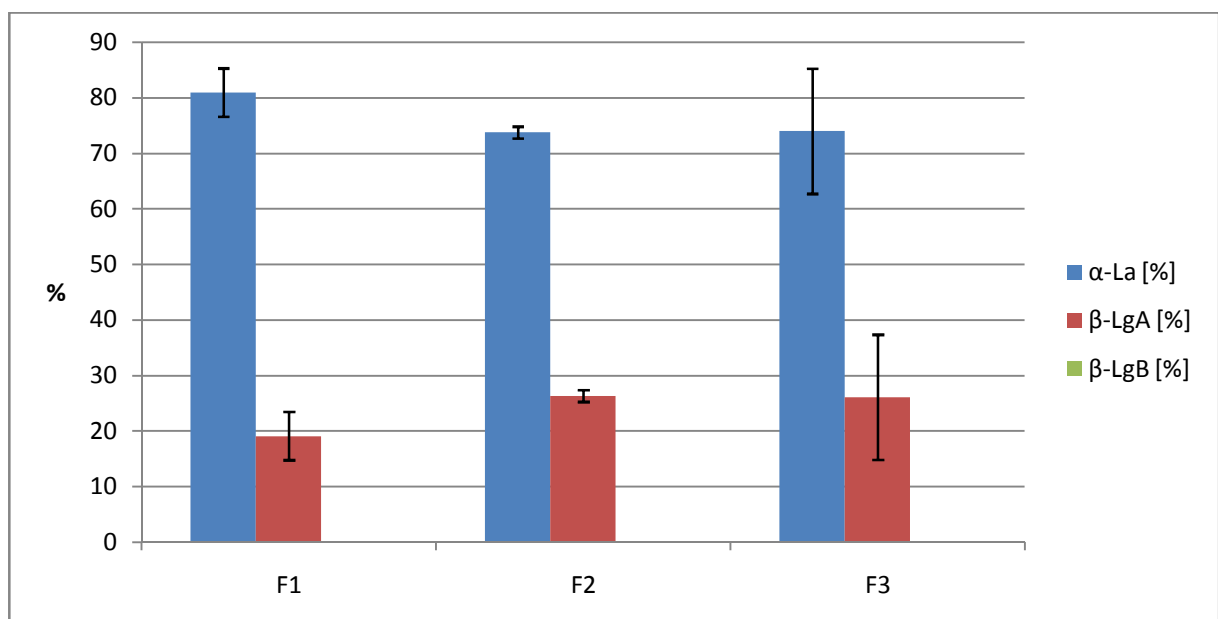


V grafu číslo 7 je znázorněno průměrné zastoupení jednotlivých frakcí kaseinových bílkovin z celkového množství stanoveného kaseinu v bazénových vzorcích z jednotlivých farem za celé období laktace, graf č. 8 znázorňuje průměrné zastoupení jednotlivých frakcí syrovátkových bílkovin z celkového množství stanovených syrovátkových bílkovin v bazénových vzorcích z jednotlivých farem za celé období laktace.

Graf 7: Průměrné zastoupení jednotlivých frakcí kaseinových bílkovin v bazénových vzorcích mléka, dle farem

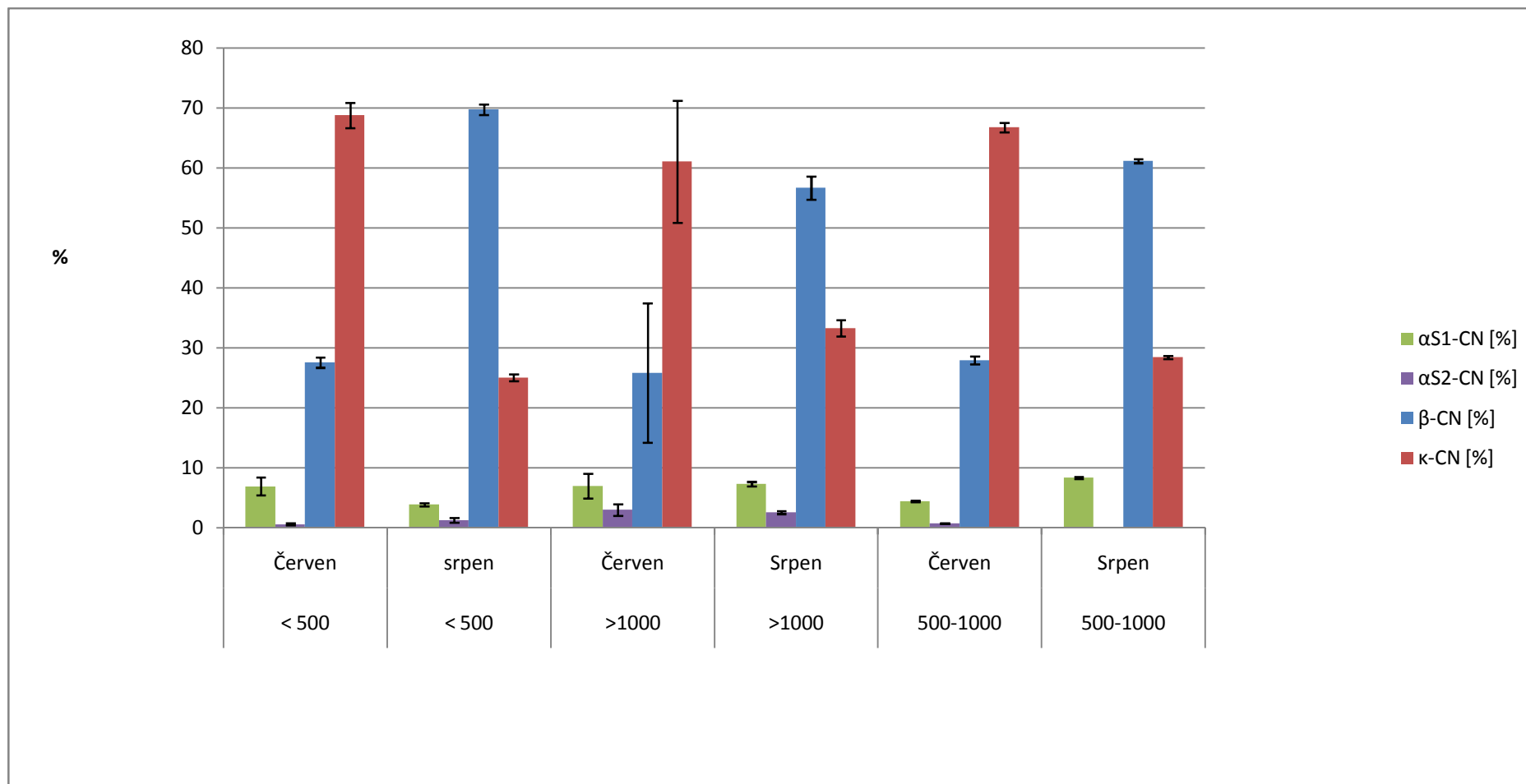


Graf 8: průměrné zastoupení jednotlivých frakcí syrovátkových bílkovin v bazénových vzorcích mléka, dle farem



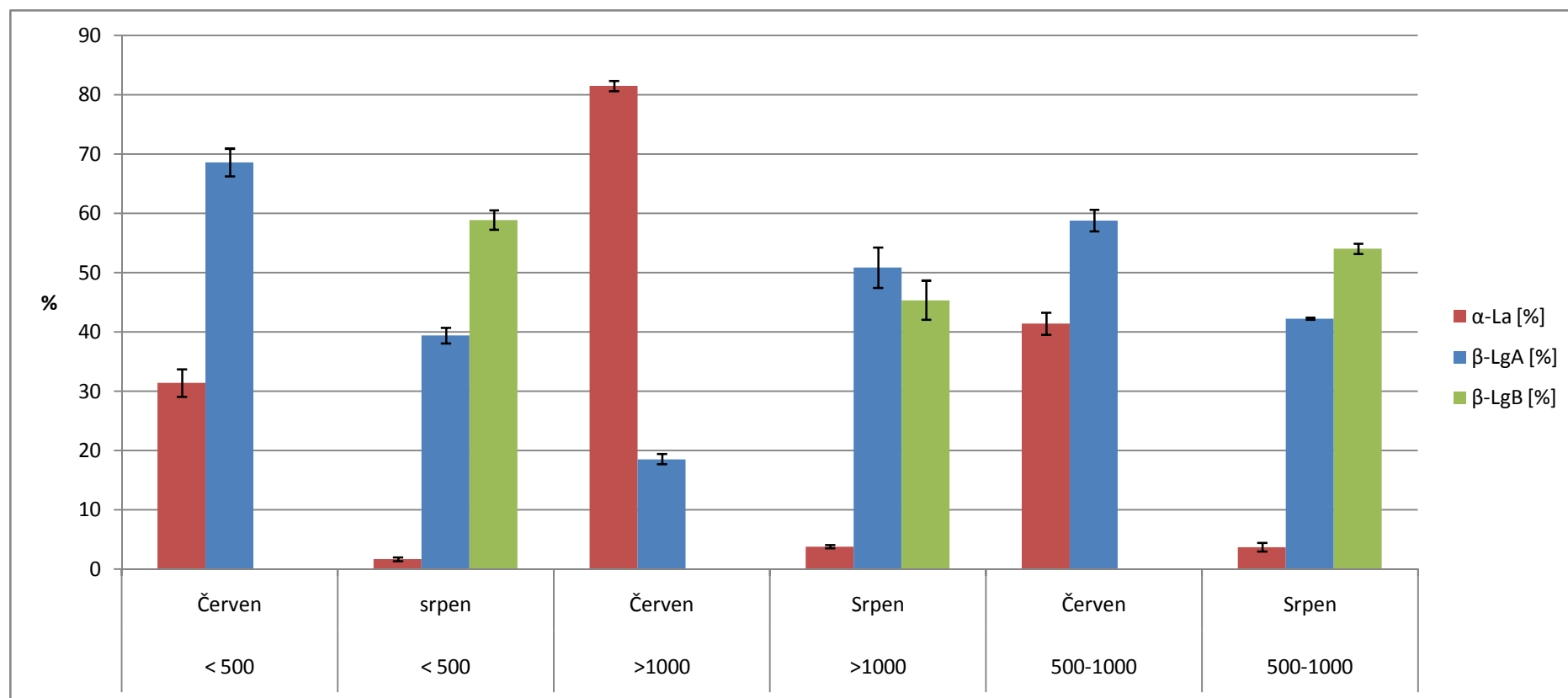
Grafy číslo 9, 11 a 13 vyjadřují procentuální zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí z celkového množství vypočteného kaseinu ve vzorcích kozího mléka odebíraného na všech sledovaných farmách ve vztahu k počtu somatických buněk v průběhu laktačního období.

Graf 9: Vztah procentuálního zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí k počtu somatických buněk – F1 (% z celkového množství kaseinu)

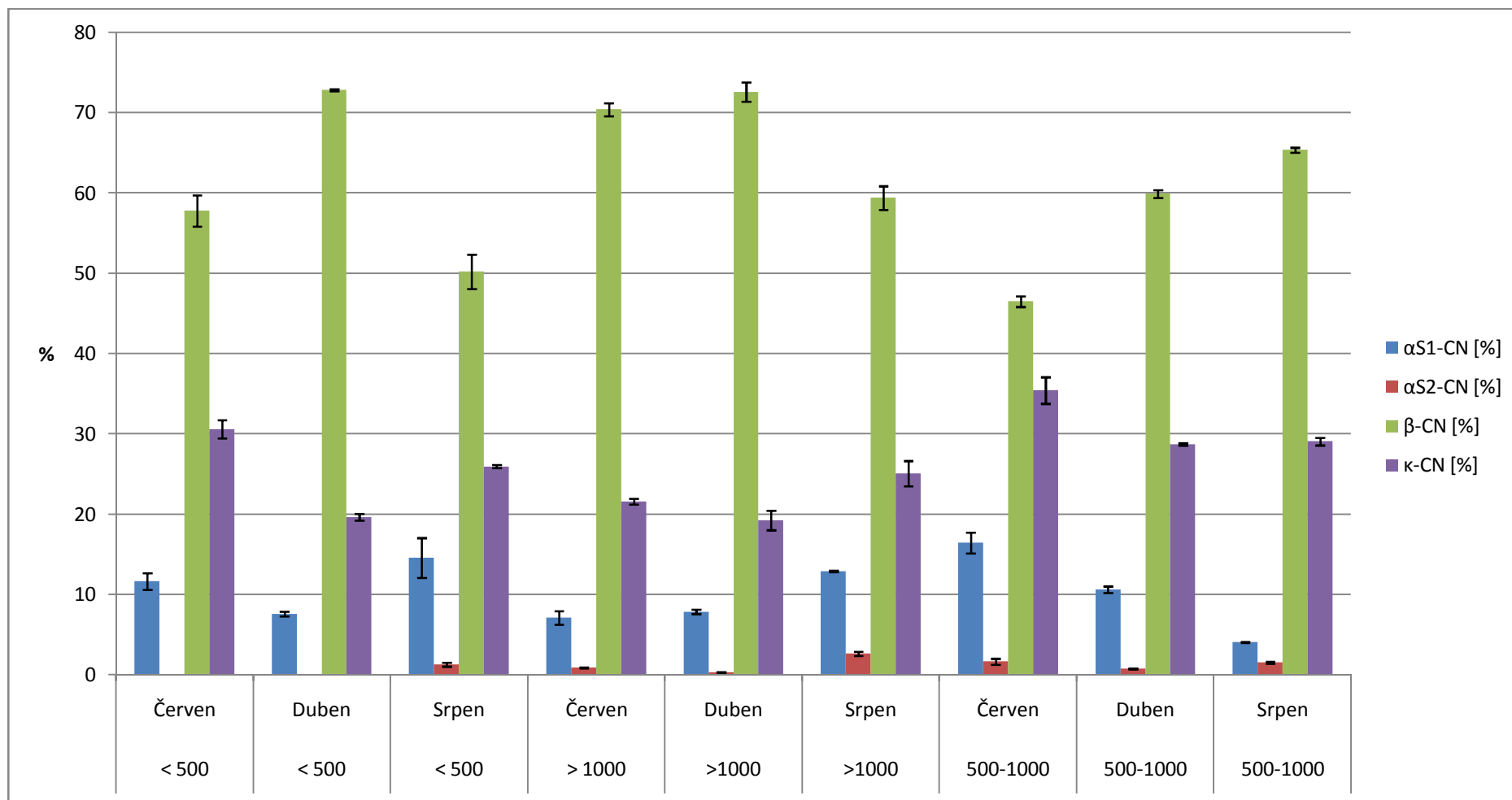


Grafy, číslo 10, 12 a 14 vyjadřují procentuální zastoupení jednotlivých syrovátkových frakcí z celkového množství vypočteného obsahu syrovátkových bílkovin ve vzorcích kozího mléka odebíraného na všech sledovaných farmách ve vztahu k počtu somatických buněk v průběhu laktačního období.

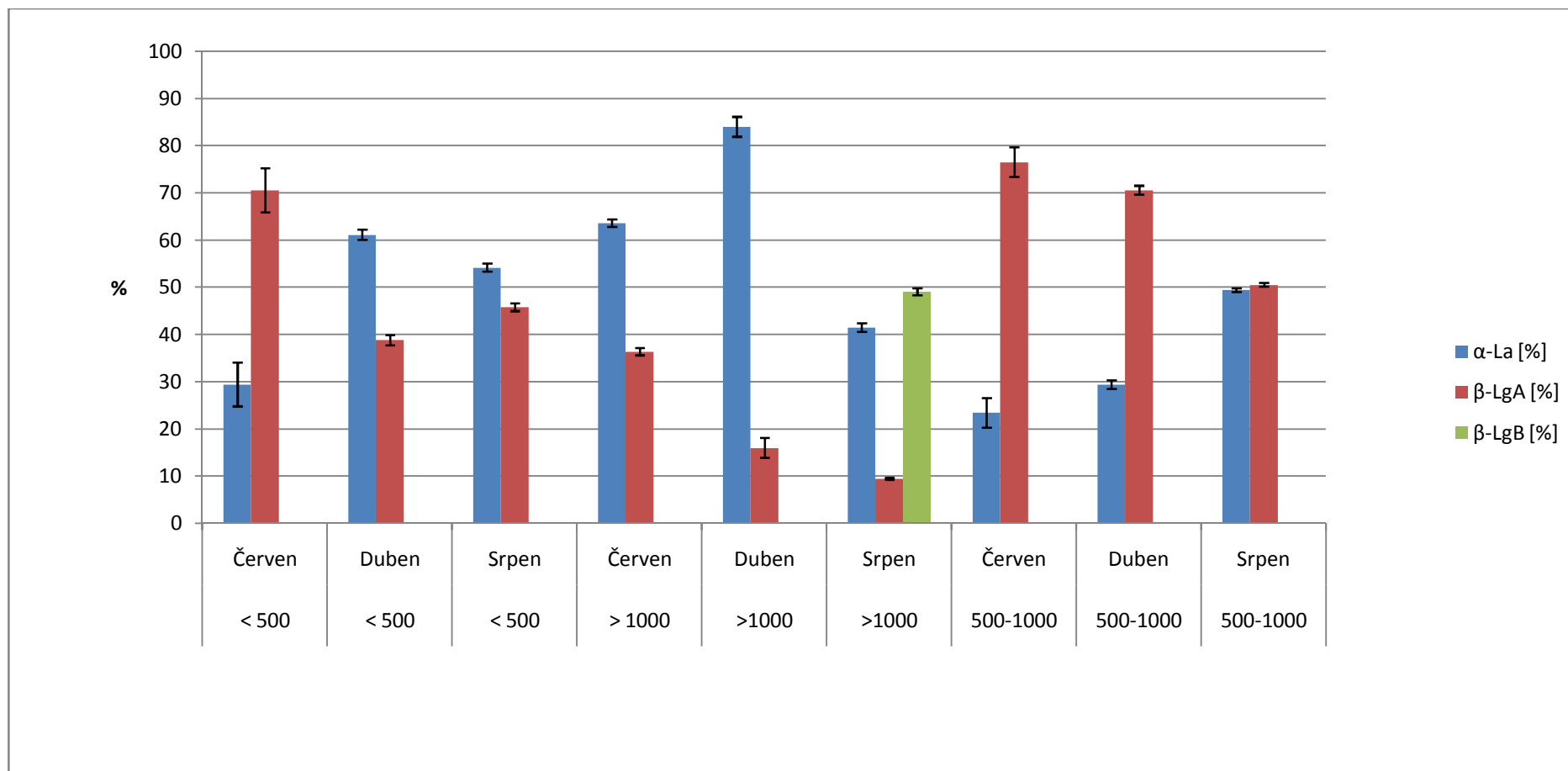
Graf 10: Vztah procentuálního zastoupení jednotlivých syrovátkových frakcí k počtu somatických buněk – F1 (% z celkového množství syrovátkových bílkovin)



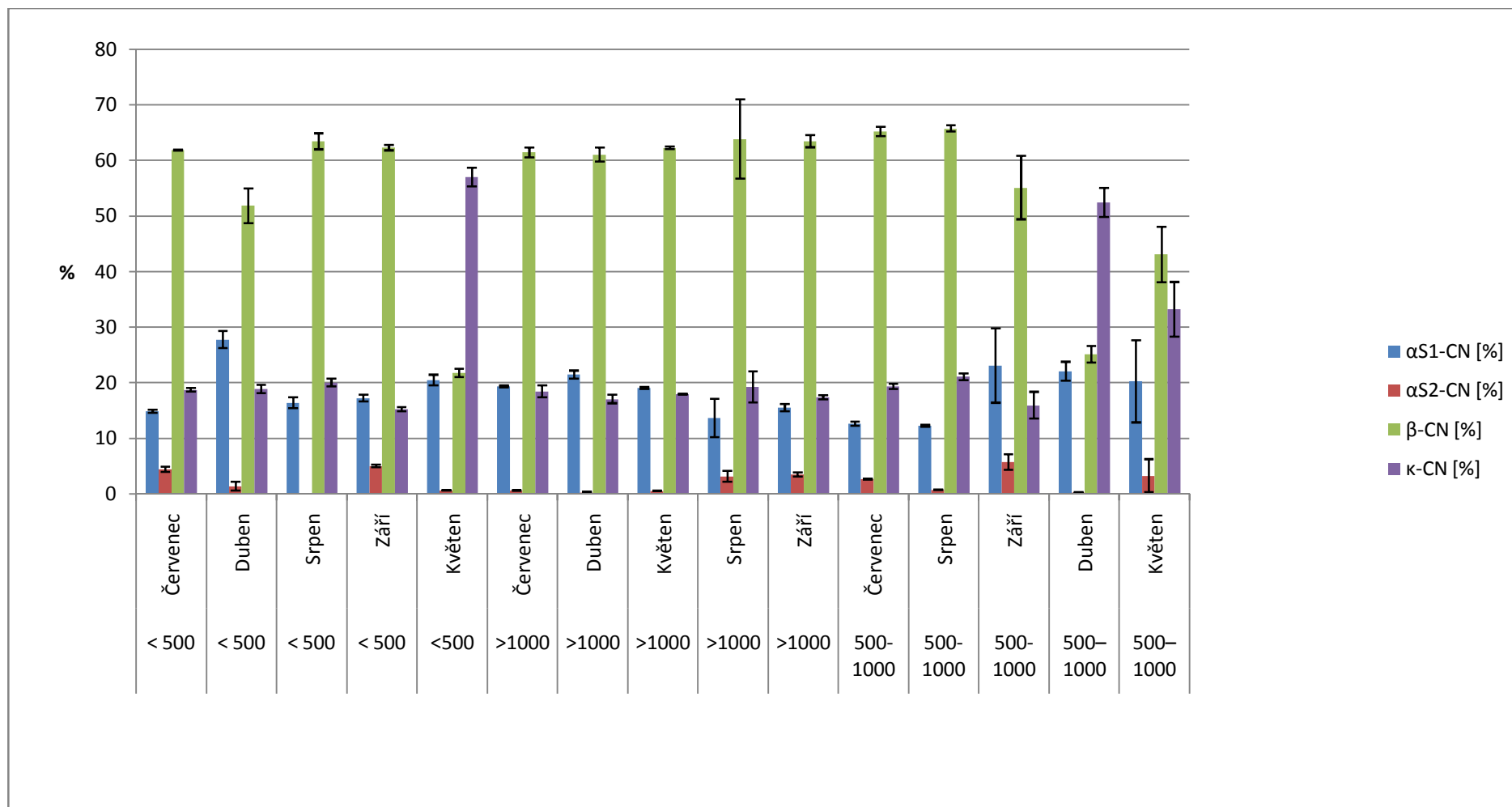
Graf 11: Vztah procentuálního zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí k počtu somatických buněk – F2 (% z celkového množství kaseinu)



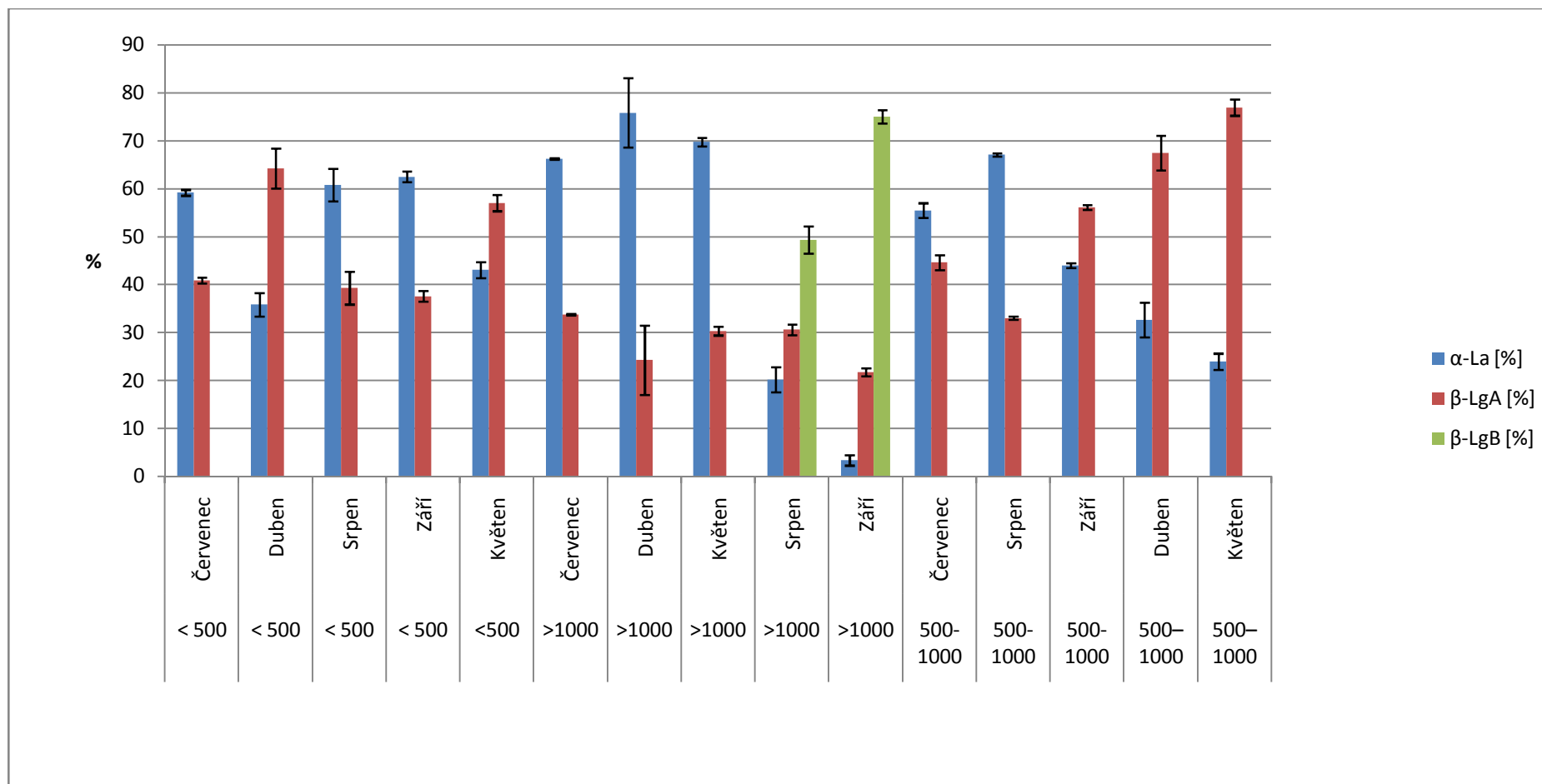
Graf 12: Vztah procentuálního zastoupení jednotlivých syrovátkových frakcí k počtu somatických buněk – F2 (% z celkového množství syrovátky)



Graf 13: Vztah procentuálního zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí k počtu somatických buněk – F3 (% z celkového množství kaseinu)



Graf 14: Vztah procentuálního zastoupení jednotlivých syrovátkových frakcí k počtu somatických buněk – F3 (% z celkového množství syrovátky)



6 Diskuze

Výsledky analýz bazénových vzorků mléka ukázaly, že nejvyšší průměrné hodnoty celkového obsahu bílkovin byly v mléce kozy sánské chované na farmě F3, a to $2,27 \pm 0,36$ g/100 ml. Ve vzorcích mléka koz chovaných na farmách F1 a F2, plemene koza bílá krátkosrstá, byl průměrný celkový obsah bílkovin v mléce nižší a to $1,38 \pm 0,25$ g/100 ml (Farmu F1) $1,6 \pm 0,25$ g/100 ml (Farma F2), což byly nižší hodnoty než stanovila Hejtmánková et al. (2012) $2,75 \pm 0,20$ % v mléce tohoto plemene. V mléce koz ze všech tří srovnávaných farem byl obsah celkových bílkovin v bazénových vzorcích nejnižší uprostřed období laktace, tedy ve vzorcích z června a července, kdy byl vždy stanovený obsah pod průměrnou hodnotou, F1 $1,13 \pm 0,02$ g/100 ml (F1), $1,35 \pm 0,08$ g/100 ml (F2) a $1,69 \pm 0,10$ g/100 ml (F3). V bazénových vzorcích mléka ze začátku (duben, květen) a konce (srpen, září) laktace byly obsahy celkových bílkovin v hodnotě průměru nebo vyšší. Ke stejnému dospěla Hejtmánková et al. (2012), Chornobai et al. (1999), Aganga et al. (2002), Soryal et al. (2005), a Kuchtík et al. (2008), kteří shodně stanovili nejvyšší obsah celkových bílkovin na konci laktace.

Průměrné procentuální zastoupení kaseinů ve všech analyzovaných vzorcích mléka bylo nejvyšší na farmě F3 a činilo $76,43 \pm 12,22$ % ($1,92 \pm 0,31$ g/100 ml), následovalo mléko z farmy F2 $73,37 \pm 8,28$ % ($1,31 \pm 0,21$ g/100 ml) a nejnižší průměrné procentuální zastoupení kaseinů ve vzorcích mléka z farmy F1 $65,19 \pm 9,62$ % ($1,06 \pm 0,22$ g/100ml), což je v absolutních hodnoceních méně než uvádí Kapadiya et al. (2016), který uvádí hodnoty 2,04 – 2,5 g/100 ml i než uvádí Borková (2005), která uvádí procentuální zastoupení kaseinů z celkových bílkovin v kozím mléce 99 ± 12 %. Procentuální zastoupení kaseinů v bazénových vzorcích mléka se v průběhu laktace příliš neměnilo a pohybovalo se v rozmezí $76,82 \pm 3,39$ % z celkového množství bílkovin (F1), $79,77 \pm 1,22$ % (F2) a $84,67 \pm 0,73$ % kaseinů z celkového množství bílkovin (F3). Největší rozdíly v procentuálním zastoupení kaseinů v průběhu laktace byly zjištěny v mléce ze všech farem, které obsahovaly $500 - 1000 \times 10^3$ somatických buněk. Bylo také zjištěno, že ve vzorcích mléka tříděných dle počtu somatických buněk je kolísání procentuálního zastoupení kaseinu během laktace nejvýraznější ve vzorcích mléka z farmy F3, která se od farem F1 a F2 liší také plemenem chovaných koz. Mléko kozy sánské tedy vykazovalo největší kolísání procentuálního zastoupení kaseinu a to ve vzorcích mléka s obsahem somatických buněk $< 500 \times 10^3$, v nichž se % kaseinu v průběhu laktace od

průměru odchylovaly o 11,2 % s obsahem somatických buněk $> 1000 \times 10^3$ o 4,6 % a s obsahem somatických buněk $500-100 \times 10^3$ dokonce o 17,5 %.

Analýzy bazénových vzorků mléka prokázaly, že z farmy F1 byly po celou dobu laktace z jednotlivých frakcí kaseinu nejvíce zastoupen β -kasein, následován κ -kaseinem a po celou dobu laktace bylo procentuální zastoupení kaseinových frakcí podobné. Průměrné procentuální zastoupení β -kaseinu bylo $75,03 \pm 0,21$ % z celkového množství kaseinu, κ -kaseinu $18,93 \pm 0,61$ % a α S1-kaseinu $5,75 \pm 0,62$ %. Borková (2005) uvádí nižší procentuální zastoupení β -kaseinu (63 ± 11 %) i κ -kaseinu (8 ± 2 %) a mírně vyšší procentuální zastoupení α S1-kaseinu (10 ± 6 %). Ve vzorcích mléka rozdělených dle počtu somatických buněk se výsledky značně lišily. V červnu bylo ve vzorcích mléka vyšší procentuální zastoupení z množství celkových kaseinů κ -kaseinu a v srpnu β -kaseinu. Procentuální zastoupení α S2-kaseinu bylo ve všech vzorcích velmi nízké a téměř se v průběhu laktace neměnilo. Obdobně procentuální zastoupení α S1-kaseinu se v průběhu laktace významně neměnilo. Výsledky byly značně odlišné ve vzorcích mléka s různým počtem somatických buněk. Ve vzorcích mléka s vyšším procentuálním zastoupením κ -kaseinu než β -kaseinu se s vzrůstajícím počtem somatických buněk snižovalo procentuální zastoupení κ -kaseinu, ale procentuální zastoupení β -kaseinu se téměř nezměnilo. Naopak ve vzorcích mléka s vyšším procentuálním zastoupením β -kaseinu než κ -kaseinu se zvyšujícím počtem somatických buněk snižovalo procentuální zastoupení β -kaseinu a procentuální zastoupení κ -kaseinu mírně vzrůstalo. Nejvyšší procentuální zastoupení β -kaseinu bylo v mléce stanoveno v srpnu ve vzorku s obsahem somatických buněk $< 500 \times 10^3$ a to $69,75 \pm 0,89$ %, nejvyšší procentuální zastoupení κ -kaseinu bylo ve vzorku z června s obsahem somatických buněk $< 500 \times 10^3$ a to $68,8 \pm 2,08$ %. Výsledky analýz vzorků mléka z farmy F1 dále ukazují, že procentuální zastoupení jednotlivých frakcí syrovátkových bílkovin se mění jak v průběhu laktace, tak s počtem somatických buněk. V bazénových vzorcích mléka byl stanoven nejvyšší obsah β -LgA v dubnu a to $25,2 \pm 3,79$ % z celkového množství syrovátky, v červnu a srpnu byly stanovené hodnoty velmi podobné a to $84,0 \pm 0,43$ % a $84,0 \pm 0,31$ % pro α -La, β -LgB bylo ve všech bazénových vzorcích pod hranicí stanovitelnosti. Výsledky analýz vzorků mléka s různým počtem somatických buněk ukázaly, že v mléce odebraném v červnu byl β -LgB pod hranicí stanovitelnosti a se zvyšujícím se počtem somatických buněk se měnil poměr procentuálního zastoupení α -La a β -LgA, ve vzorcích mléka s nižším počtem somatických buněk byl vyšší obsah β -LgA než α -La, jejich poměr byl 2,23:1, ve vzorcích s obsahem

somatických buněk $> 1000 \times 10^3$ byl jejich poměr opačný 1:4,26. V srpnových vzorcích mléka byl stanoven kromě β -LgA i β -LgB, výrazně se snížilo procentuální zastoupení α -La a naopak vzrostlo procentuální zastoupení β -LgB. I zde se měnil poměr dvou výrazněji zastoupených frakcí tedy β -LgB a β -LgA s počtem somatických buněk. S nižším počtem somatických buněk bylo ve vzorku vyšší procentuální zastoupení β -LgB průměrně 59%, s rostoucím počtem somatických buněk vyšší β -LgA, a to průměrně 51%. To se shoduje s údaji Hejtmánkové et al. (2012), která uvádí, že koncentrace β -laktoglobulinu v kozím mléce je s výjimkou konce období laktace, vždy nižší než koncentrace α -laktalbuminu.

Výsledky analýz vzorků mléka z farmy F2 na které chováno rovněž plemeno KBK, ukazují, že z jednotlivých kaseinových frakcí je po celou dobu laktace opět nejvíce zastoupen β -kasein následován κ -kaseinem. Procentuální zastoupení β -kaseinu se měnilo především v závislosti na počtu somatických buněk v mléce. Zároveň byl pozorován mírný pokles jeho procentuálního zastoupení v průběhu laktačního období. Procentuální zastoupení ostatních kaseinových frakcí se měnilo s počtem somatických buněk, avšak nebyl pozorován žádný společný trend těchto změn. Ve složení syrovátkových bílkovin bylo pozorováno v průběhu laktace nižší procentuální zastoupení β -LgA na začátku laktačního období (duben, $> 1000 \times 10^3$ SM) a to $15,96 \pm 2,11$ % a zejména na konci laktace (srpen $> 1000 \times 10^3$ SM) konkrétně $9,45 \pm 0,17$ %. Dále byly pozorovány výrazné změny složení syrovátkových bílkovin v závislosti na počtu somatických buněk. Procentuální zastoupení β -LgA se stoupajícím počtem somatických buněk v mléce nejprve stoupalo a následně opět klesalo. V srpnovém vzorku mléka s počtem SM $> 1000 \times 10^3$ byl stanoven také β -LgB, který byl v ostatních vzorcích mléka pod hranicí stanovitelnosti. Nelze však s jistotou tvrdit, zda tato skutečnost je důsledkem změny složení syrovátkových bílkovin v průběhu laktace nebo je způsobena nespolehlivostí analytické metody při stanovení syrovátkových bílkovin.

Ve vzorcích mléka z farmy F3 byly z kaseinových frakcí nejvíce zastoupen β -kasein následován κ -kaseinem a α S1-kaseinem. Na farmě F3 je chováno plemeno koza sánská. Ve srovnání s mlékem kozy bílé krátkosrsté mléko plemene kozy sánské má vyšší procentuální zastoupení α S1-kaseinu (6,35 % - F1, 10,3 % - F2, 18,23 - % F3). Zároveň bylo na konci laktačního období (srpen, září) pozorován i nárůst procentuálního zastoupení α S2-kaseinu. Z grafu číslo 13 je zřejmé, že v prvním měsíci laktace (dubnu) je procentuální zastoupení β -kaseinu mírně nižší než v měsících následujících, jeho procentuální zastoupení se však měnilo s počtem somatických buněk v mléce. Nezdá se však, že by tyto změny vykazovaly

charakteristický trend. Procentuální zastoupení κ -kaseinu bylo poměrně stabilní, pouze v dubnu bylo jeho zastoupení v mléce výrazně vyšší, a to ve vzorku mléka s počtem somatických buněk $500 - 1000 \times 10^3$ ($52,49 \pm 2,63$ % z celkového kaseinu), a v květnu ve vzorku mléka s počtem SB $< 500 \times 10^3$ a $500 - 1000 \times 10^3$ ($57,02 \pm 1,67$ %, respektive $33,25 \pm 4,92$ % z celkového kaseinu). Procentuální zastoupení α S1-kaseinu bylo v průběhu laktace poměrně stabilní, jeho procentuální zastoupení však kolísalo s různým počtem somatických buněk ve vzorcích mléka. Výsledky analýz syrovátkových proteinů ukázaly změny jejich procentuálního zastoupení v závislosti jak na v průběhu laktace, tak na počtu somatických buněk. Nezdá se však, že by mezi zastoupením jednotlivých syrovátkových frakcí, fází laktace a počtem SB v mléce existovaly viditelné souvislosti.

Ve vzorcích mléka z farem F2 a F3 nebyla pozorována závislost procentuálního zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí na počtu SB v mléce. Je tedy pravděpodobné, že majoritní význam na složení mléka mají jiné vlivy. Kvalitu mléka například velmi ovlivňuje teplota prostředí. Dle Bernabucciho (2013) mléko krav, které jsou vystaveny vyšším teplotám, vykazují nejen nižší podíl bílkovin, ale i laktózy. Neposkytuje též takovou výtěžnost sýrů, při jejich výrobě. Průměrně se produkce bílkovin se vzrůstající teplotou snižuje o 0,01 kg s každým °C. Mléko obsahuje také méně vápníku, fosforu a hořčíku a naopak více chloridů. Vysoké teploty mají vliv také na snížení obsahu kaseinu v mléce a vyšší obsah sérových bílkovin, tento jev však v analyzovaných vzorcích kozího mléka ani jednoho plemene nebyl pozorován. Obsah κ -kaseinu se nemění, ale snižuje se množství α S- a β -kaseinů. α S- a β -kaseiny obsahují vysoké množství fosfátových skupin. Jejich fosforylace vyžaduje přítomnost fosfátu z ATP. Tato fosforylace je významně snížena za podmínek, které vedou k energetickému deficitu. Nižší obsah kaseinu v mléce je tak částečně způsoben energetickým deficitem a snížením dostupnosti proteinů z výživy jako důsledek tepelného stresu. Tyto ztráty též vysvětlují nižší výtěžnost sýrů a změny vlastností sýrů, vyráběných z mléka krav ustájených v teplém prostředí či v letním období. Kromě toho α S- a β -kasein, bohaté na fosfátové skupiny, jsou kyselými komponentami kaseinových micel. Výkyvy v koncentraci α -laktalbuminu a β -laktoglobulinu nebyly prokázány.

Bylo prokázáno, že při stoupajícím počtu somatických buněk klesá dojivost a tím i produkce mléka (Fetrow et al., 1991). Doubravsky (1992) prokázal pozitivní vztah mezi složkami mléka a počtem somatických buněk. Dále došel k závěru, že při poklesu množství mléka narůstá koncentrace tuku a eventuálně i bílkovin. Na rozdíl od Doubravskeho (1992),

až na výjimky nebyl pozitivní vztah mezi počtem somatických buněk a celkovým obsahem bílkovin v kozím mléce v jednotlivých měsících prokázán. Vliv somatických buněk na procentuální zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí nebyl dosud publikován.

Uvedené výsledky je třeba považovat pouze za předběžné. K serióznímu hodnocení vlivu počtu somatických buněk a fáze laktace na celkový obsah bílkovin i procentuální zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí v kozím mléce je nutné analyzovat dostatečně velký počet vzorků kozího mléka. Také je žádoucí dále pokračovat v optimalizaci metody pro stanovování syrovátkových bílkovin a zároveň se zabývat i studiem dalších vlivů, které mohou působit na obsah jednotlivých bílkovinných frakcí v kozím mléce.

7 Závěr

- Nejvyšší celkový obsah bílkovin byl stanoven v bazénových vzorcích mléka kozy sánské chované na farmě F3, zároveň bylo v mléce tohoto plemene stanoveno vyšší procentuální zastoupení α S1-kaseinu a na konci laktačního období též α S2-kaseinu
- Celkový obsah bílkovin i zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí v bazénových vzorcích mléka kozy bílé krátkosrsté z farmy F1 a F2 si byly velmi podobné
- Zastoupení jednotlivých frakcí kaseinů a syrovátky se mění v průběhu laktace
- Byl zaznamenán pokles celkového obsahu bílkovin ve střední fázi laktace
- Procentuální zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí ve vzorcích kozího mléka se výrazně měnilo s počtem somatických buněk. Jelikož nebyly pozorovány žádné charakteristické souvislosti, je pravděpodobné, že na procentuální zastoupení jednotlivých frakcí působí i jiné vlivy
- Pozorované změny v procentuálním zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí lze využít jak při výrobě dietetických preparátů tak při zpracování mléka a produkci mléčných výrobků

Tato studie byla podpořena grantem projektu NAZV QJ1510137 Ministerstva zemědělství České republiky

8 Seznam použité literatury

Aganga A.A., Amarteifio J.O., Nikile N. (2002): Effect of stage of lactation on nutrient composition of Tswana sheep and goat's milk. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 533–543.

Babiker, E. E., Juhaimi, F. A., Ghafoor, K., Abdoun, K. A. 2017. Comparative study on feeding value of Moringa leaves as a partial replacement for alfalfa hay in ewes and goats. *Livestock Science*. 195. 21-26.

Bernabucci, U., Basiricò, L., Morera, P. 2013. Impact of hot environment on colostrum and milk composition. *Cell Mol Biol*. 59(1). 67-83.

Bordin, G., Cordeiro Raposo, F., de La Calle, B., Rodriguez, A.R. 2001. Identification and quantification of major bovine milk proteins by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 928. 63-76

Borková M., Snášelová J. 2005. Possibilities of different animal milk detection in milk and dairy products – a review. *Czech Journal of Food Science*. 23. 41–50.

Bucek, P., Pytloun, J., Kölbl, M., Milerski, M., Pindřák, A., Mareš V., Konrád., Rubášová P., Škaryd, V., Kuchtík, J., Sokol, P., Janštová, B. 2007. Vybrané problémy kvality a produkce koziho mléka a kozích sýrů. *Ročenka chovu ovcí a koz v České republice za rok 2006*. (1). 91-95.

Cak, B., Yilmaz, O., Ocak, E. 2016. Physical-Chemical Composition of Milk and Fiber Quality in Hair Goats and the Phenotypic Correlations between Milk Composition and Fiber Traits. *Pakistan Veterinary Journal*. 37(1). 35-38.

Caroli, A., Chiatti, F., Chessa, S., Rignanese, D., Bolla, P., Pagnacco, G. 2006. Focusing on the goat casein complex. *Journal of Dairy Science*. 89(8). 3178-3187.

Chornobai C.A.M., Damasceno J.C., Visentainer J.V., de Souza N.E., Matushita M. (1999): Physical-chemical composition of in natura goat milk from cross Saanen throughout lactation period. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 49, 283–286.

de Souza Araújo, D. F., Guerra, G. C. B., de Araújo Júnior, R. F., de Araújo, A. A., de Assis, P. O. A., de Medeiros, A. N., ... do Egypto, R. D. C. R. 2016. Goat whey ameliorates intestinal inflammation on acetic acid-induced colitis in rats. *Journal of Dairy Science*. 99(12). 9383-9394.

Devold, T.G., Ragnhild, N., Langsrud, T., Svenning, C., Brovold, M.J., Sorensen, E.S., Christensen, B., Adnøy, T., Vegarud, E. 2011. Extreme Frequencies of the "Null" Variant in Milk from Norwegian Dairy Goats - Implications for Milk Composition, Micellar Size and Renneting Properties. *Dairy Science & Technology*. 91(1). 39-51.

Dostálová, J. 2006. Kozí mléko. *Výživa a potraviny*. 59. 8-9.

Dostálová, J. 2016. Mléko a mléčné výrobky ve výživě. *Sborník prezentací, XXXII. Mezinárodní kongres SKVIMP*. 61-64. ISBN 978-80-7177-954-4.

Doubravsky, P. 1992. Making use of the somatic cell concentration in the milk for improving the udder health. 119s.

Fetrow, J., Mann, D., Butcher, K., McDaniel, B. 1991. Production losses from mastitis: carry-over from the previous lactation. *Journal of dairy science*. 74(3). 833-839.

Hušek, V., Plocková, M., Snášelová, J., Štípková, J., 1996. *Mlékárenská technologie II. VŠCHT, Praha*, 228 s. ISBN: 8070802502.

Et-Thakafy, O.; Guyomarc'h, F.; Lopez, Ch. 2017. Lipid domains in the milk fat globule membrane: Dynamics investigated in situ in milk in relation to temperature and time. *Food Chemistry*. 220. 352-361.

Farrell, H.M., Jimenez-Flores, R., Bleck, G.T., Brown, E.M., Butler, J.E., Creamer, L.K., Hicks, C.L., Hollar, C.M., Ng-Kwai-Hang, K.F., Swaisgood, H.E. 2004. Nomenclature of the Proteins Cows' Milk – 6th Revision. *Journal Dairy Science*. 87. 1641-1674.

Fox, F. P., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (eds.), 2004. *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology, Volume 1 General Aspects*, 3rd ed. Elsevier Academic Press, Italy, p. 617. ISBN: 0-12-263652-X.

Hanuš, O., Hlánský, J., Genčurová, M., Bjelka, M. 2004. Mléko, všestranně významná potravinu. Fyziologie vzniku, péče o produkci a hodnota pro člověka. Příloha, *Osteologický bulletin*. 9(4). 3-15.

Hejtmánková, A., Pivec, V., Trnková, E., Dragounová, H. 2012. Differences in the Composition of Total and Whey Proteins in Goat and Ewe Milk and their Changes throughout the Lactation Period. *Czech Journal of Animal Science*. 57 (7). 323-332.

Holeček, M. 2006. *Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin*. Grada. Praha. 286 s. ISBN 978-80-247-1562-9.

Ibrahim, H. R., Ahmed, A. S., & Miyata, T. 2017. Novel angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from caseins and whey proteins of goat milk. *Journal of Advanced Research*. 8(1). 63-71.

Janovič S., Barač M., Mačej O., Djurevič J.D. (2005): SDS page analysis of milk proteins altered by high thermal treatment. *Acta Alimentaria*, 34, 105–112.

Jansová, B., Hejtmánková A., DRAGOUNOVÁ, H. 2007. Obsah a složení syrovátkových bílkovin kozího a ovčího mléka. In: *Celostátní přehledky sýrů 2007: výsledky přehledů a sborník přednášek semináře „Mléko a sýry“*. Praha: Vysoká škola chemicko technologická v Praze. s. 139-143. ISBN 978-80-7080-661-6.

Kalač, P. 2008. Role výživy v ochraně před osteoporózou. *Výživa a potraviny*. 63(1), 3-5.

Kalantzopoulos, G. 2003. Kvalita ovčieho a kozího mlieka z pohľadu IDF. Mliekarstvo. 34 (4). 16-23.

Kapadiya, D. B., Prajapati, D. B., Jain, A. K., Mehta, B. M., Darji, V. B., Aparnathi, K. D. 2016. Comparison of Surti goat milk with cow and buffalo milk for gross composition, nitrogen distribution, and selected minerals content. Veterinary World. 9(7). 710.

Kohout, P. 2010. Potraviny - součást zdravého životního stylu. Olomouc. Solen. 106s. ISBN: 978-80-87327-39-5

Kohout, P. 2016. Choroby spojené s nesnášenlivostí mléka. Sborník prezentací, XXXII. Mezinárodní kongres SKVIMP. 66s. ISBN: 978-80-7177-954-4.

Kohout, P., Dostálová, J., Szitányi, P., Szitányi, N., Růžičková, L. 2016. Mléko - přítel nebo nepřítel: jak postupovat při nesnášenlivosti mléka. Forsapi s.r.o.. Praha. 53s. ISBN: 978-80-87250-31-0

Křížová, L., Ryšavý, J., Richter, M., Veselý, A., Hanuš, O., Janštová, B., ... Samková, E. 2017. Milk yield, milk composition, fatty acid profile and indices of milk fat quality as affected by feeding with extruded full-fat soybean. Mljekarstvo. 67(1). 49-57.

Kuchtík J., Šustová K., Urban T., Zapletal D. (2008): Effect of the stage of lactation on milk composition, its properties and the quality of rennet curdling in East Friesian ewes. Czech Journal of Animal Science, 53, 55–63.

Kučević, D., Pihler, I., Plavšić, M., Vuković, T. 2016. The composition of goat milk in different types of farming's. Biotechnology in Animal Husbandry. 32(4). 403-412.

Küpper, J., Chessa, S., Rignanese, D., Caroli, A., Erhardt, G. 2010. Divergence at the casein haplotypes in dairy and meat goat breeds. Journal of Dairy Research. 77(01). 56-62.

Laurent, F., Coomans, D., Gardeur, J.N. Vignon, B. 1992. Composition azotée et caractéristiques technologiques du lait de vache en relation avec la nature et le niveau d'apport de l'aliment concentré. *Le Lait*, 72, 175-83.

Leitner, G., Silanikove, N., Merin U. 2007. Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. *Small Ruminant Research*. 74(1). 221-225.

Li, Z., Wright, A. D. G., Yang, Y., Si, H., Li, G. 2017. Unique Bacteria Community Composition and Co-occurrence in the Milk of Different Ruminants. *Scientific Reports*. 7. 40950.

Marletta, D., Criscione, A., Bordonaro, S., Guastella, A. M., D'Urso, G. 2007. Casein polymorphism in goat's milk. *Le Lait*. 87(6). 491-504.

Mátlová, V., Sztankóová , Z. 2010. Využití polymorfismu mléčných bílkovin pro zlepšení kvalitativních a technologických vlastností mléka koz - certifikovaná metodika. Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha. 34 s. ISBN: 978-80-7403-076-5.

Matouš, B. 2010. Základy lékařské chemie a biochemie. Galén. Praha. 540 s. ISBN: 978-80-72627028.

Mitulovic, G., Mechtler, K. 2006. HPLC techniques for proteomics analysis – a short overview of latest developments. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 38 (3). 390-403.

Moatsou G., Hatzinaki A., Samolada M., Anifantakis E. (2005): Major whey proteins in ovine and goat acid wheys from indigenous Greek breeds. *International Dairy Journal*. 15. 123–131.

Moreno-Fernández, J., Díaz-Castro, J., Alférez, M. J., Hijano, S., Nestares, T., López-Aliaga, I. 2016. Production and chemical composition of two dehydrated fermented dairy products based on cow or goat milk. *Journal of Dairy Research*. 83(01). 81-88.

O'connell, J. E., Fox, P. F. 2001. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy Journal*. 11(3). 103-120.

Ottillia, B. H., Csanádi, J., Török, G. 2009. Investigation of the protein fractions in goat milk with RP-HPLC to optimize the milk processing. *Analele Universității din Oradea, Fascicula: Ecotoxicologie, Zootehnie și Tehnologii de Industrie Alimentară*. 111-118.

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

Pavič, V., Antunac N., Mioč, B., Ivankovič, A., Havránek, J. L. 2002. Influence of stage of lactation on the chemical composition and physical properties of sheep milk. *Czech Journal of Animal Science*. 47 (2). 80–84.

Pirisi, A., Colin, O., Laurent, F., Scher, J., Parmentier, M. 1994. Comparison of milk composition, cheesemaking properties and textural characteristics of the cheese from two groups of goats with a high or low rate of α 1-casein synthesis. *International Dairy Journal*. 4(4). 329-345.

Rafiq, S., Huma, N., Pasha, I., Sameen, A., Mukhtar, O., Khan, M. I. 2016. Chemical Composition, Nitrogen Fractions and Amino Acids Profile of Milk from Different Animal Species. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 29(7). 1022.

Remeuf F., Cossin, V., Dervin C., Lenoir J. 1991. Relation entre les caracteres physico-chimiques des laits et leur aptitudes fromageres. *Le Lait*, 71, 397-422.

Renna, M., Lussiana, C., Cornale, P., Battaglini, L. M., Fortina, R., & Mimosi, A. 2016. Effect of ruminally unprotected Echium oil on milk yield, composition and fatty acid profile in mid-lactation goats. *Journal of Dairy Research*. 83(01). 28-34.

Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (eds.) 2003. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Volumes: 1-4. Academic Press, London. p. 2799. ISBN: 0-12-227235-8.

Ruprichová, L., Králová, M., Borkovcová, I., Vorlová, L., Bedáňová, I. 2014. Determination of whey proteins in different types of milk. *Acta Veterinaria Brno*. 83(1) 67-72.

Solaiman, S. G. 2010. *Goat Science and Production*. 1. Wiley. London. p 444. ISBN 9780813809366.

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

Stránský, M. 2004. Mýty spojené s mlékem. *Výživa a potraviny*. 59(6). 147.

Tláskal, P. Mléko ve výživě dítěte. *Výživa a potraviny* [online]. Únor 2006. [cit. 2016-10-12]. Dostupné z <http://www.vyzivaspol.cz/mleko-ve-vyzive-ditete/>

Tsiplakou, E., Abdullah, M. A., Alexandros, M., Chatzikonstantinou, M., Skliros, D., Sotirakoglou, K., ... Zervas, G. 2017. The effect of dietary *Chlorella pyrenoidosa* inclusion on goats milk chemical composition, fatty acids profile and enzymes activities related to oxidation. *Livestock Science*. 197. 106-111.

Turhan Dincel, D., Ardicli, S., Samli, H., Balci, F. 2016. Determining the frequencies of B1, B2, B3 and E alleles of the CSN1S1 gene and their effects on milk yield and composition in Saanen goats. *South African Journal of Animal Science*. 46(2). 180-190.

Tziboula, C. A. 2002. Goatmilk. *Encyclopedia of Dairy Science*. 2002(2). 1270-1279.

Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravin I. OSSIS*. Tábor. 602 s. ISBN: 978-80-8665915-2.

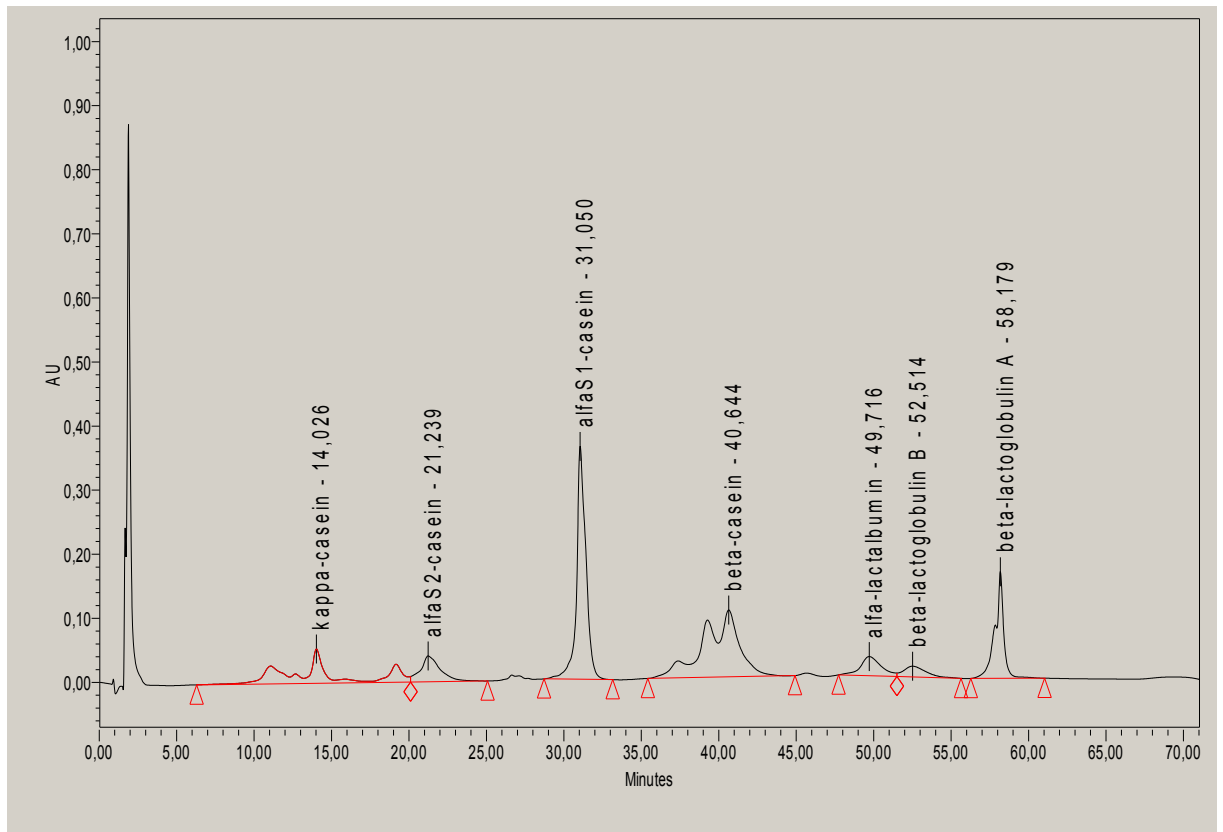
Wang, X., Zhao, X., Huang, D., Pan, X., Qi, Y., Yang, Y., ... Cheng, G. 2017. Proteomic analysis and cross species comparison of casein fractions from the milk of dairy animals. *Scientific Reports*, 7. 43020.

Weinstein, J. A., Taylor, S. J., Rosenberg, M., DePeters, E. J. 2015. Whey protein gel composites in the diet of goats increased the omega-3 and omega-6 content of milk fat. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 100. 789–800.

Yadav, A. K.; Singh, J; Yadav, S. K. 2016. Composition, nutritional and therapeutic values of goat milk: A review. *Asian Journal of Dairy and Food Research*. 35(2). 96-102.

9 Přílohy:

Příloha 1: chromatogram kravského mléka



Příloha 2: Statistické zhodnocení

Výsledky byly hodnoceny metodou regresní analýzy.

H: Existuje statisticky významný rozdíl v průměrném obsahu celkových bílkovin a kaseinů za dané měsíce v bazénových vzorcích kozího mléka.

	(1) CSN_TTOTAL	(2) Proteins
Kveten	6.273 (1.28)	0.907 (1.97)
Cerven	-1.267 (-0.33)	-0.633 (-1.74)
Cervenec	4.323 (0.88)	-0.183 (-0.40)
Srpen	2.703 (0.78)	-0.0567 (-0.17)
Zari	6.113 (1.25)	0.477 (1.04)
_cons	79.17 ^{***} (32.27)	1.873 ^{***} (8.14)
<i>N</i>	11	11

t statistics in parentheses

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

V závorce – *t* statistiky pro dané koeficienty

Výsledky v tabulce ukazují, že neexistuje statisticky významný rozdíl mezi dubnovými průměrnými množství kaseinových bílkovin a průměrným množstvím kaseinových bílkovin v ostatních měsících.

H: Existuje statisticky významný rozdíl v obsahu kaseinů a celkových bílkovin ve vzorcích kozího mléka z farem F1, F2 a F3

	(1) CSN_TTOTAL	(2) Proteins
F1	-7.857* (-4.72)	-0.889** (-3.43)
F2	-4.907* (-2.95)	-0.629* (-2.42)
_cons	84.67*** (83.10)	2.266*** (14.26)
<i>N</i>	11	11

Existuje statisticky významný rozdíl mezi F1 a F3 a mezi F2 a F3 v about modelech.

H: Existuje statisticky významný rozdíl v procentuálním zastoupení kaseinů a obsahu celkových proteinů ve vzorcích kozího mléka z farmy F3 s různým obsahem somatických buněk.

	(1) CSN_TTOTAL	(2) Proteins
SB_1000	6.044 (0.70)	0.370 (1.25)
SB_500_1000	-4.268 (-0.49)	0.0240 (0.08)
_cons	73.09*** (11.90)	1.596*** (7.64)
<i>N</i>	15	15

Neexistuje statisticky významný rozdíl v průměrných hodnotách obsahu kaseinových bílkovin pro různé zastoupení SB.

T statistiky u většiny koeficientů jsou nízké z důvodu velkých směrodatných chyb těchto koeficientů. To je pravděpodobně způsobeno malým počtem pozorování. Pro zvýšení přesnosti koeficientů by bylo potřeba zvýšit počet pozorování.

10 Seznamy

10.1 Seznam zkratek

BCAA – aminokyseliny s rozvětveným řetězcem

bp – páry bazí

CLA – konjugovaná kyselina linolová

CN - kasein

DGLA - dihomog- γ -linolenová kyselina

DHA – dokosaheptaenová kyseliny

HPLC - vysokoúčinná kapalinová chromatografie

kb – kilo báze

KBK – koza bílá krátkosrstá

KS – koza sánská

MUFA – mononenasycené mastné kyseliny

PL – plazmin

PUFA – polynenasycené mastné kyseliny

SB – somatické buňky

SFA – nasycené mastné kyseliny

sm. odch. – směrodatná odchylka

10.2 Seznam obrázků

Obr 1. Chromatogram kozího mléka, v němž nebyl detekován β -laktoglobulin B

Obr 2. Chromatogram kozího mléka, v němž byl detekován β -laktoglobulin B

10.3 Seznam tabulek

Tabulka 1: Základní chemické složení mléka (hodnoty jsou uvedeny v %)

Tabulka 2: Průměrné složení mastných kyselin v kozím, kravském a mateřském mléce
v g/100 g tuku

Tabulka 3: Složení kaseinu kozího mléka

Tabulka 4: Alely/varianty α S1-CN kozího mléka

Tabulka 5: Varianty/alely β – kaseinu v kozím mléce

Tabulka 6: Varianty/alely α S2-kaseinu v kozím mléce

Tabulka 7: Varianty/alely κ -kaseinu v kozím mléce

Tabulka 8: Bioaktivní látky v kozím mléce.

Tabulka 9: Podmínky gradientové eluce.

Tabulka 10: Meze detekce a stanovitelnosti sledovaných analytů.

Tabulka 11: Výsledky analýz – mléko rozděleno do skupin dle počtusomatických buněk.

Tabulka 12: Výsledky analýz bazénových vzorků kozího mléka

10.4 Seznam grafů

Graf 1: Celkový obsah bílkovin v mléce dle počtu somatických buněk, farma F1

Graf 2: Celkový obsah bílkovin v mléce dle počtu somatických buněk, farma F2

Graf 3: Celkový obsah bílkovin v mléce dle počtu somatických buněk, farma F3

Graf 4: Porovnání celkového obsahu bílkovin v bazénových vzorcích mléka dle doby laktace

Graf 5: Zastoupení jednotlivých frakcí kaseinových bílkovin v bazénových vzorcích, dle farem a dle fáze laktace

Graf 6: Zastoupení jednotlivých frakcí syrovátkových bílkovin v celkovém množství syrovátkových bílkovin v bazénových vzorcích, dle farem a dle fáze laktace

Graf 7: Průměrné zastoupení jednotlivých frakcí kaseinových bílkovin v bazénových vzorcích mléka, dle farem

Graf 8: průměrné zastoupení jednotlivých frakcí syrovátkových bílkovin v bazénových vzorcích mléka, dle farem

Graf 9: Vztah procentuálního zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí k počtu somatických buněk – F1 (% z celkového množství kaseinu)

Graf 10: Vztah procentuálního zastoupení jednotlivých syrovátkových frakcí k počtu somatických buněk – F1 (% z celkového množství syrovátkových bílkovin)

Graf 11: Vztah procentuálního zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí k počtu somatických buněk – F2 (% z celkového množství kaseinu)

Graf 12: Vztah procentuálního zastoupení jednotlivých syrovátkových frakcí k počtu

somatických buněk – F2 (% z celkového množství syrovátky)

Graf 13: Vztah procentuálního zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí k počtu

somatických buněk – F3 (% z celkového množství kaseinu)

Graf 14: Vztah procentuálního zastoupení jednotlivých syrovátkových frakcí k počtu

somatických buněk – F3 (% z celkového množství syrovátky)

10.5 Seznam příloh

Příloha 1: chromatogram kravského mléka

Příloha 2: Statistické zhodnocení