

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



**Význam mléka a jeho složek ve výživě a ve vztahu
k alergiím a intoleranci**

Bakalářská práce

Autor práce: Petra Dědinová

Obor studia: Výživa a potraviny (ATZD)

Vedoucí práce: RNDr. Milena Bušová, CSc.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Význam mléka a jeho složek ve výživě a ve vztahu k alergiím a intoleranci" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.4.2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala RNDr. Mileně Bušové, CSc. za odborné vedení a pomoc při zpracování bakalářské práce. Dále bych především chtěla poděkovat své rodině za podporu při mém studiu.

Význam mléka a jeho složek ve výživě a ve vztahu k alergiím a intoleranci

Souhrn

Mléko se řadí ve výživě člověka mezi významnou součást stravy díky bohatému zastoupení lipidů, cukrů (laktóza) a bílkovin, které slouží jako stavební látky a zdroj energie. V mléce se dále vyskytují ve stopovém množství minerální látky, hormony, vitaminy, esenciální mastné kyseliny, enzymy a dusíkaté látky. Mléčný cukr, laktóza, je ojedinělý sacharid, který má vedle energetického významu zvláštní roli jako zdroj galaktózy, která příznivě ovlivňuje složení a metabolismus střevní mikroflóry. Galaktóza ve formě glykolipidů, cerebrosidů a gangliosidů je základní součástí mozku a nervové tkáně a tím esenciální složkou výživy jedince. Z minerálních látek je důležitý obsah vápníku a fosforu a jejich vzájemný poměr a také obsah hořčíku, a to jak z hlediska optimálního vývoje kostry, tak i jako účinné prevence osteoporózy. Mléčný tuk je po chemické stránce glyceridem nasycených, ale i nenasycených mastných kyselin. Jeho význam spočívá ve snadné stravitelnosti tuku a také v přenášení vitaminů rozpustných v tucích. Současná populace se potýká se zvyšujícími se zdravotními problémy v souvislosti s konzumací mléka. Alergie na kravské mléko je imunitní reakce na bílkoviny mléka. Bílkoviny obsažené v kravském mléce, které obvykle vyvolávají reakci, jsou: α -laktalbumin, laktoglobulin a kasein. U alergie na bílkovinu kravského mléka je konzumace jakýchkoliv výrobků obsahujících mléčnou bílkovinu zakázána. Intolerance laktózy, stejně jako alergie na mléčnou bílkovinu, patří do skupiny nežádoucích potravinových reakcí. Příčinou intolerance laktózy je enzymatická porucha. U intolerance je povolena konzumace mléka a mléčných výrobků se sníženým obsahem laktózy podle individuální tolerance jedince. Tato práce shrnuje poznatky o významu mléka ve výživě, zabývá se principem alergie a laktózové intolerance. V experimentální části se věnuje zjišťování obsahu laktózy v různých druzích mléka a mléčných výrobků a dostupnosti laktóza-free mléčných výrobků v tržní síti. Pro ukázkou vlivu fermentace na snížení obsahu laktózy v mléce byl v závěru práce proveden a vyhodnocen experiment s fermentující sušenou keřirovou a acidofilní kulturou. Obsah laktózy ve vzorcích po fermentaci byl stanoven pomocí HPLC metody, která je ke stanovení sacharidů v mléce a mléčných výrobcích doporučovaná. Fermentací použitými kulturami byla snížena koncentrace laktózy v mléce o 18 % a 34 %. Obsah laktózy, který zbyl ve vzorcích po fermentaci, je stále příliš vysoký. Proto ani tyto klasicky fermentované mléčné výrobky nemohou být doporučovány osobám trpícím laktózovou intolerancí.

Klíčová slova: mléko, laktóza, bílkoviny mléka, alergeny

The importance of milk components in the diet and in relation to allergies and intolerance.

Summary

Milk represents an important part of human nutrition because of its rich amount of lipids, carbohydrates (lactose) and proteins that are used by body as building material and energy source. The other components of milk are presented in a trace amount such as mineral substances, hormones, vitamins, essential fatty acids, enzymes and nitrogenous substances. Milk sugar, a lactose, is an unique carbohydrate, which in addition to the importance of energy plays special role as a source of galactose, which positively affects the composition and metabolism of intestinal microflora. Galactose in form of glycolipids, cerebrosides and gangliosides, is an essential part for the brain and nervous tissue. Important minerals in milk are calcium and phosphorus. Their content and the ratio, and also magnesium content, they all are responsible for optimal skeletal development as well as effective prevention of osteoporosis. Milk fat consists of glycerides of saturated and unsaturated fatty acids. It is easily digestible fat carrying fat-soluble vitamins. The current population is facing increasing health problems related to the milk consumption. Cow's milk allergy is an immune reaction to milk proteins. The milk proteins which usually cause the reaction are: α -lactalbumin, β -lactoglobulin, and caseins. The consumption of any products containing dairy proteins is prohibited in the case of milk allergy. Lactose intolerance as well as allergy to milk proteins belongs to a group of food adverse reactions. The cause of lactose intolerance is an enzymatic disorder. In this case consumption of milk and dairy with reduced lactose content is allowed just depends on individual tolerance. There is summary of importance of milk in human nutrition, principle of milk allergy and lactose intolerance in theoretical part of thesis. Experimental part is focus on identification of the lactose content in different kinds of milk / dairy products and the availability of lactose-free dairy products in the market. In conclusion influence of fermentation on decreasing of the amount of lactose in milk by using dry acidophilic and kefir microbiological culture. The final amount of lactose and its metabolites in the samples was determined with recommended HPLC methods for establishing saccharides in milk and dairy. This process was demonstrated as being useful for monitoring the development of the fermentation of acidified and kefir cultures is shown. Fermentation of these cultures conduct to reduction of concentration of lactose in milk by 18 % and 34 %. The content of lactose after fermentation was still too high so these products cannot be recommended for people suffering from lactose intolerance.

Keywords: milk, lactose, milk proteins, allergens

Obsah

1 Úvod	8
2 Cíl práce	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Mléko	10
3.1.1 Dusíkaté látky	12
3.1.1.1 Dusíkaté látky nebílkovinné	15
3.1.2 Lipidy	15
3.1.3 Sacharidy	18
3.1.4 Vitaminy	19
3.1.5 Minerální látky a soli	20
3.1.6 Enzymy	21
3.2 Druhy mlék	22
3.2.1 Mlezivo	22
3.2.2 Zralé mléko	23
3.2.3 Starodojné mléko	23
3.3 Vlastnosti mléka	24
3.3.1 Základní fyzikální a chemické vlastnosti	24
3.3.2 Technologické vlastnosti mléka	25
3.4 Mateřské mléko ve výživě člověka	26
3.5 Mléko jiných savců využívané ve výživě člověka	29
3.5.1 Ovčí	29
3.5.2 Kozí	31
3.5.3 Srovnání kravského, kozího a ovčího mléka	31
3.6 Význam mléka a mléčných výrobků ve výživě člověka	33
3.6.1 Mléko a mléčné výrobky v prevenci osteoporózy	33
3.6.2 Mléko a mléčné výrobky v prevenci zubního kazu	34
3.7 Potravinová přecitlivělost na mléko	34
3.7.1 Alergie na mléčnou bílkovinu	35
3.7.2 Intolerance laktózy	38
3.8 Fermentace mléka	41
3.8.1 Bakterie mléčného kysání	42
3.8.2 Mléčná fermentace	42
3.8.3 Mlékařské kultury	43
3.9 Výrobky se sníženým obsahem laktózy a bezlaktózové mléčné výrobky ..	45

4 Metodika	46
4.1 Dostupnost mléčných bezlaktózových výrobků v tržní síti	46
4.2 Stanovení složek na přístroji MilkoScan FT 120	47
4.2.1 Popis přístroje	47
4.2.2 Princip měření.....	47
4.2.3 Vzorky - výrobky použité pro měření na MilkoScanu	48
4.2.4 Postup při měření	49
4.3 Stanovení obsahu laktózy a dalších metabolitů metodou HPLC	49
4.3.1 Popis přístroje	49
4.3.2 Princip měření na kapalinovém chromatografu.....	50
4.3.3 Vzorky použité k analýze	51
4.3.3.1 Mléko	51
4.3.3.2 Použité bakteriální kultury.....	51
4.3.4 Příprava vzorku mléka pro HPLC	52
4.3.5 Měření vzorků.....	53
5 Výsledky	54
5.1 Průzkum laktóza-free výrobků v tržní síti	54
5.2 Výsledky z MilkoScanu	55
5.3 Výsledky z HPLC	56
6 Diskuze	60
7 Závěr	62
8 Použitá literatura	63

1 Úvod

Mléko se řadí ve výživě člověka mezi významné nutriety po několik tisíc let. Jedná se o komplexní potravinu, díky obsahu všech základních živin, bílkovin, tuků, mléčného cukru - laktózy, přítomných esenciálních látek, vitaminů a minerálů. Mléčné bílkoviny jako stavební látky jsou potřebné pro výstavbu všech tkání v organismu. Mléčná bílkovina je složená z peptidů a množství aminokyselin, z kterých je velká část pro člověka nenahraditelná (esenciální aminokyseliny). Mléčný tuk je po chemické stránce glyceridem nasycených, ale i nenasycených mastných kyselin. Jeho význam spočívá nejen v lehčí stravitelnosti tuku s dietetickým významem, ale také v přenášení vitaminů rozpustných v tucích, a to vitaminů A a E a v letních měsících i vitaminu D. Mléčný cukr, laktóza, jako ojedinělý sacharid, který přísluší jen mléku a mléčným výrobkům, má vedle energetického významu zvláštní roli v dětství jako zdroj galaktózy a obecně pro příznivé ovlivnění složení a metabolismu střevní mikroflóry. Galaktóza ve formě glykolipidů, cerebrosidů a gangliosidů je základní součástí mozku a nervové tkáně, a tím esenciální složky výživy jedince, zejména v období jeho vývoje. Z minerálních látek je nesmírně důležitý obsah vápníku a fosforu a jejich vzájemný poměr a dále také obsah hořčíku, a to jednak z hlediska optimálního vývoje kostry u dětí a dospívající mládeže, stejně tak jako účinné prevence rozšířenosti osteoporózy u dospělých a zejména osob vyššího věku. Dnes je nejvíce využívaným mlékem mléko kravské a v menší míře mléko kozí a ovčí. Jako jedna ze základních potravin má tedy na naše zdraví mimořádný vliv, a to buď kladný, nebo záporný. Velká část dnešní populace trpí problémy, které se dávají do souvislosti s konzumací mléka a mléčných výrobků. Jedná se o nežádoucí potravinovou reakci, kam patří intolerance laktózy stejně jako alergie na mléčnou bílkovinu. Alergie je imunitní reakcí na mléko. Naopak, intolerance laktózy je enzymatická porucha, která vzniká následkem imunologických reakcí. V obou případech je potřebná eliminační dieta. U intolerance laktózy je povolena konzumace mléka a mléčných výrobků se sníženým obsahem laktózy podle individuální tolerance, naopak u alergie na bílkovinu kravského mléka je konzumace jakýchkoliv výrobků obsahujících mléčnou bílkovinu zakázaná. Kvalita mléčných výrobků se oproti minulosti zdatně změnila. Mléko změnilo svoji povahu, je tepelně zpracováváno, homogenizováno, sterilováno a uměle obohacováno. V dnešní době jsou také velmi rozšířené bezlaktózové výrobky, které mohou být konzumovány jedinci trpícími laktózovou intolerancí.

2 Cíl práce

Cílem této práce je vypracovat rešerši o významu mléka ve výživě člověka a charakterizovat podstatu problémů souvisejících s trávením mléka a mléčných výrobků, především alergií na kravské mléko a laktózové intolerance.

V experimentální části je cílem této práce zjistit, do jaké míry může fermentace za použití fermentující mikroflóry snížit obsah laktózy v mléce. Součástí práce je i průzkum dostupnosti bezlaktózových výrobků a výrobků se sníženým obsahem laktózy.

3 Literární rešerše

3.1 Mléko

Člověk používá mléko ve své výživě po dobu asi 8000 let (Thompson, 2009). Mléčný skot, který je chován v dnešní době, byl vyvinut z divokých zvířat z různých přírodních podmínek. Lidé museli začít domestikovat zvířata pro získání masa, mléka a kůže. Nejvíce rozšířeným živočišným druhem, který produkuje mléko, je kráva (Krus a kol. 2006).

Proces, díky kterému mají alveolární buňky schopnost tvořit a vylučovat mléko, se nazývá laktogeneze. Prvním stadiem je zvyšování enzymatické aktivity v mléčné žláze a diferenciaci buněčných organel, což je omezeno sekrecí mléka před porodem. Druhým stadiem je u většiny zvířat bohatá sekrece všech složek mléka těsně před porodem, vzniká tak mlezivo a tato sekrece pokračuje několik dnů po porodu (Reece, 2011).

Mléko je sekretem samic více než 4500 druhů savců, potřebný k naplnění všech nutričních požadavků narozených mláďat. Mléka všech druhů jsou v zásadě podobná, ale existují druhové rozdíly. Kromě dodávek všech nutričních požadavků pro novorozence má mléko ochrannou roli díky mikroelementům mléka, jako jsou oligosacharidy, imunoglobuliny, kov vázající bílkoviny a enzymy (Thompson, 2009). Je tedy první a na určitou dobu výhradní potravou pro novorozená mláďata, která splňuje nutriční potřeby mláďat (Lukášová, 2001).

Mléko je tekutina, která obsahuje spoustu složek. Hlavními složkami mléka jsou voda, lipidy, cukry (laktóza) a bílkoviny, které slouží jako stavební látky a zdroj energie. V mléce se dále vyskytují ve stopovém množství minerální látky, hormony, vitaminy, esenciální mastné kyseliny, enzymy a dusíkaté látky. Mléko je vodný roztok laktózy, anorganických a organických solí a složek, které se vyskytují ve stopovém množství, kde jsou přítomny syrovátkové bílkoviny v koloidní formě, kasein a emulgované tukové kuličky.

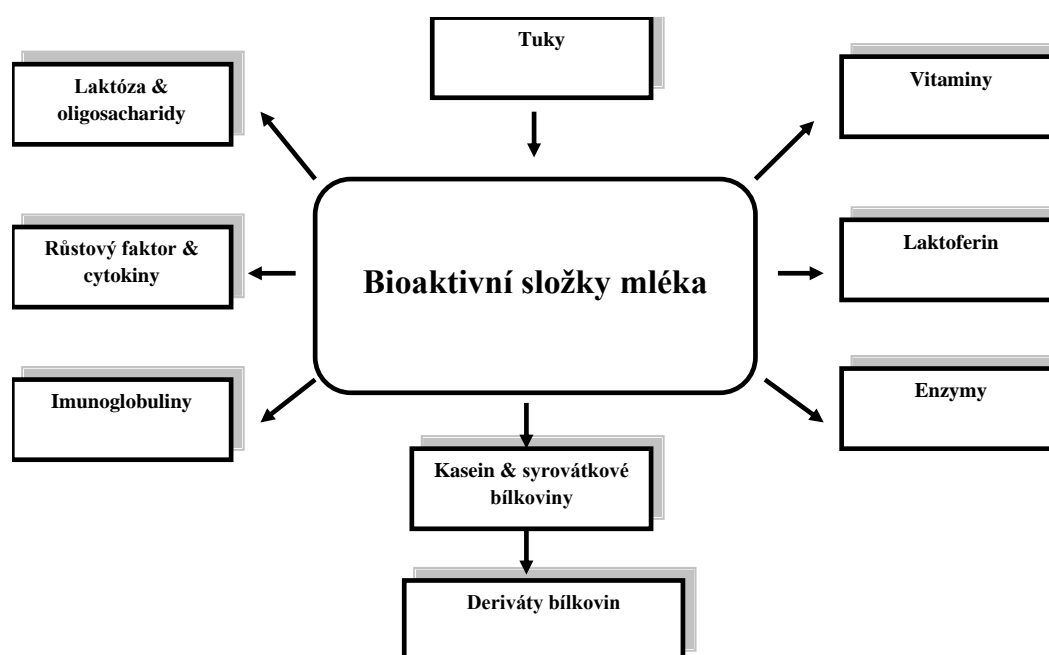
Mezi odlišnými druhy zvířat jsou rozdíly ve složení mléka, tyto rozdíly jsou i u stejného druhu. Záleží na zdravotním stavu zvířete, výživě, plemeni, fázi laktace, věku, intervalu mezi dojením, ročním obdobím a dalších faktorech (Fox, 1998; Thompson a kol., 2009).

Tabulka 1: Porovnání složení různých druhů mléka (Grieger, 1990).

Nutrient	Kravné	Ovčí	Kozí	Buvolí
Voda [%]	87,15	80,70	87,03	83,39
Bílkoviny [%]	3,29	5,98	3,56	3,75
Laktóza [%]	4,17	5,36	4,45	5,18
Tuk [%]	4,06	7,00	4,14	6,89
Minerální látky [%]	0,73	0,96	0,82	0,79

Mezi mnoho cenných složek v mléce patří vysoký obsah vápníku, který hraje důležitou roli ve vývoji, síle a hustotě kostí u dětí a v prevenci osteoporózy u starších lidí. Vápník také snižuje hladinu cholesterolu v krvi. Nedávné četné výzkumné činnosti identifikovaly velký počet bioaktivních látek v mléce a mléčných výrobcích, které vedly k objevu specifických biochemických, fyziologických a nutričních vlastností, které mají příznivé účinky na lidské zdraví. Čtyři hlavní oblasti bioaktivity složek mléka byly rozděleny do kategorií:

- 1) gastrointestinální vývoj, činnost a funkce;
- 2) rozvoj malého dítěte;
- 3) imunologický vývoj a funkce;
- 4) mikrobiální aktivita, zahrnující antibiotika a probiotika (Gobbetti a kol., 2007).

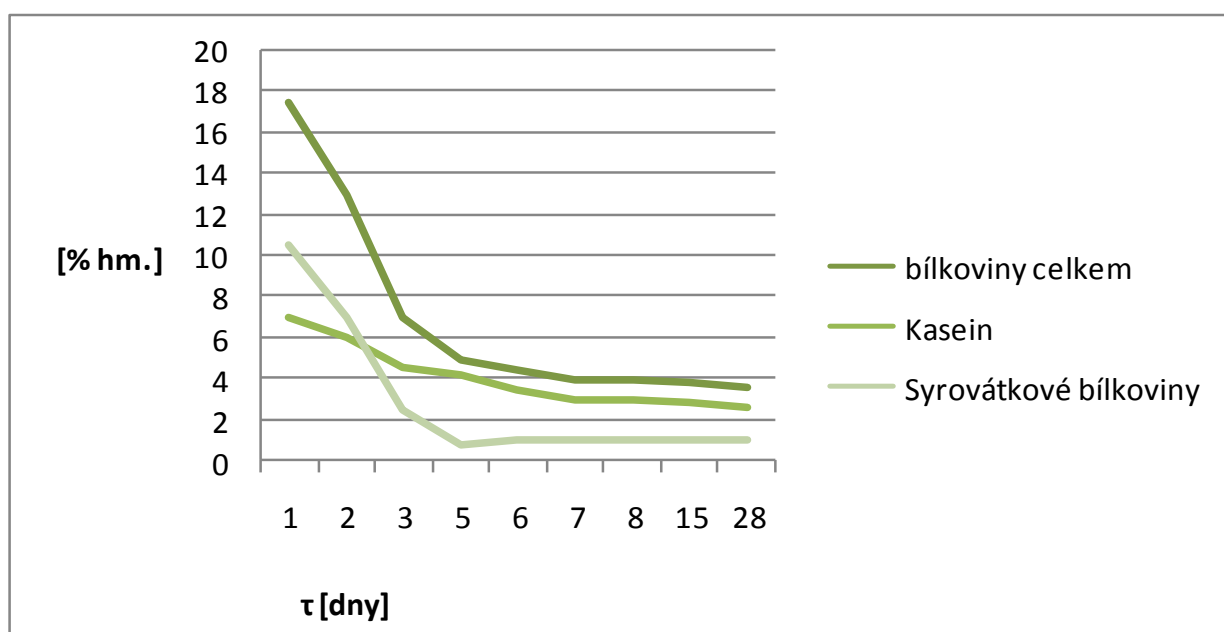
**Obrázek 1: Hlavní bioaktivní složky mléka (Park, 2009).**

Tabulka 2: Hlavní složky mléka u různých druhů savců (Fox, 1998).

Druh mléka	Sušina [% hm.]	Tuk [% hm.]	Bílkoviny [% hm.]	Laktóza [% hm.]	Popeloviny [% hm.]
Kravske	12,7	3,7	3,4	4,8	0,7
Ovčí	19,3	7,4	4,5	4,8	1,0
Kozí	12,3	4,5	2,9	4,1	0,8
Mateřské	12,2	3,8	1,0	7,0	0,2
Prasnice	18,8	6,8	4,8	5,5	Stopy
Koňské	11,2	1,9	2,5	6,2	0,5
Oslí	11,7	1,4	2,0	7,4	0,5

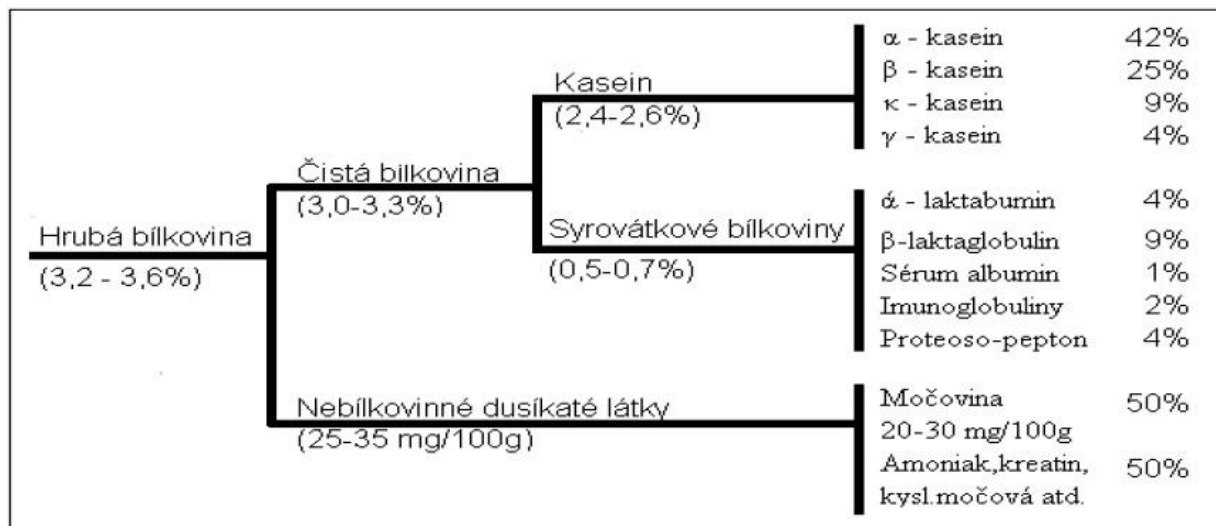
3.1.1 Dusíkaté látky

Dusíkaté látky tvoří nejkomplexnější složky mléka. Jejich studiu je věnována největší pozornost ze všech složek, díky jejich nutričnímu a technologickému významu. V mléčné žláze jsou tyto mléčné bílkoviny syntetizovány z esenciálních a převážně části neesenciálních aminokyselin, které jsou získávány z krve. Během několika dnů po porodu se mění rozdělení mléčných bílkovin, což je uvedeno na obrázku 2.



Obrázek 2: Změny koncentrace v kravském mlezivu a mléce v prvních dnech po porodu (celkové bílkoviny, kasein a syrovátkové bílkoviny) (Fox, 1998).

V kravském mléku jsou obsaženy dvě skupiny bílkovin, které se liší svými biologickými účinky, kasein a syrovátkové bílkoviny. Zastoupení a rozdělení těchto dusíkatých látek je uvedeno na obrázku 3.



Obrázek 3: Zastoupení a rozdělení základních dusíkatých látek v kravském mléce (Ingr, 2003).

Mléčné bílkoviny dodávají tělu esenciální aminokyseliny, které jsou potřebné pro rozvoj svalových tkání. Obsahují velké množství biologicky aktivních bílkovinů – vitaminy, imunoglobuliny a bílkovinné hormony. Různé složení mléka, které se liší nutričními a fyziologickými vlastnostmi je dáno také tím, v jakém stádiu vospělosti se narodí mláďata různých savců, každé se rodí v jiném. V tabulce 3 jsou zaznamenány rozdíly obsahu bílkovin u různých druhů živočichů, pohybují se od 1 % až do 24 % hmotnosti v sušině. Mezi obsahem bílkovin a tempu růstu daného druhu je přímá úměra (Fox, 1998).

Tabulka 3: Procentuální obsah bílkovin v mléce vybraných druhů savců (Fox, 1998).

Druh	Kasein [% hm.]	Syróvátkové bílkoviny [% hm.]	Bílkoviny celkem [% hm.]
Bizon	3,7	0,8	4,5
Ovce	4,6	0,9	5,5
Velbloud	2,9	1,0	3,9
Kráva	2,8	0,6	3,4
Koza	2,5	0,4	2,9
Osel	1,0	1,0	2,0
Sob	8,6	1,5	10,1
Kobyła	1,3	1,2	2,5
Králík	9,3	4,6	13,9

Hlavní důležitou bílkovinnou složkou mléka je kasein, který se nikde jinde v přírodě nevyskytuje. Kasein je fosfoprotein s nízkým obsahem sirných aminokyselin a vysokým obsahem prolinu. Kaseiny se od sebe liší primární strukturou tedy zastoupením aminokyselin. Kasein patří k nejlépe prozkoumaným bílkovinám a je obsažen ve všech druzích mléka. V kravském mléce je obsaženo 300x více kaseinu než v mléce lidském. V jednom litru mléka je obsaženo 30 - 40 g bílkovin, z toho 75 % tvoří kaseiny alfa, beta a kappa. Frakce kaseinu jsou vázány do micel, které ve své molekule obsahují i vápník, hořčík, citrany a fosfáty (Kopřiva, 2007).

Bílkoviny kaseinového komplexu jsou polymorfní, z čehož vyplývá, že u jednotlivých genetických variant se primární struktura konkrétní frakce může mírně lišit. Hlavně ve starší literatuře se dále objevují zmínky o γ -kaseinech a λ -kaseinech, které jsou však ve skutečnosti pouze fragmenty základních frakcí β -kaseinu resp. α_{S1} -kaseinu (Farrell et al., 2004).

Další bílkovinnou složkou jsou syrovátkové bílkoviny, které po vysrážení kaseinu kyselinou nebo syřidlem zůstávají v roztoku. Mezi tyto bílkoviny patří beta – laktoglobulin a alfa – laktalbumin, které jsou zde zastoupeny ze 70 – 80 % (Gajdůšek, 2006).

Přibližně 20 % čistých bílkovin tvoří syrovátkové bílkoviny, které se vysráží při pH 4,6. Mezi syrovátkové bílkoviny zahrnujeme kromě alfa-laktoalbuminu a beta-laktoglobulinu sérový albumin (SA), imunoglobuliny, proteázo-peptonová frakce, enzymy a jiné bílkoviny (Madureira et al., 2007).

Obsah jednotlivých frakcí syrovátkových bílkovin se liší podle druhu mléka. Hlavní frakcí syrovátkových bílkovin v mléce přežvýkavců je beta-laktoglobulin (Mc Kenzie, 1991). Zatímco u kravského mléka je známých 7 genetických variant beta-laktoglobulinu, tak v ovčím mléku se potvrdily 2 genetické varianty označeny jako A a B (Pintado, 1999).

Tabulka 4: Biologická aktivita mléčných bílkovin (Holec, 1989).

Bílkovina	Obsah [g/l]	Biologická funkce
Kaseiny	28	Transport iontů (vápníku, železa, mědi, zinku, fosforečnanů), prekursor biologicky aktivních peptidů
Beta-laktoglobulin	1,3	Transport vitamínu A, syntéza laktózy v mléčné žláze, transport vápníku, udržování imunity, antikarcinogenní účinky
Alfa-laktalbumin	1,2	
Imunoglobuliny A, M a G	0,7	Udržování imunity
Glykomakropeptid	1,2	Antivirové účinky, bifidogenní účinky
Laktoferin	0,1	Antimikrobní, antioxidantní a antikarcinogenní účinky, udržování imunity, využitelnost železa z potravy
Laktoperoxidasa	0,03	Antimikrobní účinky
Lysozym	0,0004	Antimikrobní účinky

3.1.1.1 Dusíkaté látky nebílkovinné

Sloučeniny rozpustné v 12% kyselině trichloroctové se nazývají nebílkovinné dusíkaté látky a v mléce jsou obsaženy z 5 % celkového dusíku. Hlavními složkami jsou močovina, kyselina močová, kreatin a volné aminokyseliny. Významný vliv na tepelnou stabilitu mléka má močovina. Koncentrace močoviny velmi kolísá (Thompson a kol., 2009).

3.1.2 Lipidy

Jako jeden z nejvýznamnějších ukazatelů kvality mléka se používá mléčný tuk. Ten slouží jako zdroj energie pro narozená mláďata. Tuk obsažený v mléce je odrazem energetických požadavků každého druhu, například mořští savci a suchozemští živočichové, kteří pocházejí z chladného prostředí, mají vysoký obsah tuku (Tamime, 2009).

Lipidy jsou definovány jako estery mastných kyselin a trojmocného alkoholu. Obsah tuků v mléce je od 2 % do 50 % obsahu v sušině (Fox, 1998). Obsah tuku v kravském mléce je od 33 g/l do 47 g/l mléka, toto množství je dáno stádiem laktace, plemenem, zdravotním stavem dojnice a výživou.

Základními složkami jsou di, tri a monoacylglyceroly, esenciální mastné kyseliny, především kyselina linolová, estery sterolů, v tucích rozpustné vitaminy A, D, E a K a fosfolipidy (Fox, 1998). Zastoupení těchto složek je z 98 % triglyceridy a 1 % fosfolipidy, které jsou součástí membrán tukových kuliček, malé množství diglyceridů,

monoglyceridů, estery cholesterolu, cholesterolu, lipofilních vitaminů a dalších většinou komplexních lipidů.

Polární lipidy jsou další biologicky zajímavou frakcí mléčného tuku a jejich obsah se pohybuje v rozmezí od 9,4 do 35,5 mg na 100 g mléka. Nacházejí se v membráně tukových kuliček a obsahují hydrofilní skupiny, díky nimž jsou schopny se hromadit a obklopotvat tukové kuličky. Tím je stabilizují a chrání před rozštěpením lipázami. Membrána tukových kuliček je složena z 60 % bílkovin a 40 % polárních tuků, kde jsou zastoupeny fosfolipidy, lipoproteiny, sfingolipidy, glykoproteiny a cholesterol. Tyto látky zlepšují technologické a nutriční vlastnosti (Fox, 1998).

Fosfolipidy se uplatňují při vývoji a růstu buněk, přispívají k ovlivnění vlastností buněčných membrán a k snižování hladiny cholesterolu. Fosfolipidy se vyznačují výživově fyziologickými účinky. Ve snižování hladiny cholesterolu hraje důležitou roli nasycený fosfatidylcholin, který je také zdrojem esenciální látky zvané cholin. Ta je předstupněm neuropřenašeče, acetylcholinu. Sfingomyelin také snižuje hladinu cholesterolu přijímaného ze stravy. 500 mg sfingomyelinu sníží hladinu LDL cholesterolu v krvi o 10 – 15 % (Suková, 2009). Dále uvádí, že gangliosidy vykazují účinek proti zánětům střevní sliznice po akutní expozici bakteriálními endotoxiny.

Tabulka 5: Složení fosfolipidů v mléce (Suková, 2009).

	Mléko [%]
Fosfatidylcholin	25
Fosfatidyletanolamin	25
Fosfatidylinositol	8
Sfingomyelin	25
Fosfatidylserin	10
Glykolipid	1

Mastné kyseliny v kravském mléce

Mastné kyseliny jsou karboxylové kyseliny tvořené uhlovodíkovým řetězcem, který obsahuje 3 až 25 atomů uhlíku s jednoduchou, násobnou i větvenou vazbou. V mléčném tuku je široké spektrum mastných kyselin.

Tabulka 6: Hlavní mastné kyseliny v mléčném tuku kravského mléka (Christie, 1995).

Nasycené mastné kyseliny		[%] vol. všech mastných kyselin
C_{4:0}	Máselná	2,00 - 5,00
C_{6:0}	Kapronová	1,00 - 5,00
C_{8:0}	Kaprylová	1,00 - 3,00
C_{10:0}	Kaprinová	2,00 - 4,00
C_{12:0}	Laurová	2,00 - 5,00
C_{14:0}	Myristová	8,00 - 14,00
C_{16:0}	Palmitová	22,00 - 35,00
C_{18:0}	Stearová	9,00 - 14,00
Monoenové nenasyčené mastné kyseliny		
C_{16:1}	Palmitolejová	1,00 - 3,00
C_{18:1}	Olejová	20,00 - 30,00
Polyenové nenasyčené mastné kyseliny		
C_{18:2 n-6}	Linolová	1,50 - 2,60
C_{18:3 n-3}	α -linolenová	0,70 - 1,60
C_{20:4 n-6}	Arachidonová	0,09 - 0,12
C_{20:5 n-3}	eikosapentaenová (EPA)	0,05 - 0,09
C_{22:6 n-3}	dokosahexaenová (DHA)	0,01
$\Sigma \omega$-3		1,10 - 2,50
$\Sigma \omega$-6		2,40 - 4,40

Nasycené mastné kyseliny

Mléčný tuk přežvýkavců je živočišný tuk, který je charakteristický hlavním podílem nasycených mastných kyselin. Kyselina palmitová (C_{16:0}), stearová (C_{18:0}) a myristová (C_{14:0}) jsou zde nejvíce zastoupeny. Těžké mastné kyseliny, tedy kyselina máselná (C_{4:0}) a další kyseliny s krátkým a středně dlouhým řetězcem do 10 uhlíků zde mají také vyšší zastoupení. Chuť a aroma mléka a mléčných výrobků jsou dány mastnými kyselinami s krátkým řetězcem (Walstra a kol., 2006).

Monoenové mastné kyseliny

Největší zastoupení z nenasyčených mastných kyselin má v mléčném tuku kyselina olejová (C_{18:1}), tvořící 20 – 30 % z celkového podílu mastných kyselin. V menší míře je zastoupena kyselina palmitolejová (C_{16:1}), myristolejová (C_{14:1}) a *trans*-izomer kyseliny olejové (*trans*-C_{18:1}). Čím nižší je stupeň nasycenosti mastných kyselin, tím nižší je jejich bod tání, ale vyšší polarita, rozpustnost v krevní plazmě a vyšší náchylnost k oxidačnímu žluku (Pánek a kol., 2002).

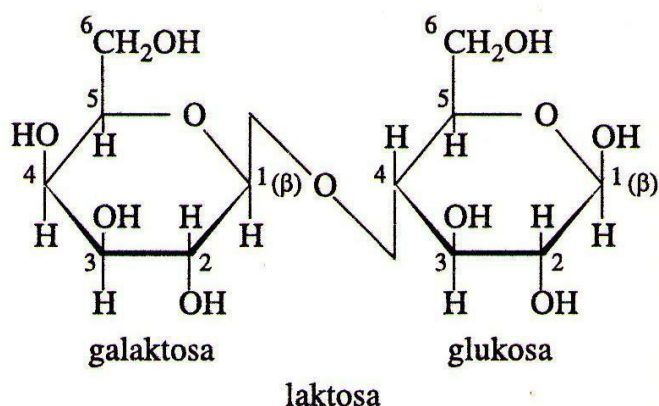
Polyenové mastné kyseliny

Bakterie v bacheru přežvýkavců hydrogenují kyseliny z krmiva, tudíž mléčný tuk obsahuje jen mále množství PUFA. Mléko, které je obohacené o mastné kyseliny s větším množstvím dvojných vazeb, se vyznačuje vyšší výživovou hodnotou a máslo, které se z něj vyrábí, se lépe roztírá. PUFA patří mezi esenciální mastné kyseliny, jelikož náš organismus je neumí syntetizovat. Největší zastoupení má kyselina arachidonová a linolová, které patří do skupiny n-6 a kyselina linolenová, dokosaheptaenová a eikosapentaenová kyselina, které se řadí k n-3 mastným kyselinám (Thompson a kol., 2009).

3.1.3 Sacharidy

Základní sacharid, který je obsažen v mléce a tvoří 99 % celkového množství sacharidů je laktóza. Ostatní sacharidy jsou v mléce přítomny jen ve stopovém množství a vyskytují se ve formě volné i vázané na bílkoviny, fosfáty nebo lipidy. Patří sem monosacharidy glukózy a galaktózy, oligosacharidy, N-acetyl-D-galaktosamin, N-acetyl-D-glukosamin, N-acetylneuraminovou kyselinu a L-fukosu (Benešová a kol., 2005). Park a Haenlein (2013) uvádí, že kravské mléko obsahuje přibližně 10 mg/l monosacharidů glukózy a galaktózy a přibližně 100 mg oligosacharidů na jeden litr mléka.

Laktóza neboli mléčný cukr, O- β -D-galaktopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-D-glukopyranosa je redukující disacharid, který se nachází v mléce savců. Thompson a kol. (2009) uvádí, že mléko je jediným zdrojem laktózy vyskytujícím se v přírodě, který je v mléčných epitelárních buňkách syntetizován ze dvou molekul glukózy, které jsou absorbovány z krve. Laktóza je tvořena dvěma monosacharidy D-glukosou a D-galaktosou, které jsou spojené β -1,4-glykosidovou vazbou, obrázek 4. Mléčný cukr tvoří α a β -anomery. Nejstabilnějším monomerem je α -laktóza, která z vody krystalizuje při teplotě 93,5 °C. Tento α -enantiomer je velmi málo rozpustný ve vodě, a proto je řízená krystalizace zařazena do přípravy mléčných výrobků, které mají snížený obsah vody, jako jsou sušené a zahuštěné výrobky. Pokud je molekula vody vázaná v krystalické mřížce, jedná se o monohydrát. Thompson uvádí, že krystalická laktóza je velmi málo hygroskopická a má malou sladivost, z 1% roztoku sacharózy jen 16 % sladivosti.



Obrázek 4: Laktóza (ChemSketch).

Laktóza obsahuje volnou karbonylovou skupinu a částečně se vyskytuje v podobě otevřeného řetězce s aldehydickou skupinou jako poloacetalový hydroxyl. Přes asymetrický uhlík vytváří chirální centrum a vyskytuje se ve dvou enantiomerních α a β -konfiguracích s odlišnými vlastnostmi. Nežádoucím procesem při výrobě mléčných výrobků je Maillardovo hnědnutí, kterého se laktóza účastní. Tato reakce neenzymového hnědnutí, při které vznikají hnědě zbarvené polymery, je typická pro smažená jídla (Thompson a kol., 2009).

Tamime uvádí, že laktóza dodává více energie než mléčný tuk, tudíž mléka, která mají vysokou koncentraci laktózy, obsahují méně lipidů. Z 50 % je laktóza odpovědná za osmotický tlak mléka, z toho vyplývá, že pokud je v mléce nízký obsah laktózy je zde vysoká koncentrace anorganických solí, které slouží k udržení tohoto tlaku.

Mléčný cukr, laktóza má svůj význam jako zdroj energie, dodává sladkou chuť, podporuje adsorpci vápníku, ale také se uplatňuje v technologii zpracování mléka, a to ve formě fermentovaných mléčných výrobků, díky rozkladu laktózy na kyselinu mléčnou. Ve fermentačních procesech se užívá jako zásobní cukr, zvyšuje výživovou hodnotu mléčných výrobků, ovlivňuje texturu, barvu a chuť jednotlivých produktů (Benešová a kol., 2005). Štěpení na glukózu a galaktózu je biochemicky významné, jelikož slouží k tvorbě mukopolysacharidů. Dalším cukrem je laktulóza, tedy izomer laktózy, vyskytuje se pouze v tepelně ošetřeném mléce. Má prebiotické účinky a obsahuje růstový faktor pro bifidobakterie a inhibuje růst *Escherichia coli* (Kopřiva, 2007).

3.1.4 Vitaminy

Vitaminy jsou nezbytné pro správnou funkci našeho organismu, slouží jako biokatalyzátory některých reakcí, hlavně pro podporu růstu a vývoje mláďat. Mají organický původ a získávají se buď z potravy, nebo pomocí střevní mikroflóry. V mléce jsou zastoupeny

jak lipofilní, tak hydrofilní. Z lipofilních, což jsou vitaminy rozpustné v tucích, je nejvíce zastoupen vitamin A, D, E a K a jejich množství závisí na obsahu tuku v mléce. Vitamin A se podílí na žlutém zbarvení mléčného tuku. Vitamin D je důležitý pro resorpci vápníku ve střevě a zpětnou resorpci v ledvinách. Vitamin E je velmi účinný antioxidant, který zabraňuje stárnutí, nádorovému bujení a podporuje zárodečnou tkáň. Vitamin K se účastní v játrech syntézy velkého množství koagulačních faktorů. Z hydrofilních, tedy vitaminů rozpustných ve vodě, se jedná o vitaminy ze skupiny B, a to vitamin B₅, B₂, B₁, B₆, PP, B₁₂. Zastoupen je také vitamin C, biotin (vitamin A), inositol a kyselina listová. V mlezivu je hladina vitaminů zvýšená.

Tabulka 7: Obsah vitaminů v mléce (Drbohlav, 2001).

Vitamin		Obsah	Rozpustnost
Označení	Název	vitaminů[mg/l]	
A	Retinol	0,3 - 1,0	V tucích
D	Kalciferol	0,001	
E	Tokoferol	0,2 - 1,2	
K	Fylochinon	0,01 - 0,03	
B ₁	Thiamin	0,3 - 0,7	Ve vodě
B ₂	Riboflavin	0,2 - 0,3	
B ₆	Pyridoxin	0,2 - 2,0	
B ₁₂	Korinoidy	0,01 - 0,03	
B ₅	Kyselina panthothenová	0,4 - 4,0	
PP	Niacin	0,8 - 5,0	
C	Kyselina askorbová	5,0 - 20	

3.1.5 Minerální látky a soli

Minerální látky můžeme rozdělit podle jejich obsahu na makroelementy (Ca, P, Na, K, Cl, Mg, S), mikroelementy (B, Co, Si, Cu, Mn, Mo, Br, Al, I) a minoritní prvky (Fe, Zn). Minerální látky jsou do těla transportovány krví, upravují hodnotu osmotického tlaku (Na a K soli), ovlivňují nabobtnání koloidů, jsou důležité pro udržení acidobazické rovnováhy v organismu a slouží také jako aktivátory enzymů. Buňky epitelu mléčné žlázy shromažďují minerální látky, které se následně mohou vstřebávat do jejich sekretu (Gajdůšek, 2003).

Tabulka 8: Obsah minerálních látek v mléce (Gajdůšek, 2003).

Prvek	Obsah v mléce [g/l]	
	Průměrná hodnota	Interval
Ca	1,21	0,90 - 1,40
P	0,95	0,70 - 1,20
K	1,5	1,00 - 2,00
Na	0,47	0,30 - 0,70
Cl	1,03	0,80 - 1,40
Mg	0,12	0,05 - 0,24
S	0,32	0,20 - 0,40

Z tabulky číslo 8 můžeme určit, že kravské mléko je bohaté na draslík, vápník, citráty a fosfáty. Tamime (2003) uvádí, že velká řada faktorů ovlivňuje množství a poměr minerálních solí, například druh krmiva a plemeno dojnice po fázi laktace.

Soli kromě minerálů zahrnují také sloučeniny organických kyselin. V mléce se vyskytují ve dvou formách, buď v mléčném séru jako rozpustné soli tvořící pravý roztok, nebo jako koloidy vázané na organické složky mléka (Thompson a kol, 2009).

3.1.6 Enzymy

V kravském mléce je velký počet enzymů syntetizovaných v mléčné žláze a řada z nich se do mléka dostává z krve. Čerstvé mléko může obsahovat okolo 70 enzymů a díky jejich působení byla prokázána přítomnost dalších 40 (Thompson, 2009). Mléko obsahuje nativní enzymy, jako je peroxidáza, lipáza, fosfatáza, kataláza a jiné, které pocházejí ze somatických buněk, leukocytů, buněčné cytoplazmy nebo membrány buněčného tuku. Mléčné enzymy napomáhají k určování indexu zdraví zvířat a v mléčných výrobcích mají ochranné účinky, ale mohou mít také dopad na zhoršení kvality mléka (Fox, 2003). Dále mléko obsahuje mikrobiální enzymy, jako je lipáza, reduktáza a proteáza. Pokud zahříváme mléko, dochází k inaktivaci a denaturaci bílkovin. Důležitým enzymem je laktoperoxidáza, jelikož má vysokou tepelnou stabilitu a můžeme díky ní ověřovat, jestli byla u mléka nebo smetany správně provedena vysoká pasterace (Gajdůšek, 2003).

3.2 Druhy mlék

Dle chemického složení lze všechna druhová mléka zařadit do různých skupin. Rozeznáváme mléka kaseinová a albuminová, a to podle zastoupení hlavních druhů bílkovin. Pokud obsah kaseinu překračuje 75 % z celkového obsahu bílkovin, jedná se o mléka kaseinová, která jsou produkována přežvýkavci. Masožravci, býložravci a všežravci, kteří mají jednoduchý žaludek, produkují mléka albuminová (Ingr, 2003).

Dále rozlišujeme mléka podle průběhu laktace na mléka nezralá a mléka zralá. Nezralé mléko neboli mlezivo či kolostrum je vylučované po porodu a má nažloutlou barvu. Mlezivo je hustá lepkavá tekutina s vysokým obsahem sušiny, jejíž převážný podíl je tvořen bílkovinami, především imunoglobuliny. Zralá mléka jsou vhodná k použití v lidské výživě, protože mají téměř ustálené složení, hodí se k průmyslovému zpracování (Gajdůšek, 2003).

Produkcí mléka ovlivňuje již zmíněné stádium laktace, dále také ovlivňuje zastoupení složek mléka, technologické vlastnosti a fyzikálně – chemické vlastnosti. Laktace u skotu trvá 305 dní. Období laktace můžeme rozdělit do 3 období podle změn ve složení a jakosti mléka. Prvním obdobím je kolostrální období, které trvá v průměru 5 dní, dalším je období produkce zralého mléka a poslední období produkce starodojného mléka.

3.2.1 Mlezivo

Mlezivo patří mezi nezralá mléka. Mlezivem se rozumí tekutina vylučovaná mléčnými žlázami zvířat a je produkováno krátce před porodem a 3 až 6 dnů, popř. i déle po porodu. Mlezivo má nažloutlou barvu, způsobenou vysokým obsahem beta-karotenu, slanou chuť vlivem nízké koncentrace laktózy a vyšší koncentrace chloridů. Vysoký obsah sušiny způsobuje viskózní koncentraci. Je bohaté na minerály, protilátky a předchází produkci syrového mléka.

Hlavními rozdíly mezi mlezivem a zralým mlékem jsou nasládlá chuť mléka, mírně slaná chuť mleziva, vyšší obsah hořčíku a nižší obsah laktózy u mleziva. U mleziva je vyšší obsah imunoglobulinů, takzvaná kolostrální imunita. Dále zvýšená titrační kyselost 11 – 16 SH (Soxhlet – Henkel) a u čerstvého mléka 6,2 – 8,0 SH, zvýšená enzymatická aktivace katalázy, lipázy a amylázy, ve srovnání s mlékem snížený obsah alkalické fosfatázy. Vyšší obsah vitaminů, které jsou rozpustné v tucích, 2x více vitaminů B₁ a 4x více vitaminů B₂.

Miciński J. uvádí, že obsah sušiny, tuků a bílkovin se snížil po otelení. Dalším rozlišovacím faktorem těchto složek mléka je věk, který ale nemá vliv na změnu obsahu

laktózy. Bylo prokázáno, že obsah minerálních látek se v průběhu mlezivového období mění. Nejvyšší obsah Ca, Mg a Zn byl zjištěn v první hodině po porodu, poté se obsah snižoval. K významným změnám v obsahu prvků došlo v závislosti na věku krav. Mlezivo s nejvyšším obsahem Ca bylo zjištěno u starších krav, nicméně nejvyšší obsah K, Mg a Na, byl zaznamenán v mlezivu prvorodiček v prvních hodinách po porodu. Dalším faktorem na obsah minerálních látek v mlezivu je roční období. Výrazně vyšší obsah K, Mg, Na a Zn se objevil v mlezivu v první hodině po otelení krav v zimním období ve srovnání s letním obdobím.

Pokud zahřejeme mlezivo, dojde ke koagulaci bílkovin kolostra. Kolostrum je často využíváno k výrobě výživových doplňků, léků a náhražek mléčné výživy pro mláďata hospodářských zvířat a také pro lidi (Procházková a kol., 2011).

3.2.2 Zralé mléko

Období produkce zralého mléka následuje po produkci mleziva. Dle obsahu bílkovin lze zralá mléka rozdělit na albuminová a kaseinová mléka. Mléka albuminová mají obsah kaseinu menší než 75 % z celkového obsahu bílkovin a zahrnujeme mezi tyto mléka především mléko lidské, dále mléko kobyly, psí a oslí. Kaseinová mléka obsahují více než 75 % kaseinu z celkového obsahu bílkovin. Mezi tyto mléka patří mléko kravské, ovčí, kozí a další (Gajdůšek, 2003).

Tabulka 9: Základní složky u mleziva a mléka zralého (Březina, 1990).

	Mlezivo [hm. %]	Mléko zralé [hm. %]
Tuk	5,20	3,60
Bílkoviny	10,70	3,13
- Kasein	4,60	2,46
- Syrovátkové bílkoviny	6,00	0,67
Laktóza	2,90	4,90
Popeloviny	1,07	0,73
Sušina	20,40	12,30

3.2.3 Starodojné mléko

Starodojné mléko je mléko od vysokobřezích dojníc, mléko od březích krav 60 – 90 dní před porodem. Složení a technologické vlastnosti mléka se mění před zaprahnutím. Mění se obsah bílkovin, zvyšuje se obsah syrovátkových bílkovin a klesá obsah kaseinu. Koncentrace iontů Na⁺ a Cl⁻ se zvyšuje. Dochází ke snížení laktózy, zvýšení obsahu somatických buněk a aktivity enzymů (Navrátilová, 2012).

3.3 Vlastnosti mléka

3.3.1 Základní fyzikální a chemické vlastnosti

Mléko je polydisperzní systém a jeho fyzikálně – chemické vlastnosti závisí na vnějších faktorech, jako je teplota a ošetření mléka po nadojení a dále na vnitřních faktorech, kde hraje roli zastoupení složek, jejich struktura a vzájemné působení. V tabulce 10 jsou uvedeny vybrané fyzikální a fyzikálně – chemické vlastnosti.

Kyselost mléka rozlišujeme aktivní a titrační. Měření pH jako ukazatel jakosti u čerstvého mléka nemá příliš velký význam, ale je nápomocné při zjišťování mastitid. Stanovení pH je nepostradatelné při výrobě fermentovaných výrobků a v sýrařství. U čerstvého mléka má význam stanovení titrační kyselosti, protože měřením pH se nedají stanovit malé změny aktivní kyselosti, které jsou způsobeny fermentací laktózy. Aktivní kyselost se pohybuje v rozmezí pH 6,5 – 6,7, při teplotě 25 °C. Hodnota pH vzrůstá se zvyšující se teplotou. V průběhu laktace a při nežádoucích procesech v mléčné žláze, hlavně při mastitidě se mění hodnota aktivní kyselosti. Titrační kyselost mléka je pufrací kapacita mezi vlastním pH (6,6) a pH (8,3) tedy bodem ekvivalence fenolftaleinu a stanovuje se metodou podle Soxhlet – Henkela. Je dána objemem ml roztoku hydroxidu sodného o koncentraci 0,25 mol.l⁻¹, který je spotřebován při titraci 100 ml mléka při přidání indikátoru fenolftaleinu. Používá se při kontrole čerstvosti mléka (Fox, 1998).

Tabulka 10: Fyzikálně – chemické vlastnosti mléka (Bhandari a Singh, 2003).

Fyzikálně – chemická vlastnost	Jednotky	Průměrná hodnota
osmotický tlak	kPa	700
a _w	-	0,993
titrační kyselost	ml 0,25 mol.l ⁻¹ NaOH	6,8
	% kyseliny mléčné	0,14 - 0,16
pH	(při 25 °C)	6,6
oxidačně-redukční potenciál	V (25 °C, pH 6,6)	+ 0,25 až + 0,35
bod varu	°C	100,15
bod mrznutí	°C	- 0,522
měrná hmotnost	km.m ⁻³ (20 °C)	1030
elektrická vodivost	Ω.cm ⁻¹	0,005
	S.m ⁻¹	0,455

3.3.2 Technologické vlastnosti mléka

Mezi technologické vlastnosti mléka patří srážení mléka, dochází k přechodu z koloidního roztoku do sraženiny. Největší roli v procesu srážení hrají bílkoviny, a to hlavně kasein a jeho hydratace. Nejdůležitějším způsobem srážení mléka je kyselinou, tedy kyselé srážení, a syřidlem. Pokud okyselíme mléko a máme určitou hodnotu pH, dochází ke vzniku sraženiny, důležitým faktem tohoto jevu je, že bílkoviny a aminokyseliny mají dipolární charakter, tedy obsahují dvě skupiny, kyselou (karboxylovou) a zásaditou (aminoskupinu). Můžeme tedy říct, že bílkoviny se chovají jako zásady nebo jako kyseliny podle pH prostředí.

Při izoelektrickém bodě je náboj bílkovin roven nule, tedy počet kationtů a aniontů je vyrovnaný. Frakce kaseinu mají jinou hodnotu izoelektrického bodu, pH je v rozmezí od 4,6 do 4,9. Pokud dojde k izoelektrickému bodu, není kasein téměř rozpustný a schopný přijmout vodu, jedná se o izoelektrický kasein.

Kyselé srážení je děj, kdy působením kyseliny vznikne sraženina a dojde k odštěpení vápníku z kaseinátu vápenatého a tudíž k vyloučení kyselého kaseinu. Okyselením mléka na pH 4,6 dochází k přeměně vápníku, který byl vázaný na kasein a vzniká mléčnan vápenatý a izoelektrický kasein. Tedy při vyšší kyselosti, než je izoelektrický bod, kdy je pH nižší než 4,6 má kasein vlastnosti kationtu a sám jako zásada má tendenci se slučovat s kyselinami. Nejčastěji k jeho vysrážení využíváme kyselinu mléčnou, která je produktem bakterií mléčného kvašení. Při mírně kyselém pH, které je v čerstvém mléce, má kasein vlastnosti aniontu, tedy převažují zde kyselé skupiny a dochází k reakci se zásadami (Fox, 1998).

Kysací schopnost mléka je ovlivněna řadou faktorů, jako například výživou dojníc, metabolickými poruchami, kdy dochází ke změně ve složení a vlastnostech mléka, zvýšeným obsahem dusitanů a dusičnanů, přirozenými inhibičními látkami, vyskytují-li se ve vysokých koncentracích, přítomností reziduí dezinfekčních a inhibičních látek, zvýšeným počtem somatických buněk, vysokou kontaminací mikroorganismy a v neposlední řadě tím, jak bylo mléko ošetřeno po nadojení.

Další technologickou vlastností mléka je srážení pomocí syřidla, jehož nejdůležitější složkou je enzym, díky němuž dochází ke vzniku sraženiny, která vypadá stejně jako při srážení kyselinou, ale nedochází ke změně kyselosti mléka. Dříve se jako hlavní substrát pro syření mléka používal chymozin, nyní se používá κ -kasein. Při procesu srážení dochází k rozrušení obranného koloidu kaseinových micel, hovoříme o enzymové fázi, a dále o fázi koagulační, kde dochází k vytvoření sraženiny pomocí vápenatých iontů (Fox, 1998).

Syžitelnost mléka je také ovlivněna několika faktory, a to metabolickými poruchami, porušením mléka vodou, přidavkem mastitidního mléka, změnou celkového obsahu bílkovin či zvýšeným počtem somatických buněk v mléce.

3.4 Mateřské mléko ve výživě člověka

Vyrovnaná strava v 1. roce života dítěte výrazně ovlivní nejen aktuální zdraví dítěte, ale i jeho tělesný a duševní vývin, stejně tak i závažné choroby v dospělosti. Nedostatečná a nevyvážená výživa není u novorozenců dostatečně kompenzována, protože novorozenci mají malé zásoby živin a nezralé metabolické pochody. Mateřské mléko se doporučuje jako výhradní zdroj živin na dlouhodobou výživu v prvních 6 měsících života a tato výživa by měla pokračovat s přidavkem pevné stravy i po 6 měsících života (Vincentová, 2006).

Mateřské mléko je homogenní směs, která splňuje výživové, metabolické i trávicí potřeby novorozence, kromě toho poskytuje hormony, esenciální aminokyseliny a imunologické faktory, a proto je nejlepší volbou výživy pro novorozence. Zabezpečuje správnou adaptaci na mimoděložní život, poskytuje ochranu před infekcemi, zabezpečuje dozrávání struktur a funkci jednotlivých orgánů. Složení mateřského mléka je ovlivněno vícero faktory, prostředím, složením a kvalitou matčiny stravy a druhovou různorodostí.

Tabulka 11: Složení mléka u člověka a u jednotlivých druhů savců (Webb B.H., 1974).

Druh	Zdvojnásobení hmotnosti [dny]	Obsah [g / 100 ml mléka]			
		Bílkoviny	Laktóza	Tuky	Minerály
Člověk	180	1	7	4	0,2
Kůň	60	2,5	6,2	1,9	0,5
Kráva	47	3,3	4,7	3,7	0,7
Jelen	30	11,5	2,8	16,9	-
Koza	19	3,5	4,1	4,4	0,7
Ovce	10	6	5,4	7	0,9

Mateřské mléko obsahuje velkou řadu nutričních složek, bílkoviny, aminokyseliny, tuky, cukry, energii, minerální látky a vitaminy.

Obsah bílkovin je nejvyšší při narození, 2,4 – 2,7 g/100 ml. Jejich koncentrace klesá v průběhu následujících dvou až čtyř týdnů na konstantní hodnotu asi 0,9 – 1,3 g/100 ml. Mléko matek nedonošených novorozenců obsahuje vyšší koncentraci bílkovin oproti matkám donošených dětí až do 3. měsíce života. Obsah těchto bílkovin poskytuje 7 – 10 % kalorické

potřeby donošených dětí a zajišťuje adekvátní stav bílkovin v průběhu prvního roku (Bánovčin, 2016). V mateřském mléku existují dvě frakce bílkovin, syrovátka a kasein, jejich poměr je 60:40. Hlavní syrovátkovou bílkovinou je laktalbumin (Dort, 2013). V kravském mléku je hlavní syrovátkovou bílkovinou laktoglobulin, který může přispívat k alergii na mléčné bílkoviny. Laktoglobulin se v mateřském mléce vůbec nenachází, až při vysoké konzumaci mléčných výrobků matky se může v jejím mléce objevit. Laktoferin, lysozym a sekreční imunoglobulin A jsou specifické syrovátkové bílkoviny v mateřském mléce, které zlepšují obranyschopnost hostitele. Převaha 2x více laktalbuminu zabezpečuje esenciální aminokyseliny (Burks, 2001).

Aminokyseliny jsou stavebním kamenem bílkovin a jsou důležité pro růst a vývin kojenců, podílejí se také na dalších funkcích, jako je ulehčení trávení tím, že zvyšují příjem jiných živin a zvyšují také imunitu novorozence proti patogenním bakteriím, virům a kvasinkám. Mateřské mléko má vysoký obsah taurinu a cysteinu. Taurin je nejdůležitější esenciální aminokyselinou a v kravském mléce se nevyskytuje, v případě nedostatku vede k poruše sítnice oka, funkce mozku a vstřebávání tuků. Obsah tyrozinu a fenylalaninu je 3 x nižší než v kravském mléce, stejně jako obsah glutaminu (Bánovčin, 2016).

Tuky představují přibližně 50 % kalorií v mateřském mléce a jsou hlavním zdrojem energie (Hrstková, 2003). Mateřské mléko obsahuje 42 % nasycených a 58 % nenasycených kyselin. Je jedinečné svým obsahem esenciálních mastných kyselin, jako je kyselina linolová a linolenová. Mastné kyseliny určují i chuť mléka. Kyselina arachidonová (AHA) a dokosaheptaenová kyselina (DHA) jsou důležité konstrukční prvky, zejména v mozku a v sítnici oka. Polynenasycené mastné kyseliny ovlivňují průběh imunitních a zánětlivých reakcí, zrání enterocytů, jsou stavební látkou myelinu, centrálního nervového systému (CNS) a sítnice oka. Cholesterol je další složka mateřského mléka, která je důležitá pro vývoj mozku. Až 90 % tuků je tvořených kapičkami triglyceridů (TAG). Vysoká koncentrace cholesterolu je důležitá nejen pro růst a vývin organismu, ale je také prekurzorem hormonů a vitamínu D, dokonce v dospělosti chrání jedince před hypercholesterolemií. Lipáza v mateřském mléce umožňuje lepší vstřebávání tuků ve srovnání s kravským mlékem. Obsah mléčného tuku stoupá po celou dobu laktace, mění se dokonce v průběhu jednoho dne, zvyšuje se v průběhu kojení a liší se od matky k matce a se stupněm vyprazdňování prsu. Navzdory variabilitě mezi ženami obsah lipidů v mateřském mléce je adekvátní nutričním potřebám dítěte v průběhu celé laktace.

Největší podíl cukrů v mateřském mléce tvoří laktóza (7 g/100 ml), ale obsahuje i galaktózu a oligosacharidy. Laktóza snižuje pH stolice, přispívá k růstu nepatogenní fekální

bakteriální flóry (bifidobakterií, laktobacilů), omezuje růst patogenní flóry (*Escherichia coli*), podporuje střevní mikroflóru produkující vitaminy B, mění konzistenci stolice na měkčí a usnadňuje vstřebávání minerálních látek. Galaktóza je potřebná na růst mozku a resorpci vápníku. Oligosacharidy jsou důležité při obranyschopnosti kojenců, protože jejich specifická vazba napatogenní bakteriální struktury ovlivňuje jejich adhezi na střevní epitel. Mají prebiotický efekt. Jsou odolné proti zaživacím pochodům v tenkém střevě, ale velmi důležité na přežití, růst a aktivitu prospěšných probiotických bakterií, chránících dítě před patologickými bakteriemi v gastrointestinálním traktu. Zralé mateřské mléko obsahuje 10x více oligosacharidů než kravské mléko, obsah v kolostru je dokonce 2x vyšší než ve zralém mateřském mléce (Bánovčin, 2016).

Průměrný kalorický obsah mateřského mléka je 67 kcal/100 ml. Kalorický obsah se mění s každým krmením a dnem na základě měnícího se obsahu tuku v mléce (Frühauf, 2013).

Koncentrace minerálů v mateřském mléce je 4x nižší než v kravském, a tak jsou ledviny novorozence méně zatěžovány. Železo je nezbytné pro tvorbu hemoglobinu. Železo v mateřském mléce je přítomno v malém množství, ale jeho absorpce je velmi vysoká (50 – 70 %) ve srovnání s kravským mlékem. Biologická dostupnost železa se zvyšuje s přítomností laktoferinu, zinku a mědi. Sodík, draslík, vápník a hořčík jsou hlavní kationty v mateřském mléce. Obsah sodíku a draslíku v mateřském mléce je regulován hormony - kortikosteroidy. Zinek v mateřském mléce je nezbytný pro produkci a aktivaci enzymů. Měď, selen, chrom, mangan, molybden a nikl jsou přítomny v mateřském mléce v optimálním množství (Muntau, 2014).

Vitaminy v mateřském mléce většinou kryjí potřeby zralého novorozence, některé však mohou kolísat podle způsobu výživy matky. Protože obsah tuku je variabilní, může kolísat i obsah vitaminů rozpustných v tucích (A, D, E, K). Množství vitaminu A je v kolostru 2x vyšší než ve zralém mléce. Množství vitaminu E je optimální v mléce žen, které mají ve stravě dostatek nenasycených mastných kyselin. Polynenasycené mastné kyseliny se vyskytují zejména v rybách, rostlinných olejích a tucích z nich vyrobených, v ořechách a semenech (Bánovčin, 2016). Obsah vitaminu D je nedostatečný. Vitamin D by měl být dodáván doplňky. Nedostatek vitaminu K je u novorozenců běžný. Z tohoto důvodu se novorozencům krátce po narození podává vitamin K na prevenci krvácivé choroby novorozence (Muntau, 2014).

Mateřské mléko také obsahuje důležité nevyživné složky, které chrání proti infekci a zánětu a přispívají k zrání imunity, vývoji orgánů a zdravé mikrobiální kolonizaci, jako jsou

například antimikrobiální faktory, trávicí enzymy, hormony a růstové faktory, které jsou důležité pro pasivní ochranu proti infekcím a imunitně zprostředkovaným onemocněním, a modulují imunologický vývoj. Obranné látky tvoří téměř čtvrtinu bílkovin mateřského mléka. Sekreční IgA je nejvíce zastoupeným imunoglobulinem v mateřském mléce. Z dalších látek jsou to bioaktivní cytokiny včetně transformujícího růstového faktoru - b,1 a 2 a interleukinu-10 a také leukocyty, oligosacharidy, lysozym, laktoferin, interferon-gama, epidermální růstový faktor (Bánovčín, 2016).

Mateřské mléko svým ideálním složením zabezpečuje v plné míře výživu novorozence i kojence. Podporuje pasivní i aktivní obranyschopnost dítěte. Obsahuje faktory buněčné imunity, imunomodulační cytokiny a růstové faktory hemopoetických buněk (Böttcher, 2000).

Laktoferin je hlavní bílkovinou mateřského mléka s obrannými účinky (zabíjení bakterií, virů, plísní, nádorových buněk) a imunomodulačními účinky. Oligosacharidy a laktadherin slouží jako receptory pro bakterie a rotavirusy. Dlouhodobé kojení zvyšuje protilátkovou odpověď na některé vakcíny včetně tvorby imunoglobulinových protilátek. Výživa mateřským mlékem je hypoalergenní (Burks, 2001).

Podávání probiotických kultur matkám před porodem a kojencům do 6 měsíce života (přímo anebo prostřednictvím mateřského mléka) pomáhá kolonizovat střevní sliznici bakteriemi, které stimulují imunitní mechanismy navozením orální tolerance na potravinové antigeny (Isolauri, 2001).

3.5 Mléko jiných savců využívané ve výživě člověka

Výživové a technologické vlastnosti mlék se značně liší u různých savců a jsou dány různým složením.

3.5.1 Ovčí

Ovčí mléko je tekutina, která má bílou až nažloutlou barvu a vyznačuje se specifickou vůní, ovlivněnou zvýšeným obsahem mastných kyselin, kaprinové a kaprylové. V mléce se voda může vyskytovat v podobě volné, vázané na koloidy, nebo chemicky vázaná. V ovčím mléku je 81 % vody (Prokš, 1969). V porovnání s mlékem kravským má ovčí mléko vyšší obsah tuků a bílkovin, a tím pádem vyšší obsah sušiny. Obsahuje 7 % tuku, tedy dvakrát více než mléko kravské (Schoenian, 2015). V porovnání s mlékem kravským je u ovčího mléka vyšší obsah bílkovin a obsah všech esenciálních aminokyselin. U ovčího mléka je

známo pět variant (A, B, C, D, E) α_{S1} -kaseinu. Prekurzor ovčího α_{S2} - kaseinu je složen z 223 aminokyselin. β - kasein tvoří 45 % kaseinu v ovčím mléce. Ovčí χ - kasein je složen ze 171 aminokyselin (Sambraus, 2006). Bruhn (1996) měřením zjistil rozdíl cysteinu o 54 %, u prolinu o 45 % a u ostatních esenciálních aminokyselin o 30 %. Obsahuje široké spektrum mastných kyselin (vysoký podíl esenciálních mastných kyselin, především n-3, mastných kyselin se středním a krátkým řetězcem a konjugovanou kyselinou linolovou). Kyselina linolová, která je hojně zastoupena v ovčím mléce, působí proti diabetu a rakovině. Dále se v souvislosti s touto kyselinou zkoumá její vliv na látkovou přeměnu tuků, vytváření kostí, ukládání tuku v těle a také na imunitní systém. Charakteristické pro ovčí mléko jsou také mastné kyseliny se středním řetězcem, které jsou snadno stravitelné, a proto jsou uplatňovány v léčbě trávicího traktu. Vytváření eikosanoidů řady n-3 je projevem zvýšeného podílu n-3 kyselin, jež má za následek antitrombotické a protizánětlivé účinky. Z minerálních látek je v ovčím mléce vysoce obsažen vápník, jod a zinek. Vápníku je oproti kravskému mléku obsaženo o 70 % více, což způsobuje lepší hustotu kostí a působí proti osteoporóze. Ovčí mléko má také vyšší obsah vitamínu B₂, B₆, B₁₂ a kyseliny pantotenové, ale také enzymů, hlavně amylázy, oproti mléku kravskému. Hlavní sacharid, který je přístupný v mléce, je laktóza, která je v ovčím mléce 4,8 g ve 100 g mléka, tedy mírně vyšší než je u mléka kravského (Bruhn, 1996).

Z těchto údajů o složení mléka lze říci, že technologické vlastnosti i nutriční hodnota je lepší u ovčího mléka v porovnání s kravským. Bílkoviny jsou obsaženy více v ovčím mléce, ale jsou velmi podobné bílkovinám v kravském mléce, tudíž mohou také způsobovat alergickou reakci u osob, které touto alergií trpí. Proto u nich nemůžeme kravské mléko nahradit ovčím či kozím. V České republice se nesmí syrové ovčí mléko prodávat (Bezpečnost potravin, 2012).

Z ovčího mléka můžeme vyrábět nejen ovčí sýry, ale také žinčicu, jogurt, kefir a máslo. Žinčica je syrovátka, která vzniká při výrobě sýrů a dále je ošetřena na teplotu 90 °C, po přidání smetanového zákysu má smetanovou chuť. Obsahuje množství vysrážených albuminů, globulinů a lipidů. Po přidání bakterií, které jsou vhodné pro přípravu jogurtů, vzniká koagulací ovčího mléka jogurt. Dalším produktem je kefir, fermentovaný mléčný výrobek, obsahující laktobacily, laktokoky a kvasinky. V průběhu rozkladu cukrů dochází k okyselení mléka a produkci etanolu a CO₂.

Sýry jsou nejvíce rozšířeným ovčím výrobkem. Sýr, který vznikne smícháním ovčího a kravského mléka se nazývá hrudkový sýr míchaný a musí obsahovat min. 47 % tuku v sušině. Z něho je dále vyráběna bryndza prosolováním a následným mletím a přidáním

vody. Bryndza musí obsahovat minimálně 60 % tuku v sušině a 50 % sušiny. Z hrudkového sýra je také vyráběn oštiepok. Po vysrážení syrovátkových bílkovin vzniká produkt nasládlé chuti, urda (Zootechnika, 2009). Posledním produktem je ovčí máslo, které se vyrábí velmi okrajově. Je světlejší než kravské máslo.

3.5.2 Kozí

Obsah bílkovin a aminokyselin se v kozím mléce podobá obsahu v mléce kravském. Příliš odlišný není ani obsah kaseinu, liší se v zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí (Dostálová, 2006). Známe tři až čtyři formy kozího α_1 kaseinu s 8 - 10 fosfátovými skupinami (Sambrus, 2006). Kozí mléko má nižší tepelnou stabilitu, jiný charakter sraženiny a lepší stravitelnost bílkovin, pravděpodobně díky rozdílnému složení kaseinových frakcí. Tuk je v kozím mléce dobře stravitelný díky rozptýlení v malých kapénkách. Lehce tak podléhá působení lipolytických enzymů a tím vznikají vady chuti a vůně. V tuku kozího mléka je obsažena více kyselina kaprinová, která má nepříjemnou specifickou vůni a zapříčiňuje jednu ze sensorických vad. Dále obsahuje kyselinu linolovou, která má antikarcinogenní vlastnosti. Obsah laktózy je stejný jako v mléce kravském, proto není vhodné ke konzumaci pro jedince trpící intolerancí laktózy. Kozí mléko obsahuje množství látek, které jsou rozpuštěné v iontové formě a mohou způsobovat problémy ledvin. Jinak je kozí mléko a jeho výrobky nutričně hodnotné. Vápník obsažený v kozím mléce je závislý na formě, ve které se nachází. Průměrně 68 % vápníku je v kozím mléce v koloidní formě a 11 % v iontové formě. Hodnota fosforu na 1 litr mléka je 0,95 g a z toho 0,30 g je ve formě rozpustné a 0,65 g je obsaženo ve formě anorganických solí (Fantová, 2000).

3.5.3 Srovnání kravského, kozího a ovčího mléka

Tabulka 12: Obsah různých složek mléka u ovčího kozího a kravského mléka (Haenlein, 2001).

Druh mléka	Sušina %	Tuky %	Bílkoviny %	Vápník mg	Kalorie kcal
Kravské	12,01	3,34	3,29	119	69
Kozí	12,97	4,14	3,56	134	69
Ovčí	19,3	7,0	5,98	193	108

Tabulka 13: Obsah esenciálních aminokyselin u ovčího a kozího mléka (Dostálová, 2006).

Esenciální aminokyseliny [g]	Hodnoty mléka pro 100 g jedlého podílu	
	Ovčí	Kozí
Valin	0,401	0,187
Leucin	0,570	0,331
Isoleucin	0,310	0,143
Threonin	0,249	0,195
Lysin	0,491	0,298
Methionin	0,148	0,067
Fenylalanin	0,308	0,154
Tryptofan	0,136	0,054
Histidin	0,166	0,104

Tabulka 14: Obsah minerálních látek u ovčího, kozího a kravského mléka (Dostálová, 2006).

Minerály [mg/100g]	Ovčí	Kozí	Kravské
Vápník	162 – 259	102 - 203	110
Fosfor	82 – 183	86 – 118	90
Sodík	41 – 132	35 – 65	58
Hořčík	14 – 19	13 – 19	11
Zinek	0,5 – 1,2	0,19 – 0,5	0,3
Železo	0,03 – 0,1	0,01 – 0,1	0,04

Tabulka 15: Obsah vitaminů u ovčího, kozího a kravského mléka (British Sheep Dairying Association, 1983).

Vitaminy [mg/l]	Ovčí	Kozí	Kravské
Riboflavin B ₂	4,3	1,4	2,2
Thiamin	1,2	0,5	0,5
Niacin B ₁	5,4	2,5	1,0
Kyselina pantotenová	5,3	3,6	3,4
B ₆	0,7	0,6	0,5
Kyselina listová µg/l	0,5	0,06	0,5
B ₁₂	0,009	0,007	0,03
Biotin	5,0	4,0	1,7

3.6 Význam mléka a mléčných výrobků ve výživě člověka

Význam mléka ve výživě všech skupin obyvatelstva s výjimkou alergiků a konzumentů bez nebo s nízkou produkcí laktázy spočívá v tom, že je komplexní potravinou. Je jednou ze základních potravin vzhledem k nezastupitelnému významu jeho biologické hodnoty. Mléko je svým složením označováno jako výživový prostředek s nejširším účinným spektrem. Jeho hlavní složky – bílkoviny, tuky, mléčný cukr – laktóza, přítomné esenciální látky, vitaminy a minerály tvoří komplexní vyváženou poživatinu. Mléčné bílkoviny jako stavební látky jsou potřebné pro výstavbu všech tkání v organismu. Mléčná bílkovina je složená z peptidů a množství aminokyselin, z kterých je velká část pro člověka nenahraditelná (esenciální aminokyseliny). Mléčný tuk je po chemické stránce glyceridem nasycených, ale i nenasycených mastných kyselin. Jeho význam spočívá nejen v lehčí stravitelnosti tuku s dietetickým významem, ale také v přenášení vitaminů rozpustných v tucích, a to vitaminů A a E a v letních měsících i vitaminu D. Mléčný cukr, laktóza, jako ojedinělý sacharid, který přísluší jen mléku a mléčným výrobkům, má vedle energetického významu zvláštní roli v dětství jako zdroj galaktózy a obecně pro příznivé ovlivnění složení a metabolismu střevní mikroflóry. Galaktóza ve formě glykolipidů, cerebrosidů a gangliosidů je základní součástí mozku a nervové tkáně a tím esenciální složky výživy jedince, zejména v období jeho vývoje. Z minerálních látek je nesmírně důležitý obsah vápníku a fosforu a jejich vzájemný poměr a dále také obsah hořčíku, a to jednak z hlediska optimálního vývoje kostry u dětí a dospívající mládeže, stejně tak jako účinné prevence rozšířenosti osteoporózy u dospělých a zejména osob vyššího věku (Čuboň, 2007).

3.6.1 Mléko a mléčné výrobky v prevenci osteoporózy

Osteoporóza je onemocnění kostní látkové přeměny, při kterém dochází k úbytku kostní tkáně a změně mikrostruktury kosti. Postižená kost se v případě osteoporózy stane méně odolná vůči mechanickým vlivům a klesá její pružnost a pevnost v důsledku toho se zvyšuje riziko zlomenin. Jedná se o metabolické kostní onemocnění, postihující převážně ženy po přechodu, ale také muže v pokročilém věku. Významnou funkci při vzniku osteoporózy má vápník. Kostí jsou v organismu zásobárnou vápníku i v době, kdy ho je v potravě nedostatečné množství (Čuboň, 2007).

Studie ukazují, že příjem mléčných výrobků a sýrů v těhotenství je nezbytný pro správnou stavbu kostí. Doporučenou denní dávkou vápníku od 2. trimestru je 1500 mg. Mléko a mléčné výrobky jsou využívány také proto, že obsahují vitamin D (Hlavatá, 2017).

Příjem vápníku je důležitou primární prevencí osteoporózy, hlavně v průběhu dětství a dospívání. Vápník je základní složkou kostí potřebnou k růstu a zpevnování kostí. Mléko a mléčné výrobky jsou zcela nezastupitelné z hlediska příjmu vápníku. Velké množství vápníku je obsaženo v potravinách, ale lidský organismus je schopný vstřebat jen malou část. V dětství a dospívání ho náš organismus využije přibližně padesát procent z přijatého vápníku, kdežto v dospělosti pouze dvacet procent. Nejvhodnějším zdrojem vápníku z mléčných výrobků je polotučné mléko nebo polotučný jogurt. Vápník je z mléka a mléčných výrobků vysoce využitelný. Mléko neobsahuje látky, které by vápník vážaly do nevstřebatelné formy a tím znemožňovaly jeho využití, ale naopak obsahuje aminokyseliny a také laktózu, které zvyšují využitelnost vápníku (Kopáček, 2013).

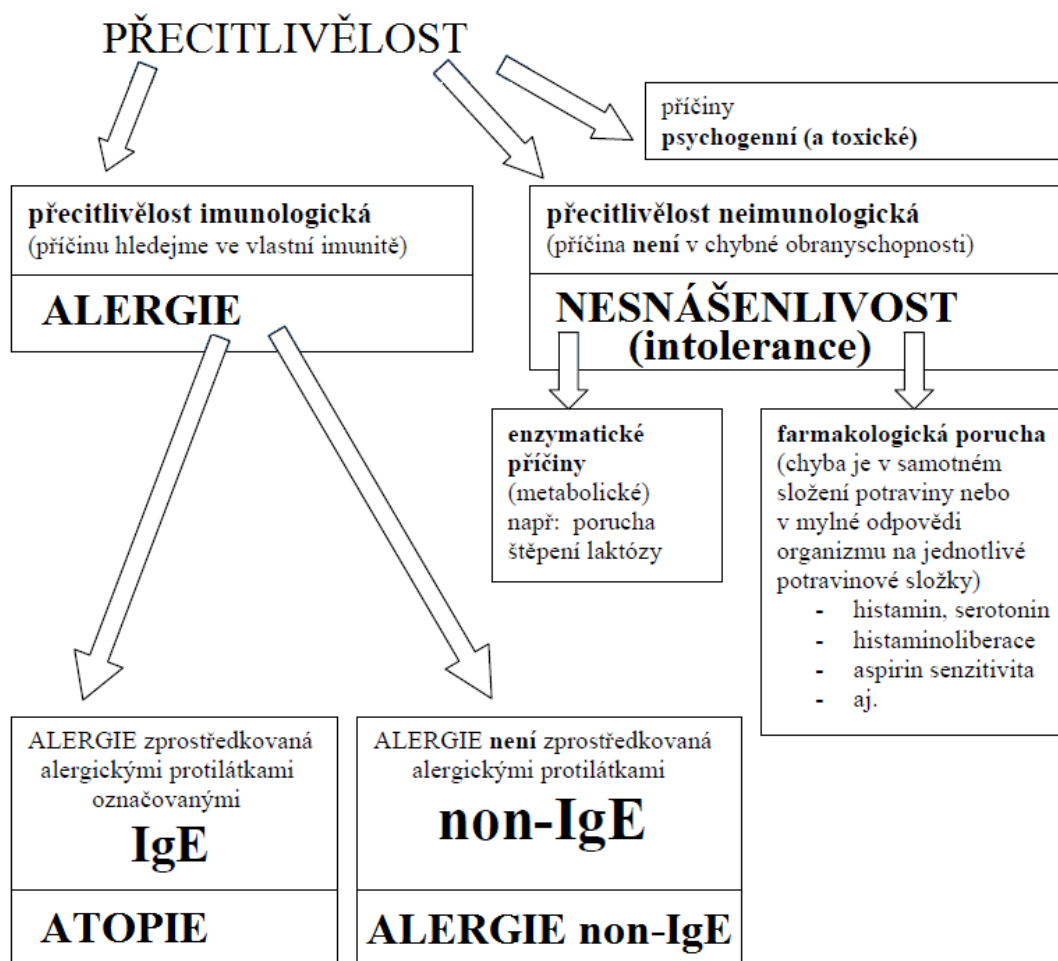
3.6.2 Mléko a mléčné výrobky v prevenci zubního kazu

Stejně jak tomu bylo u důležitosti požívání mléčných výrobků v průběhu těhotenství pro správnou tvorbu kostí, tak je tomu i u zubního kazu. Dostatečný příjem mléčných výrobků je nezbytný pro správný vývoj a mineralizaci zubů u plodu, čímž se snižuje náchylnost zubního kazu u dětí. Sýry jsou velmi prospěšnou potravinou vzhledem k vývoji zubního kazu, protože po jeho konzumaci se výrazně upravuje kyselé pH zubního povlaku (Hlavatá, 2017).

Zubní kaz vzniká demineralizací a dezintegrací zubů. Vědci zjistili, že sýr pomáhá snižovat výskyt zubního kazu a to tím, že neutralizuje kyselost zubního plaku. Fermentované mléčné výrobky vytvářejí v ústní dutině zásadité prostředí, což snižuje potřebu zubního ošetření. Sýr také vytváří ochranný film kolem zubů. Čím vyšší pH, čím více alkalické prostředí na povrchu zubů, tím více jsou zuby chráněny proti zubnímu kazu (Reilly, 2013).

3.7 Potravinová přecitlivělost na mléko

Intolerance laktózy stejně jako alergie na mléčnou bílkovinu patří do skupiny nežádoucích potravinových reakcí. Nežádoucí potravinové reakce mohou být toxické i netoxické. Toxické reakce vyvolávají toxiny bakterií (stafylokokový, salmonelový enterotoxin), vysoký obsah biogenních aminů nebo otrava těžkými kovy (rtuť, olovo). Netoxické reakce způsobují imunitní a neimunitní mechanismy. Příkladem imunitní reakce na mléko je právě alergie. Naopak, intolerance laktózy je enzymatická porucha, která vzniká následkem imunologických reakcí. V obou případech je potřebná eliminační dieta. U intolerance laktózy je povolena konzumace mléka a mléčných výrobků se sníženým obsahem laktózy podle individuální tolerance, naopak u alergie na bílkovinu kravského mléka je konzumace jakýchkoliv výrobků obsahujících mléčnou bílkovinu zakázaná (Čierna, 2007).



Obrázek 5: Potravinová přecitlivělost (Fuchs, 2016).

3.7.1 Alergie na mléčnou bílkovinu

K nejvíce rozšířeným potravinovým alergenům patří právě kravské mléko. Nejvíce postiženi touto alergií jsou atopické děti v nejranějším věku (Ettlerová, 2009). Alergie na kravské mléko je imunitní reakce na bílkoviny kravského mléka. Bílkoviny obsažené v kravském mléce, které obvykle vyvolávají reakci, jsou: α -laktalbumin, β -laktoglobulin, a kasein (Solinas a kol., 2010). Právě tyto bílkoviny syrovátky, jako α -laktalbumin, β -laktoglobulin, jsou syntetizovány přímo v mléčné žláze, ostatní pocházejí z kravské krve (laktoferin, imunoglobulin, sérový albumin) (Ettlerová, 2009). Mléko obsahuje nejen kasein, ale i syrovátkové frakce, přičemž každý z nich má pět bílkovinných složek. Pacienti mohou být citlivější na jednu nebo více složek. Tyto bílkoviny v kravském mléce mohou zahájit kaskádu reakcí, které ovlivňují řadu různých typů buněk v imunitním systému. Alergie zahrnuje antigen specifických T-lymfocytů, regulační T buňky, cytokiny z různých

T-buněk, B-lymfocyty a mastocyty (Coco a kol., 2012). Mléčná alergie může být klasifikována v závislosti na základním mechanismu, který má vliv na diagnózu, léčbu a prognózu (Ludman, 2013). Ettlerová uvádí, alergie se projevuje pestrými klinickými příznaky, kde se uplatňují reakce, které jsou zprostředkované IgE protilátkami a reakce non-IgE. Diagnóza této alergie se opírá o anamnézu, klinický obraz, kožní testy a sérové specifické IgE. Ne vždy jsou tyto výsledky v korelaci se skutečnou klinickou reaktivitou, proto se diagnóza potvrzuje orálním testem. Pokud chceme nastavit správnou eliminační dietu, musíme znát alergenicitu kojeneckých mléčných přípravků, změny alergenicity vlivem zpracování a také zkřížené reakce mezi mléky různých živočišných druhů (Ettlerová, 2009).

Alergie zprostředkovaná imunoglobulinem E je klasickou alergickou reakcí a přináší okamžité klinické reakce (typ 1), přecitlivělost nastává rychle po expozici, obvykle během 20 minut. Jednou z hlavních příčin symptomů je uvolňování histaminu. Non-IgE způsobuje alergii, která je zpožděnou reakcí (typ 2) a zdá se být stejně častá jako první reakce, ale není tak dobře popsána jako alergie zprostředkovaná IgE. U kojenců se může projevit v rámci dnů nebo týdnů po počáteční expozici. Alergie způsobená non-imunoglobulinem E může často způsobit těžkou formu alergické reakce s akutními gastrointestinálními symptomy (Ludman, 2013).

Alergie na bílkovinu kravského mléka zprostředkovaná IgE se skládá ze senzibilizační fáze a aktivační fáze. V senzibilizaci, jsou IgE protilátky vylučovány a váží se na povrchu žírných buněk a bazofilů a čekají na další expozici, kde dochází ke spuštění aktivační fáze. IgE protilátky, které již byly připojeny na žírné buňky a bazofily, se váží na alergenní α -laktalbumin, β -laktoglobulin, a kasein (Coco a kol., 2012).

Pochopení mechanismů, týkajících se alergií na bílkovinu kravského mléka zprostředkovaných non-IgE, má celou řadu teorií. Jedna teorie zahrnuje vazbu antigenu kravského mléka na povrch buňky, což vyvolává rozdílné imunoglobulinové protilátky (IgG, IgM, IgA) a to může narušovat buněčnou membránu a způsobit smrt buňky. Další teorie zahrnuje všechny již zmíněné protilátky, které se dostávají do pasti v malých krevních cévách, zatímco další teorie říká, že reakce může být zprostředkována T-lymfocyty (Solinas a kol, 2010). Existují ještě další obecné myšlenky, kde je reakce usnadněna pomocí T-buněk a interakce mezi nimi, žírnými buňkami a neurony. Různé druhy T-buněk a jejich role v alergii, je v současné době studována (Vicente, 2015).

U dětí do 3 let alergie zprostředkované IgE protilátkami se vyskytují ze 60 % a alergie zprostředkované non-IgE tvoří 40 % všech alergií na bílkovinu kravského mléka. U dospělých není alergie na kravské mléko tak dobře popsána jako u dětí, ale větší význam je přikládán

potravinovým alergenům zkříženým s pylem, než alergenům kravského mléka. Klinické projevy u této alergie bývají pestré, jedná se o postižení kožního, dýchacího, trávicího a oběhového systému. Nejčastějším projevem u malých dětí je atopický ekzém, za kterým stojí u jedné třetiny dětí právě alergie na kravské mléko. Pokud eliminujeme kravské mléko, dochází k zlepšení ekzému, mnohdy i k úplnému vymizení. Pokud však není alergie včas poznána, připojují se také respirační projevy astmatu. Dalším nejčastějším projevem této alergie v dětství jsou chronické záněty trávicího traktu. Těžké alergické reakce mohou způsobit i ohrožení na životě, ke kterému může dojít v důsledku selhání krevního oběhu jako následek kolapsu cév, dehydratace při těžkém průjmu a dalších příčin.

I nepatrné množství (v miligramech) kravského mléka je při přecitlivělosti zprostředkované IgE protilátkami pro jedince rizikové. U méně než 0,1 ml kravského mléka byla zaznamenána reakce. Malé množství mléka je tolerováno u reakcí zprostředkovaných non-IgE a potíže se objevují po opakovaném požití (Ettlerová, 2009).

Alergie mohou být zkřížené, proto nelze kravské mléko nahradit mlékem jiných živočišných druhů. Velká zkřížená alergie je s mlékem kozím a ovčím. Jediným řešením jak předejít alergické reakci, je vyloučení potravin s přítomností bílkoviny kravského mléka z jídelníčku (Vicente, 2015). Většina alergiků tedy musí vyloučit nejen mléko ale také všechny mléčné výrobky, sýry, máslo, jogurty, tvarohy, pudinky, zmrzliny a další. Ve skryté podobě se může kravské mléko nacházet i v jiných výrobcích, proto musí být potraviny řádně označeny bez ohledu na množství, které je ve výrobku obsažené. Projevy alergie u kojenců se řeší vyloučením antigenů ze stravy matky. U dětí na umělé výživě se v léčbě používají preparáty s vysokým stupněm hydrolýzy, Nutrilon (Čierna, 2007). U dětí, které netolerují výživu na bázi hydrolýzy, používáme přípravek aminokyselinový, jediným na trhu je Neocate. U starších dětí můžeme zařadit do jídelníčku sóju jako náhradu za kravské mléko. Avšak až 10 % jedinců s alergií na kravské mléko zprostředkovanou IgE a 60 % non-IgE, trpí alergií také na sóju (Solinas a kol., 2010). Kravské mléko je hlavním zdrojem vápníku v kojenecké výživě, proto pokud ho vyloučíme, může ho být nedostatek, a proto by se měl vápník dodávat suplementy. Laktózová intolerance neboli nesnášenlivost mléčného cukru, může být mylně zaměňována s alergií zprostředkovanou non-IgE (Luyt, 2014).

3.7.2 Intolerance laktózy

Intolerance laktózy neboli nesnášenlivost mléčného cukru - laktózy, je po celém světě rozšířena. V mateřském mléce je obsah laktózy 7,2 g/100 ml a v mléce kravském 4,7 g/100 ml. Častými příznaky intolerance jsou bolesti břicha, nadýmání, průjem a plynatost. K diagnostikování se používají dechové testy. (Solomons, 2002).

Laktóza je disacharid složený z galaktózy vázané na glukózu a má klíčový význam v životě zvířat jako hlavní zdroj kalorií z mléka všech savců, kromě lachtanů. Absorpce laktózy ve střevech vyžaduje hydrolýzu na jednotlivé monosacharidy pomocí enzymu laktáza, která se nachází ve sliznici tenkého střeva v klkách (Deng, 2015). Laktóza je v dětství vynikajícím zdrojem energie během rychlého růstu a vývoje (Fojík, 2013). Laktáza je enzym beta-galaktosidáza odpovědný za hydrolýzu laktózy na glukózu a galaktózu. Tyto monosacharidy jsou do krevního oběhu volně absorbovány střevními erytrocyty. Zdrojem energie je glukóza a galaktóza, která se stává součástí glykoproteinů a glykolipidů. Laktáza má dvě aktivní místa, v prvním je hydrolyzována laktóza a v druhém phlorizin a glykolipidy (Campbell, 2005). Aktivita laktáza-phlorizin hydrolázy v kartáčovém epitelu enterocytů v tenkém střevě hydrolyzuje laktózu a umožňuje rychlé vstřebání vzniklých monosacharidů do krevního oběhu (Fojík, 2013). Od 8. týdne těhotenství může být aktivita laktázy zjištěna na povrchu sliznice v lidském střevě. Aktivita se zvyšuje do 34. týdne a laktáza se projevuje nejvíce od narození. Schopnost trávit laktózu v období kojení je nezbytná pro zdraví kojence, bylo prokázáno, že vrozený nedostatek laktázy je pro kojence smrtelný, pokud se nerozpozná velmi brzy po narození. Po několika prvních měsících života začne aktivita laktázy klesat.

Nedostatek laktázy neboli hypolaktázemie se vyskytuje ve třech formách – primární, vrozená a sekundární. Dvě třetiny světové populace trpí genetickým snížením syntézy laktázy od druhého roku dítěte (primárním nedostatkem laktázy) (Deng, 2015). Tento proces je geneticky naprogramovaný a dochází ke snížení množství laktázy až o 90 %. V dětství se tento druh laktózové intolerance nemusí projevit, první příznaky mohou nastat až v dospělosti a kvůli tomu nemusí být diagnóza rozpoznána, protože má rozdílné příznaky. Laktózová intolerance se ve světě vyskytuje různě, ale základem všech je přítomnost variantního genu. Tento gen způsobuje, že dochází v tenkém střevě ke snížení produkce laktázy. Byl zjištěn nejdříve u finské populace, ale dále i u osob v Německu, USA a Francii, proto vznikla hypotéza, že tento variantní gen je původní formou genu. U osob tolerantních na laktózu se vyskytuje genová mutace.

Jedinci, kteří mají gastrointestinální infekce, zánětlivé onemocnění střev a další zdravotní problémy, mohou mít sníženou aktivitu laktázy (sekundární nedostatek laktázy). Tato sekundární laktózová intolerance se může projevit kdykoli během života, a to v důsledku poškození epitelu tenkého střeva, například po požití léků, Crohnově nemoci, ozařování, infekci, parazitárních onemocněních či po chirurgickém zákroku zažívacího traktu.

Oba tyto problémy jsou odlišeny od vrozeného nedostatku laktázy, což je extrémně vzácné onemocnění v kojeneckém věku a bylo hlášeno okolo 40 případů, zejména ve Finsku (Deng, 2015).

Cokoliv, co působí nedostatek laktázy, má za následek nedostatek nevstřebání laktózy v zažívacím traktu, které vede k projevům laktózové intolerance u citlivých jedinců. Zprvė snížený osmotický tlak zvyšuje množství vody. Za druhé laktóza je částečně fermentovaná střevní mikroflórou, což vede ke vzniku mastných kyselin s krátkým uhlíkovým řetězcem a plynů (především vodík H_2 , oxid uhličitý CO_2 a methan CH_4). Tyto biologické procesy se vyskytují také u dalších zpětně absorbovaných fermentovaných oligosacharidů, disacharidů, monosacharidů a polyolu, které jsou všudypřítomny v naší výživě. Double blind, cross over studie u zdravých dobrovolníků ukázala průhyb od požití sousta po fermentaci. Fruktóza (disacharid podobný laktóze) vyvolala prudký nárůst produkce vodíku, zatímco 30 g glukózy (dobře absorbované) nemělo žádný účinek. Je třeba poznamenat, že tyto účinky jsou vidět na špatně absorbovaných zkvasitelných disacharidech, a to jak v oblasti zdravých jedinců, tak i u pacientů s gastrointestinálním onemocněním. Sacharidy s dlouhým řetězcem (např. fruktany, celulóza), které nejsou stráveny a absorbovány v tenkém střevě, mají menší vliv v tenkém střevě než sacharidy s krátkým řetězcem. Nicméně fermentace obsahu v tlustém střevě vykazuje podobné účinky na funkci střev.

Malabsorpce je nezbytným předpokladem pro nesnášenlivost laktózy. Práh pro toleranci laktózy, která je dodávaná výživou, závisí na několika faktorech, včetně dávky laktózy a celkovém složení potravy, času trávení a složení střevní mikroflóry i na složení enterosolventního mikrobiomu (např. rychle či pomalu fermentovaných složkách, na množství vodíků v porovnání s vyprodukovaným metanem). Kromě těchto fyziologických faktorů bylo prokázáno, že u pacientů se syndromem dráždivého tračníku jsou projevy laktózové intolerance ihned po požití laktózy.

Příznaky laktózové intolerance se obvykle nevyskytují, dokud není aktivita laktázy menší než 50 %. Pravidelný příjem laktózy je může také ovlivnit. I když projev laktázy není regulován po požití laktózy, tolerance může být vyvolána přizpůsobením se střevní mikroflóře. Většina lidí s laktázovou nestálostí může tolerovat malé množství laktózy (méně

než 12 g, což odpovídá jednomu šálku mléka – 230 ml), zejména pokud je v kombinaci s jinými potravinami nebo rozložené na celý den (Deng, 2015).

Diagnostikovat laktózovou intoleranci je možné několika způsoby, od základního expozičního testu, až po genetické vyšetření. Expoziční test si může každý udělat sám a provádí se podáním 1 litru mléka s obsahem 50 g laktózy. Pokud se projeví gastrointestinální příznaky do 4 hodin po požití, je pravděpodobnost intolerance vysoká. Dalším testem je laktózový toleranční test. Pomocí laktózového absorpčního testu je možné měřit absorpční kapacitu laktózy. Podává se dávka 50 g roztoku laktózy u dospělých a sleduje se hladina glukózy v krvi v 0., 30., 60., 90. a 120. minutě po vypití roztoku (Fojík, 2013). V laboratorní příručce Oblastní nemocnice Kladno z roku 2011 je zmíněno, že „za malabsorpci laktózy se považuje, jestliže ve 30. nebo 60. minutě nedojde k vzestupu hladiny krevní glukózy o více než 1,1 mmol/l. Vzhled kompletní křivky (včetně hodnot v 90. a 120. minutě) umožňuje přesnější posouzení poruchy. U osteoporózy s malabsorpcí laktózy může od 60. minuty hladina krevní glukózy klesat pod výchozí hodnotu. U osteoporózy bez malabsorpce laktózy se hodnoty ve 120. minutě blíží výchozím hladinám. U zdravých osob lze očekávat vzestup asi o 2 mmol/l proti výchozí hladině mezi 30. až 90. minutou.“ Dalším prováděným testem je test dechový vodíkový, který měří malabsorpci laktózy. Spočívá v podání testovacího roztoku dávce 2 g/kg (maximálně 25 g laktózy) a měří se v 30 minutových intervalech množství vodíku v dechu po dobu 3 hodin. Výsledky mohou být ovlivněné kouřením, hladověním, antibiotiky či plicním onemocněním pacientů. Úspěšnost zjištění intolerance je pouze 40 - 60 %. Aktivitu disacharidáz v tenkém střevě může stanovit biopsie sliznice tenkého střeva s imunohistochemickým vyšetřením. Nejlepším a zároveň nejnákladnějším dostupným testem je test genetický.

Klinické projevy se odvíjí od enzymatického deficitu a množství přijaté laktózy. Jedná se o bolesti břicha, plynatost, nadýmání a průjem převážně u dospívajících. Charakter těchto obtíží ovlivňuje osmolalita, rychlost vyprazdňování a obsah tuku v potravinách s laktózou. Po snížení těchto projevů je možné konzumovat s mlékem také potraviny s vyšší osmolalitou a vyšším obsahem tuku, zpomalí se vyprazdňování a sníží se zatížení tenké kličky. K léčebným opatřením patří snížení přijímané potravy obsahující laktózu a také substituce enzymů, tedy přípravků obsahujících laktázu. Pro zachování dostatečného množství bílkovin a energie je možná náhrada alternativními zdroji. Dobrou alternativou mohou být kysané výrobky a jogurty, protože obsahují živé kultury, které produkují bakteriální beta-galaktosidázu, a ta hydrolyzuje laktózu. Pokud omezíme příjem mléka a mléčných

výrobků, omezíme tím také příjem vápníku a může se zvýšit riziko osteoporózy. Tudíž je suplementace vápníku nezbytná (Fojík, 2013).

Byly prováděny pokusy s kravským mlékem, které by mohly tyto problémy vyřešit. Jednalo se o využití genetické modifikace ke zvýšení kvality produkce přenosem genů jiných druhů. To vedlo k získání skotu, který vylučuje v mléce lidský laktoferin, který slouží k zajištění transportu iontů železa přes střevní stěnu do krevního oběhu a má na střevní mikroflóru bakteriostatické účinky. Tyto pokusy vedou k humanizaci mléka a snaží se o přiblížení se kravského mléka mléku mateřskému. Využití by bylo při vyrábění náhražek mateřského mléka. K odstranění problémů vzniku alergií na mléčnou bílkovinu by vedla právě genetická modifikace, kdy by se nahradil v kravském mléce alfa-laktalbumin za lidský a navýšila by se tedy koncentrace laktoferinu. Druhým pokusem bylo potlačit syntézu bílkoviny alfa-laktalbuminu, bez něj nedochází k syntéze laktózy. Vyřazením tohoto genu z funkce by se narušila sekrece mléka. Dalším způsobem, jak předejít nesnášenlivosti laktózy, by bylo snížení obsahu laktózy v mléce pomocí přenosu genu pro enzym, štěpící laktózu již v mléčné žláze (Bremel, 1990; Clark, 1996; Petr, 2006).

Tabulka 16: Rozdíly intolerance laktózy a alergie na bílkovinu kravského mléka (Čierna, 2007).

	Intolerance laktózy	Alergie na mléko
Příčina	Nedostatek enzymu, porucha trávení	Nežádoucí reakce imunitního systému na alergen
Příznaky	Gastrointestinální	Gastrointestinální, kožní, respirační, anafylaxe
Výskyt	Nejčastěji u dospělých (u kojenců sekundární příčina), každý šestý člověk má intoleranci laktózy, s věkem výskyt narůstá	Nejčastěji u kojenců, s věkem výskyt klesá
Diagnostika	Laktózo-tolerantní test	Klinické příznaky, specifické protilátky, imunologické vyšetření
Léčba	Eliminace laktózy (konzumace mléka a mléčných výrobků podle tolerance)	Eliminace jakékoli mléčné bílkoviny ve všech potravinách

3.8 Fermentace mléka

Fermentace mléka je zjednodušeně okyselení mléka prostřednictvím bakterií. Fermentace (kvašení) je biotechnologický proces, při němž se organické látky postupně přeměňují za účasti mikrobiálních enzymů (fermentů) na jednodušší látky. Pro různé druhy výrobků jsou používány různé druhy bakterií. Tyto bakterie jsou přidávány do mléka po pasterizaci a doba jejich působení závisí také na druhu vyráběného mléčného výrobku.

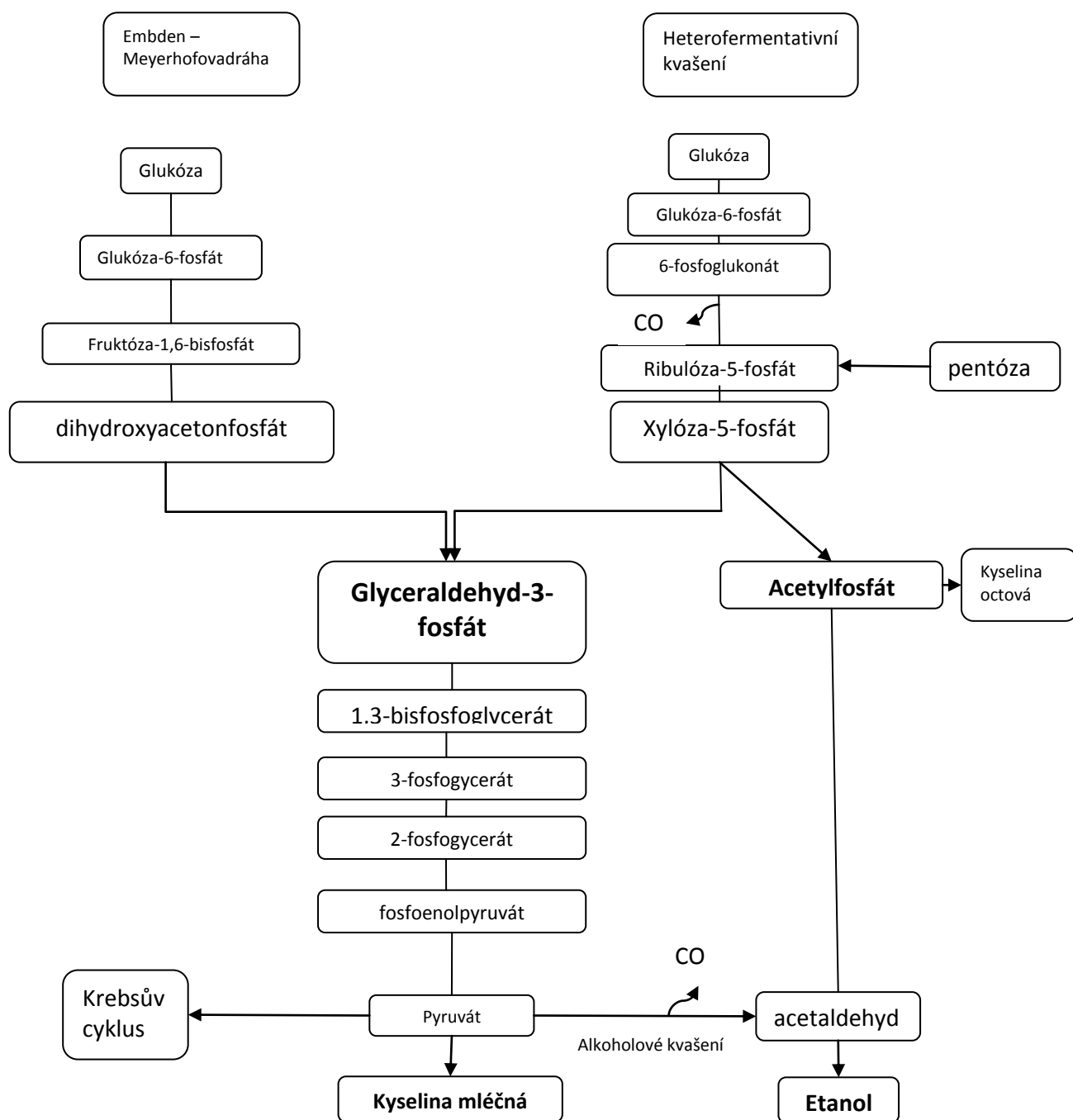
V průběhu procesu tyto bakterie fermentují laktózu (Bezpečnost potravin, 2012). Fermentace je proces, při němž dochází k přeměně části laktózy obsažené v mléku na kyselinu mléčnou a další sloučeniny, které dávají výrobku jeho charakteristické chuťové vlastnosti. V mléce působením vzniklé kyseliny mléčné dojde ke koagulaci bílkovin a k odštěpení vápníku vázaného na kasein, který se viditelně nesráží, ale bobtná. Vlivem kyseliny mléčné vzniká konzistence typická pro jogurt (Robinson, 2005).

3.8.1 Bakterie mléčného kysání

Tyto bakterie popisujeme společně, jelikož tvoří stejný konečný produkt při metabolismu sacharidů, kyselinu mléčnou. Základní funkcí těchto bakterií, které používáme při zpracování mléka je především již zmíněná produkce kyseliny mléčné, vznik sensoricky významných složek a v neposlední řadě rozklad bílkovin a potlačení patogenních mikrobiálních druhů. Bakterie mléčného kysání mají tvar koků (sférických), ovoidů nebo tyčinek, jsou gram-pozitivní, anaerobní a tolerují kyselé prostředí okolo pH 4, k jehož rozvoji také přispívají produkcí organických kyselin. Nízké pH je nežádoucí pro ostatní bakterie, ty potřebují neutrální prostředí ke svému růstu (Gajdůšek, 2002). Nezbytné pro dosažení podmínek vhodných pro růst bakterií mléčného kvašení jsou vnitřní a vnější faktory. Jedním z těchto faktorů je již zmíněné pH, aktivita vody, dále dostupnost kyslíku a teplota. Šilhánková (2002) uvádí, že optimální teplota je 28 °C – 32 °C, avšak bakterie rostou i při 15 °C. Přidáváme je do mléka či smetany, za účelem vyvolání změny vzhledu, obsahu, konzistence a chuti výsledného mléčného výrobku (Hylmar, 1985). Největší zastoupení bakterií mléčného kysání mají rody *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium* a *Propionibacterium* (Šilhánková, 2002).

3.8.2 Mléčná fermentace

Bakterie mléčného kvašení lze rozdělit podle konečných produktů metabolismu na homofermentativní, kdy je kyselina mléčná základním konečným produktem metabolismu (70 – 90 %) a heterofermentativní, které vedle kyseliny mléčné (50 %) produkují také kyselinu octovou, CO₂ a etanol (Gajdůšek, 2002). Hlavním zdrojem energie pro mikrobiální metabolismus je laktóza. Homofermentativní mléčné kvašení je nejběžnějším způsobem rozkladu laktózy, kromě tohoto kvašení se uplatňuje v malé míře i heterofermentativní mléčné kvašení (Forman, 1996).



Obrázek 6: Mléčná fermentace (Lactic acid fermentation in Sourdough).

3.8.3 Mlékařské kultury

Mlékařské kultury jsou důležitými mikroorganismy používanými k inokulaci mléka pro výrobu mléčných výrobků, zejména fermentovaných mléčných výrobků, sýrů, tvarohu a probiotických produktů. Mlékařské kultury mohou být vyráběné v různých formách a pro různé aplikace. Mlékařské kultury mohou mít formu lyofilizovanou, tekutou nebo mraženou a aplikují se jako matečné, provozní nebo jako kultury pro přímé očkovaní výroby.

Čisté mlékařské kultury (ČMK) jsou vybírány na základě požadovaných biochemických, senzorických a reologických vlastností. Zajišťují správný průběh biochemických pochodů při výrobě mléčných produktů, jako je prokysávání a zrání výrobků a s tím souvisí i změna senzorických vlastností mléka tím, že mění vzhled, vůni a chuť. Další funkcí mlékařských kultur je prodloužení trvanlivosti výrobků (Milcom, 2017).

Mlékařské kultury se vyrábějí jako monokultury nebo jako směsné kultury, které se skládají z různých kmenů stejného druhu nebo různých druhů mikroorganismů. Podle obsažených mikrobiálních druhů se ČMK dělí na kultury bakteriální, kvasinkové, plísňové, smíšené (Gajdůšek, 2002).

K výrobě mléčných výrobků se nejvíce používá kultura smetanová, a to především k výrobě kysaných mléčných výrobků, sýrů, tvarohu a másla. Tato kultura je směsná a obsahuje kyselinotvorný druh *Lactococcus* a aromatický druh *Leuconostoc*. Další směsnou kulturou je jogurtová kultura, kterou tvoří kmeny *Lactobacillus delbrueckii* a *Streptococcus thermophilus* (Teplý, 1984).

Acidofilní kultura je monokultura obsahující kmen *Lactobacillus acidophilus*, který patří mezi probiotické mikroorganismy, má léčebné a dietetické účinky. Acidofilní mléko má ostře kyselou nearomatickou chuť a vzhledem k těmto organoleptickým vlastnostem se pro výrobu používá v kombinaci s jinými kulturami. Kultivuje se při teplotě 37 °C po dobu 16 - 20 hodin.

Bifidogenní kultura obsahuje *Bifidobacterium bifidum*. Tato kultura je vhodná pro výrobu kysaných mléčných výrobků s dietetickými účinky.

Kefírová kultura je tvořena laktokoky, *Lactococcus lactis*, laktobacily, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* a kvasinkami v poměru 100:10:1. Doporučenou dobou kultivace je 20 - 24 hodin při 23 °C nebo 16-18 hodinu při 30 °C.

Kultura pediokoková je doplňkovou kulturou ke kultuře jogurtové, bifidogenní a acidofilní. Obsahuje kmen *Pediococcus acidilactici*. Homofermentativním zkvašováním laktózy vzniká 70-90 % kyseliny mléčné.

Poslední užívanou kulturou je kultura propionová, která je doplňkovou kulturou ke kefírové a smetanové kultuře (Teplý, 1984).

3.9 Výrobky se sníženým obsahem laktózy a bezlaktózové mléčné výrobky

V dnešní době jsou již průmyslově vyráběny výrobky bezlaktózové a se sníženým obsahem laktózy. Podle vyhlášky ministerstva zdravotnictví č. 46/2014 Sb., kterou se mění vyhláška č. 54/2004 Sb., o potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich použití, ve znění pozdějších předpisů, mohou výrobky se sníženým obsahem laktózy obsahovat max. 1 g laktózy ve 100 g nebo 100 ml potraviny ve stavu určeném ke spotřebě. Bezlaktózové výrobky mohou obsahovat max. 10 mg laktózy ve 100 g nebo 100 ml potraviny ve stavu určeném ke spotřebě a ve kterých je přítomnost volné galaktózy vyloučena (Sbírka zákonů, 2014).

Výrobky bezlaktózové a se sníženým obsahem laktózy jsou určeny pro jedince trpící nesnášenlivostí laktózy. Osoby, které trpí galaktosémií, což je dědičná porucha metabolismu galaktózy, netolerují laktózu a symptomy jsou závažnější než symptomy osob s laktózovou intolerancí. Výrobky, kde dochází k částečnému odstranění laktózy enzymovou hydrolýzou na glukózu a galaktózu a u kterých není dále odstraněna galaktóza, nejsou vhodné pro jedince trpící galaktosémií.

U nesnášenlivosti laktózy nelze určit přesnou prahovou hodnotu příjmu laktózy, pod kterou nedochází k nežádoucím účinkům, jelikož u některých osob byly popsány symptomy intolerance po příjmu menším než 6 g laktózy a většina osob toleruje až 12 g laktózy na jednu dávku. Pokud jsou potraviny obsahující laktózu rozděleny během dne, může být tolerována i vyšší dávka laktózy (Bezpečnost potravin, 2010).

Výroba těchto výrobků je provedena na základě přidání enzymu laktázy do pasterovaného mléka, kdy dochází k štěpení laktózy na glukózu a galaktózu. Hydrolýza probíhá při teplotě menší než 10 °C a je ukončena při snížení obsahu laktózy na 0,1 g ve 100 g mléka. Po rozštěpení laktózy má mléko jiné sensorické vlastnosti, především chuť, která je nasládlá, jelikož monosacharidy glukózy a galaktózy, které tímto štěpením vznikly, mají vyšší sladivost než molekula laktózy. Dále lze laktózu separovat pomocí metody membránové filtrace a chromatografickým procesem oddělení laktózy, kdy se oddělí iontová složka (bílkoviny a soli) a neiontová složka (laktóza), avšak obě metody musí být doplněné o enzymatickou hydrolýzu z důvodu neúplného odstranění laktózy. K úbytku laktózy dochází v případě fermentovaných výrobků procesem mléčného kvašení. Bakterie mléčného kvašení metabolizují laktózu na kyselinu mléčnou a další metabolity (Suková, 2011).

4 Metodika

V metodice byla prozkoumána a vyhodnocena dostupnost mléčných výrobků laktóza-free v tržní síti. V experimentální části byly dále sledovány změny obsahu laktózy a dalšího metabolitu, glukózy, během fermentace sušenou keřirovou a acidofilní kulturou, pomocí běžně používaných metod stanovení sacharidů v mléce a mléčných výrobcích. Mezi zkoušené metody pro sledování těchto uvedených látek byly vybrány: metoda ČSN 57 0536 Stanovení složek mléka infračerveným absorpčním analyzátozem (MilkoScan FT 120) a metoda stanovení obsahu laktózy a dalších metabolitů vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC).

4.1 Dostupnost mléčných bezlaktózových výrobků v tržní síti

V posledních letech se mění situace na trhu s bezlaktózovými výrobky, kterých razantně přibývá a taktéž přibývá i prodejních míst a nakupujících zákazníků. Bezlaktózové výrobky jsou možné nakupovat v maloobchodních řetězcích, online na internetu, ve zdravé výživě i na farmářských trzích. Avšak cena těchto potravin se u těchto prodejců liší, oproti zdravé výživě nabízejí obchodní řetězce výrobky za příznivější ceny. Většina řetězců má bezlaktózové výrobky umístěné pohromadě ve viditelně označeném regálu. Je jimi Tesco, Albert, Globus, Makro a například Billa a Kaufland mají své výrobky odděleně v mléčném regálu. Výrobky z řetězce Kaufland byly dále proměřovány na MilkoScanu.



Obrázek 7: Označení bezlaktózových výrobků obchodních řetězců Tesco a Albert.

Zdroj: internetový zdroj č. 1 a 2

Na stránkách laktonaut.cz, se dají online vyhledávat mléčné výrobky bez laktózy a také vybrat druh výrobku, prodejce a okres.

4.2 Stanovení složek na přístroji MilkoScan FT 120

4.2.1 Popis přístroje

MilkoScan FT 120 je účelový přístroj určený ke kontrole výroby mléka a mléčných výrobků, pro analýzu složení mléka, pro určení ceny syrového mléka a pro kontrolu konečných výrobků. Používá se pro měření syrového mléka a konečných výrobků a není potřeba velkých úprav vzorku před vlastním měřením.

Přístroj je složen ze dvou hlavních částí, a to z měřicí jednotky a počítače pro řízení všech operací.

Průtokový systém přístroje MilkoScan se skládá z:

- vibrační nasávací pipety, která má za úkol udržovat filtr v čistotě,
- peristaltické pumpy pro dávkování vzorků, její důležitost je hlavně u viskózních látek,
- ohřívací jednotky, která ohřívá vzorek z počáteční teploty 5 - 39 °C,
- vysokotlaké pumpy, která pumpuje vzorek přes homogenizátor,
- homogenizátoru, který je dvoustupňový a homogenizace vzorku se provádí za tlaku 200 barů.

Z nasátého vzorku slouží 80 % k čištění systému od předchozího vzorku a jde do odpadové nádoby. Vzorek putuje přes filtr do kyvety, kde je proměřen. Filtr odstraňuje částice, kvůli kterým by mohlo dojít k poškození kyvety. Po změření v kyvetě putuje vzorek do odpadové nádoby. K systému jsou navíc připojeny nádoby s nulovacím a čistícím roztokem.

4.2.2 Princip měření

Měření analyzovaného vzorku je založeno na absorpci infračerveného záření při specifických vlnových délkách. Naměřené údaje se musí uvádět do souladu s referenčními hodnotami pomocí kalibrace, protože dochází k ovlivňování absorpce jinými komponenty ve vzorku.

Interferometr je měřicí jednotka MilkoScanu, která naskenuje a proměří celé infračervené spektrum za méně než 1 vteřinu. Přístroj je velmi flexibilní, protože sbírá simultánně data z celého spektra. K analyzování nových složek stačí přístroj kalibrovat. Intenzita světla je zachycena detektorem jako funkce změny dráhy pohyblivého zrcadla a vše zaznamenává interferometr. Laserem se měří poloha tohoto zrcadla. Zdroj infračerveného

záření vysílá infračervený paprsek, který dopadá na splitter, ten zasílá část paprsku na pohyblivé zrcadlo a druhou část na zrcadlo fixní. Před tím, než dorazí odražené paprsky do detektoru, dochází ke spojení. Přes interferometr prochází všechny infračervené frekvence ve stejnou dobu, přičemž rychlý pohyb zrcadla umožňuje simultánní vygenerování celého spektra.

4.2.3 Vzorky - výrobky použité pro měření na MilkoScanu

Na MilkoScanu byly měřeny nejprve výrobky se sníženým obsahem laktózy, které byly nakoupeny v obchodní síti Kaufland privátní značky K-Classic. Prvním výrobkem bylo polotučné mléko s obsahem laktózy nižším než 0,1 g/100 g; složení: polotučné mléko a enzym laktáza. Dalším výrobkem byla smetana ke šlehání stejné značky, taktéž s obsahem laktózy nižším než 0,1 g/100 g. A posledním použitým výrobkem se sníženým obsahem laktózy byl bílý jogurt. Pro porovnání obsahu laktózy a dalších složek byla provedena také analýza polotučného mléka od firmy Olma a.s.



Obrázek 8: Nabídka bezlaktózových výrobků řetězce Kaufland.

Zdroj: Internetový zdroj č. 3

4.2.4 Postup při měření

Mléko bylo vytemperováno na cca 45 °C. Po zapnutí počítače, následovalo čištění přístroje a nulování. Poté byl vybrán modul, pomocí kterého bylo měřeno, Improved milk. Předem vytemperovaný vzorek byl vložen pod pipetu a měření bylo zahájeno tlačítkem pro měření, které je na přístroji nebo může být použita ikona se vzorkem a pipetou v zeleném poli na horní liště obrazovky. Poté byly zaznamenány výsledky analýzy a měření ukončeno vyčištěním a vynulováním přístroje.

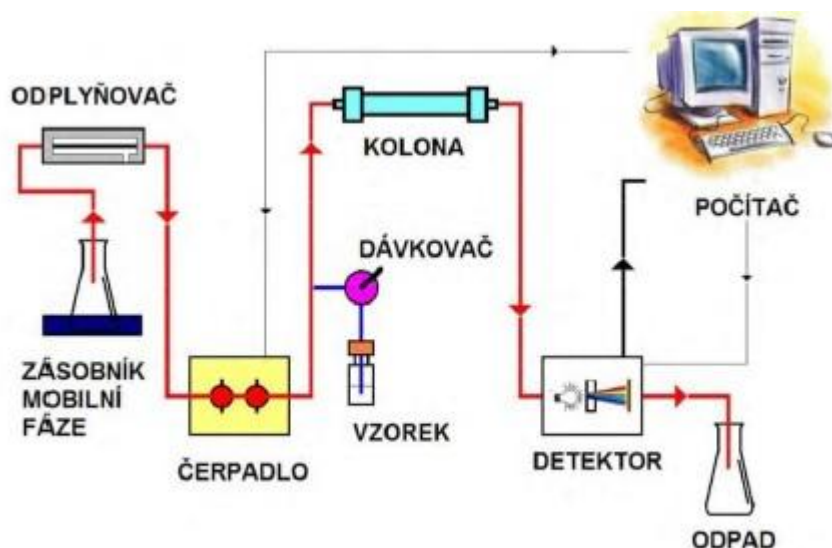
4.3 Stanovení obsahu laktózy a dalších metabolitů metodou HPLC

Pro přesnou kvantifikaci obsahů základních sacharidů ve vzorcích mléka před a po fermentaci byla použita metoda analýzy HPLC. Chromatografické metody se řadí mezi separační metody, založené na rozdílné distribuci dělených látek ve směsi mezi dvě různé nemísitelné fáze: mobilní (pohyblivou) a stacionární (nepohyblivou). V kapalinovém chromatografu je mobilní fází kapalina. Stacionární fází je buď tuhá látka, nebo kapalina, která je ukotvená na tuhém nosiči. Stacionární fáze je umístěna v chromatografické koloně ve formě sorbentu. Tímto sorbentem protéká mobilní fáze. Nejčastějším uspořádáním kapalinové chromatografie je HPLC, tedy vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography).

4.3.1 Popis přístroje

Kapalinový chromatograf je složen z částí, které mají určité funkce. První částí je zásobník mobilní fáze a vysokotlaké čerpadlo, které slouží k uchování a transportu mobilní fáze. Nejčastěji se jedná o skleněné nádoby o objemu 0,1 – 2,5 l, které jsou opatřeny ryskami a uzávěrem z inertního plastu s předpřipravenými otvory pro hadičky. Mobilní fáze je čerpána přes filtry, které odstraňují mechanické nečistoty. Degasery neboli odplyňovače jsou buď membránové vakuové, kde je semipermeabilní hadička umístěna ve vakuu a protéká jí mobilní fáze, nebo héliové, kde je mobilní fáze probublávána heliem, které vytěšňuje rozpuštěné plyny. Vysokotlaké čerpadlo pumpuje mobilní fází do systému a umožňuje programovat složení mobilní fáze v čase. Před analytické kolony jsou zařazovány předkolony, které jsou krátké a slouží k ochraně kolony před mechanickými nečistotami a obsahují stejnou stacionární fází jako kolona. Dále autosampler a manuální dávkovací ventil, který dávkuje vzorek, chromatografická kolona a termostat kolony, sloužící k separaci

látek a detektor k detekci látek. Poslední části jsou počítač a software pro záznam dat pro následné vyhodnocení (Cvačka, 2010).



Obrázek 9: Schéma kapalinového chromatografu (Cvačka, 2010).

4.3.2 Princip měření na kapalinovém chromatografu

Jednou z chromatografických separačních metod je právě kapalinová chromatografie. K dělení látek v kolonové chromatografii se používá chromatografická kolona, která je naplněná drobnými částicemi vhodného materiálu – sorbentu. Sorbent je přístupný pro molekuly vzorku a tvoří stacionární fázi. Mezi částicemi sorbentu protéká kolonou kapalina (mobilní fáze, eluent). Roztok vzorku se nastříkne do smyčky na začátku kolony. Každá složka vzorku přechází v kontaktu se sorbentem zčásti do stacionární fáze ve snaze dosáhnout termodynamické rovnováhy. Mobilní fáze, která vystupuje z kolony, vede do detektoru, který na základě změny některé fyzikální veličiny indikuje přítomnost separovaných složek. Grafický záznam závislosti signálu detektoru na čase se nazývá chromatogram. Počátek chromatogramu začíná nástřikem vzorku na kolonu. Jeden pík na chromatogramu odpovídá každé rozdělené složce. Poloha vrcholu této složky se nazývá retenční čas t_R a z objemového průtoku mobilní fáze F_m lze vypočítat retenční objem V_R ($V_R = F_m \cdot t_R$) (Sýkora a Fährich, n.d.).

4.3.3 Vzorky použité k analýze

4.3.3.1 Mléko

Základním použitým materiálem bylo čerstvé mléko polotučné s obsahem tuku nejméně 1,5 %, o objemu 1 l od výrobce Olma, a.s. Mléko bylo ošetřené vysokou pasterací a homogenizováno.

Výživové údaje / 100 ml (převzato z obalu mléka):

Energetická hodnota 188 kJ / 45 kcal

Tuky 1,5 g

Z toho nasycené mastné kyseliny 0,9 g

Sacharidy 4,6 g

Z toho cukry 4,6 g

Bílkoviny 3,2 g

Sůl 0,10 g.

Mléko bylo zakoupeno v běžné maloobchodní síti.

4.3.3.2 Použité bakteriální kultury

Celkem byly použity dvě mlékařské kultury, acidofilní a keřirová značky Laktoflora od firmy Milcom a.s.

4.3.3.2.1 Acidofilní kultura Laktoflora

Acidofilní kultura Laktoflora obsahuje mikrobiální kmen *Lactobacillus acidophilus* a dále mléko, sušené mléko a laktózu. Kultura se dodává v lyofilizované formě od firmy Milcom a.s. Mléko musí být pasterované a při 38 °C se zaočkuje jedním balením sušené kultury Laktoflora acidofilní na 1 litr mléka. Kultivuje se při 37 °C v termostatu po dobu 16 – 20 hodin. Po kultivaci se uloží mléko na 12 hodin do ledničky.

4.3.3.2.2 Keřirová kultura Laktoflora

Keřirová kultura Laktoflora obsahuje mikrobiální kmeny *Lactococcus lactis subsp. lactis* a *cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. diacetylactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus kefir*, *Kluyveromyces marxianus* a *Candida kefir* a dále mléko, sušené mléko a laktózu. Kultura se dodává v lyofilizované formě od firmy Milcom a.s. Mléko musí být pasterované a při kultivační teplotě se zaočkuje jedním balením sušené kultury

Laktoflora keřířová na 1 litr mléka. Kultivuje se při 30 °C v termostatu po dobu 16 – 18 hodin. Při kultivaci při vyšší teplotě má keříř výraznější chuť. Po kultivaci se uloží keříř na 24 hodin do ledničky.

4.3.4 Příprava vzorku mléka pro HPLC

Jeden litr pasterovaného mléka byl vytemperován na 30 °C a zaočkován jedním balením sušené kultury Laktofora keřířová, pořádně promíchán a rozdělen do pěti skleniček. Stejným postupem byl připraven vzorek s Laktoflorou acidofilní. Obě kultury byly kultivovány při předepsané teplotě po dobu 17 hodin. Po kultivaci byly tři skleničky od každé kultury uloženy do chladničky na dobu 24 hodin. Po uplynutí této doby byly vzorky připraveny k analýze na HPLC. Všechny připravené kultury byly dále čerény.

Nejprve byly připraveny roztoky Carrez I a Carrez II.

Roztok Carrezova činidla I

Do 500 ml odměrné baňky bylo naváženo 150 g síranu zinečnatého. Baňka byla následně doplněna po rysku destilovanou vodou. Roztok měl koncentraci 300 g/l.

Roztok Carrezova činidla II

Do 500 ml odměrné baňky bylo naváženo 75 g hexakyanoželeznatanu draselného. Baňka byla doplněna destilovanou vodou. Roztok nabývá koncentrace 150 g/l.

Bylo připraveno celkem 15 vzorků, u kterých bylo provedeno čerění vždy 10 g mléka, a získány čiré filtráty. Ze vzorků mléka bylo odváženo 10 g do odměrných baněk a bylo do roztoku přidáno 5 ml roztoku hexakyanoželeznatanu draselného (CAREZ II) a po promíchání 5 ml roztoku síranu zinečnatého (CAREZ I). Obsah baňky byl přelit do zkumavek a dále vložen do centrifugy. Po oddělení pevné složky byl filtrát přelit do předem označených zkumavek Eppendorf.

Tento proces přípravy byl proveden se všemi vzorky (mléko konzumní bez přídavku kultury, s přídavkem acidofilní a s přídavkem keřířové kultury). Vzorky s keřířovou a acidofilní kulturou byly nejprve kultivovány podle doporučených podmínek. Po fermentaci byly připraveny 3 vzorky od každého druhu. Filtráty vzorků získané po srážení a čerění Carrezovými činidly byly poté analyzovány metodou HPLC. Pro vyhodnocení obsahu laktózy a glukózy ve vzorcích byly připraveny standardy uvedených sacharidů

4.3.5 Měření vzorků

Nejprve byly proměřeny připravené standardy laktózy a glukózy pro zjištění retenčních časů a následnou kvantifikaci obsahů sacharidů. Měření bylo provedeno nástřikem vzorku do smyčky a převedením dávkovacího ventilu z pozice load na inject. Tím bylo spuštěné dávkování a analýza, která trvala 20 minut; podle předchozího nastavení. Po skončení analýzy byla provedena reintegrace píků a zaznamenána plocha píku v určitém retenčním čase, odpovídající hodnotě laktózy a glukózy, což bylo zjištěno pomocí standardů. Stejným způsobem byly nastříkávány na kolonu i vzorky. Každý standard i vzorek byl analyzován 3x a výsledné hodnoty byly po vypočtení zprůměrovány.

5 Výsledky

5.1 Průzkum laktóza-free výrobků v tržní síti

Z průzkumu vyplývá, že výběr těchto výrobků je opravdu široký. Například obchodní řetězec z Holandska, Albert má v prodeji produkty značky FreeFrom a výběr je z mlék, jogurtů, másla, zakysané smetany nebo šlehačky. Podrobný seznam produktů je uveden v tabulce 17.

Tabulka 17: Seznam bezlaktózových produktů v řetězci Albert.

Distributor	Značka	Produkt
Albert	FreeFrom	jogurt, mléko, máslo, smetana
Moravia		jogurt

Dalším významným obchodním řetězcem z Velké Británie je Tesco, které nabízí širší nabídku výrobků pro lidi trpící nesnášenlivostí laktózy. Z důvodu zvyšujícího se počtu zákazníků, tedy zvyšujícího se počtu lidí trpících nedostatkem enzymu laktázy, byla rozšířena nabídka produktů. Původně byly v nabídce smetany a mléka a nyní je možné zakoupit máslo, sýry, jogurty, tvarohy, pudinky a jiné. Podrobný seznam produktů je uveden v tabulce 18.

Tabulka 18: Seznam bezlaktózových produktů v řetězci Tesco.

Distributor	Značka	Produkt
Ehrmann	Lacto zero	jogurt
Heinrichstahler		sýr
Meggle	Lacto-	mléko, smetana
Moravia		jogurt
Omira	Minus L	Jogurt, máslo, podmáslí, smetana, sýr
Pragolaktos		mléko

Německý hypermarket Globus má rovněž širokou nabídku produktů, která je uvedena v tabulce 19.

Tabulka 19: Seznam bezlaktózových produktů v řetězci Globus.

Distributor	Značka	Produkt
Ehrmann	Lacto zero	jogurt
Goldsteig		sýr
Madeta		jihocheské pomazánkové tradiční
Meggle	Lacto-	mléko, smetana
Moravia		jogurt, tvaroh
Omira	Minus L	smetana, sýr
Pragolaktos		mléko, smetana

Řetězce Lidl a Penny nemají nabídku bezlaktózových výrobků a tyto výrobky nabízí pouze v akčních nabídkách. Makro a Billa nabízejí obdobný sortiment jako předchozí řetězce. Obchodní řetězec Kaufland nabízí také širokou škálu výrobků od jogurtu a mléka až po šlehačku a sýry, ale také investuje do výroby bezlaktózových výrobků privátní značky K-Classic, které byly použity v naší analýze. V tabulce 20 je uveden přehled výrobků tohoto řetězce.

Tabulka 20: Seznam bezlaktózových produktů v řetězci Kaufland.

Distributor	Značka	Produkt
Ehrmann	Lacto zero	jogurt
Goldsteig		sýr
Heinrichstahler		sýr
Kaufland	K-Classic	smetana, mléko, jogurt
Meggle	Lacto-	mléko, smetana

5.2 Výsledky z MilkoScanu

Tabulka 21: Výsledky z MilkoScanu.

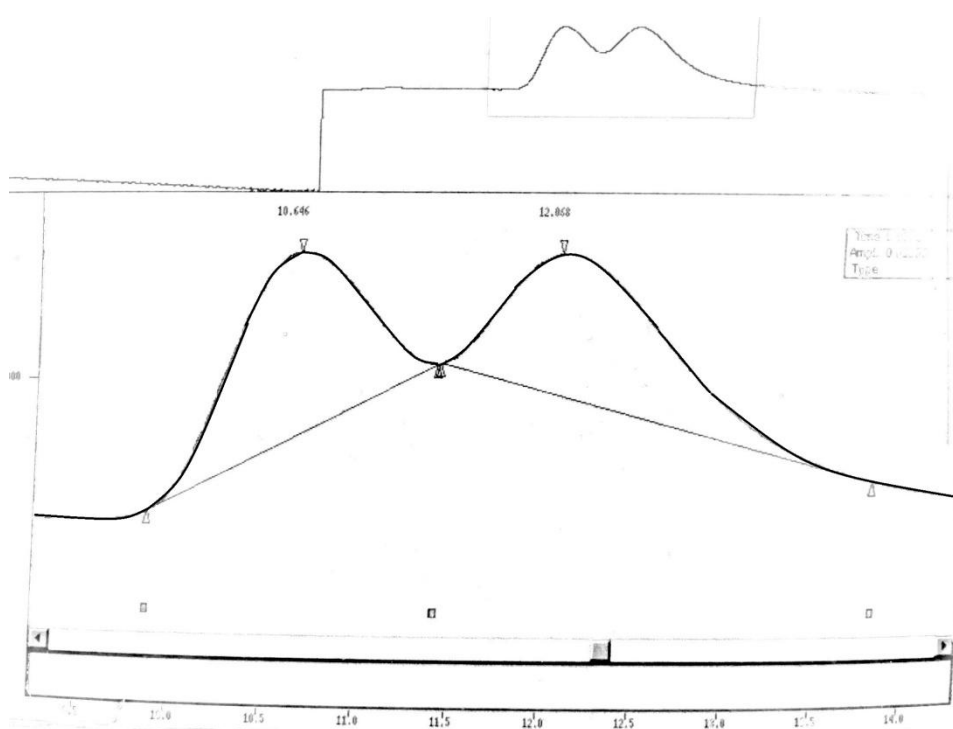
Mléko	Polotučné mléko	Mléko (lactose free)	Smetana (lactose free)	Jogurt (lactose free)	Jednotky
Bílkoviny	3,56	3,66	6,26	4,75	g/100 g mléka
Bod mrznutí	0,558	0,811	1,132	0,871	°C
Celková sušina	10,82	11,07	40,73	15,95	g/100 g mléka
Hustota	1035,4	1029,5	1021,1	1034,6	g/cm ³
Kasein	2,65	2,78	4,87	4,01	g/100 g mléka
Kyselina citronová	0,155	0,183	0,105	0,176	g/100 g mléka
Kyselost	6,46	0,62	11,91	23,01	jednotky SH
Laktóza	5,14	5,13	3,48	6,25	g/100 g mléka
Močovina	0,0366	-0,0316	-0,105	-0,0167	mg/100 ml
Tukuprostá sušina	9,24	9,34	8,93	11,99	g/100 g mléka
Tuky	1,64	2,19	34,48	2,9	g/100 g mléka
Volné mastné kyseliny	3,68	-3,63	-78,26	17,16	g/100 g mléka

Výsledky z MilkoScanu odpovídají hodnotám uvedených ve výživových údajích na obalech výrobků uvedených výrobcem.

5.3 Výsledky z HPLC

Tabulka 22: Kalibrace - standard laktózy a glukózy.

Standard laktózy		
	Čas [min]	Plocha píku
	10,646	1481654
	10,686	1241943
Průměr	10,666	1361799
Standard glukózy		
	Čas [min]	Plocha píku
	12,068	1495057
	12,073	1393887
Průměr	12,071	1444472



Obrázek 10: Chromatogram znázorňující standard laktózy a glukózy.

Na základě těchto standardů byly stanoveny retenční časy sledovaných analytů. Retenční časy sledovaných analytů metodou HPLC jsou laktóza 10,7 a glukóza 12,1 minut. Retenční časy slouží k identifikaci jednotlivých látek a jejich potvrzení v kalibraci. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 22.

V následující tabulce 23 je uveden výsledek analýzy vzorku nefermentovaného mléka.

Tabulka 23: Obsah laktózy v nefermentovaném mléce.

Mléko bez přídavku kultury – laktóza		
	Čas [min]	Plocha píku
	10,406	24908336
	10,379	26066596
	10,476	25711116
Průměr	10,420	25562016

Tabulka 24: Kefirová kultura s doporučenou dobou kultivace.

Mléko s přídavkem kefirové kultury – laktóza		
	Čas [min]	Plocha píku
	10,422	21190858
	10,441	20211362
	10,464	21329576
Průměr	10,442	20910599

Mléko s přídavkem kefirové kultury – glukóza		
	Čas [min]	Plocha píku
	12,351	255523
	12,373	224499
	12,409	255115
Průměr	12,378	245046

Výpočet:

Plocha píku laktózy v nefermentovaném mléce – M

Plocha píku laktózy v mléce fermentovaném kefirovou kulturou – K

Úbytek laktózy ve vzorku po fermentaci – 100 % - x

$$M = 25562016 \dots\dots\dots 100 \%$$

$$\underline{K = 20910599 \dots\dots\dots x \%}$$

$$x = 82 \%$$

$$100 \% - 82 \% = 18 \%$$

Úbytek laktózy byl v případě fermentace kefirovou kulturou při dodržení doby kultivace 18 %.

Tabulka 25: Acidofilní kultura s doporučenou dobou kultivace.

Mléko s přídavkem acidofilní kultury – laktóza		
	Čas [min]	Plocha píku
	10,458	18787280
	10,398	17338922
	10,392	16087126
	10,384	15656074
Průměr	10,408	16967351

Mléko s přídavkem acidofilní kultury – glukóza		
	Čas [min]	Plocha píku
	12,387	218219
	12,033	161875
	12,496	174106
	12,464	177800
Průměr	12,345	183000

Výpočet:

Plocha píku laktózy v nefermentovaném mléce – M

Plocha píku laktózy v mléce fermentovaném acidofilní kulturou – A

Úbytek laktózy ve vzorku po fermentaci – 100 % - x

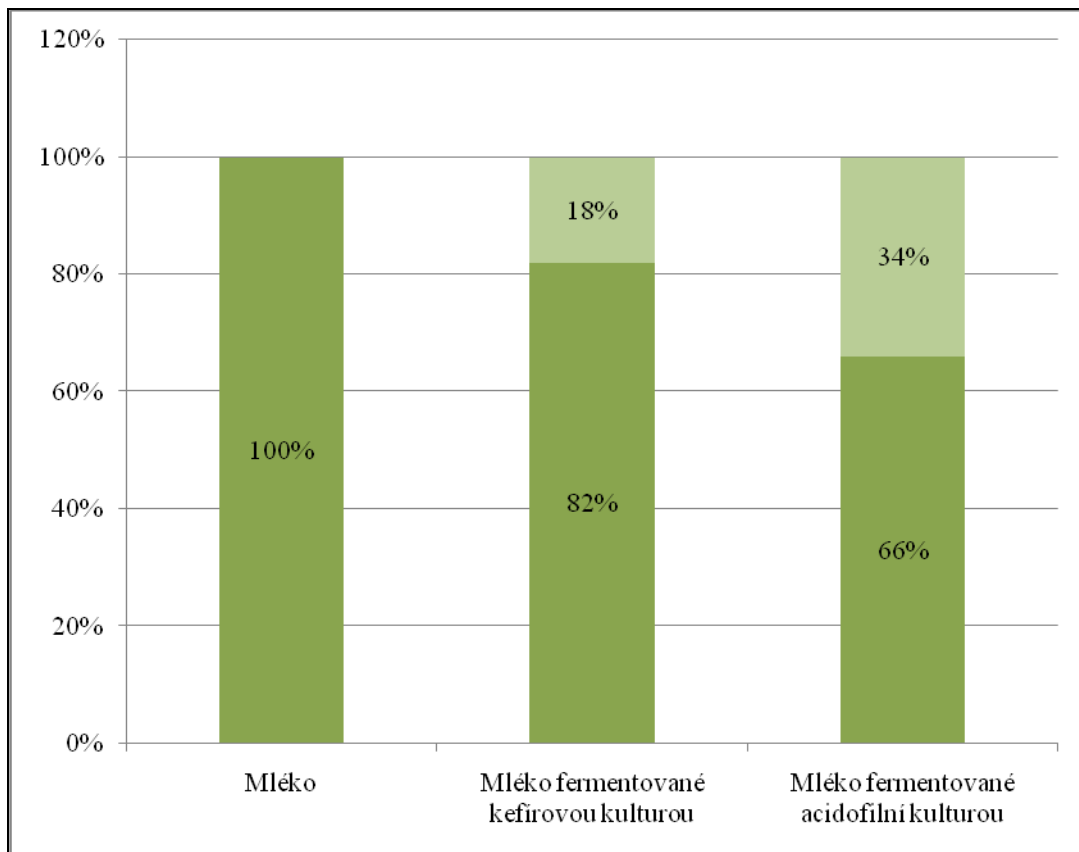
$$M = 25562016 \dots\dots\dots 100 \%$$

$$\underline{A = 16967351 \dots\dots\dots x}$$

$$x = 66 \%$$

$$100 \% - 66 \% = 34 \%$$

Úbytek laktózy byl v případě fermentace acidofilní kulturou při dodržení doby kultivace 34 %. Při analýze byly zaznamenány i koncentrace glukózy a galaktózy, ale pro naše účely byly vyhodnoceny kvantitativně pouze úbytky laktózy.



Graf 1: Znázornění úbytků laktózy po fermentaci.

6 Diskuze

Použití přístroje MilkoScan FT 120 s programem pro syrové mléko, který je kalibrován i pro měření laktózy, se v případě sledování změn obsahu laktózy probíhajících při jejím štěpení na glukózu a galaktózu během fermentace nejeví jako optimální. Program není schopen odlišit absorpci infračerveného záření vybraných funkčních skupin laktózy od produktů její první fáze fermentace (glukózy a galaktózy). Řešením by bylo zřejmě použití programu pro analýzu složek fermentovaných mlék, který ale bohužel není výrobcem v základní sestavě kalibrován na laktózu. Jako optimální metoda pro sledování změn obsahu laktózy a během fermentace vznikajících metabolitů byla vyhodnocena metoda HPLC.

Pescuma (2010) ve své práci uvádí, taktéž snížení obsahu laktózy o 15 % za použití jednodimenové termofilní kultury, při fermentaci po dobu 24 hod a 37 °C.

Legarová a Kouřimská (2011) ve své práci sledovaly úbytek laktózy během fermentace syrovátky termofilní jogurtovou kulturou. Koncentrace laktózy byla v syrovátce po fermentaci probíhající experimentálně, avšak méně hodin než fermentace v našich vzorcích, snížena o 15 % z původního množství.

Ke stejným závěrům dospěl také ve své práci Livia (1982), který zkoumal snížení laktózy ve fermentovaných mléčných výrobcích. Obsah laktózy v podmásle se snížil o 26 % a v kefiru o 30 %.

María (2006) ve své práci Mikrobiologické a chemické změny při výrobě kefiru z kravského mléka, s použitím startovací kultury uvádí, že během prvních 24 hodin fermentace se obsah laktózy snížil z průměrné hodnoty 4,92 % na 4,02 %, rozdíl byl tedy 0,90 %, z čehož vyplývá, že úbytek laktózy byl 18,3 %.

Zjištění úbytku laktózy během fermentace bakteriemi mléčného kvašení je ve shodě se závěry dalších autorů, taktéž všichni tito autoři uvádí, že i přes vysoký úbytek laktózy nejsou výrobky vhodné pro jedince s laktózovou intolerancí. Záleží na tom, jak fermentace probíhá, za jakých teplotních podmínek, jak dlouhou dobu a jaká startovací mléčná kultura je ke vzorku mléka přidávána. Naše výsledky ukazují, že při použití kefirové kultury po 16 hodinové fermentaci při 37 °C doporučené výrobcem (Milcom a.s.) došlo ke snížení obsahu laktózy ve srovnání s nefermentovaným konzumním mlékem o 18 %. Také při použití

acidofilní kultury po doporučené fermentaci 16 hodin při 37 °C došlo ke snížení obsahu laktózy ve srovnání s nefermentovaným konzumním mlékem o 34 %.

Na mléčných výrobcích se sníženým obsahem laktózy je uveden maximální obsah laktózy 1 g ve 100 g nebo 100 ml potraviny a pro bezlaktózové výrobky 10 mg ve 100 g nebo 100 ml potraviny ve stavu určeném ke spotřebě. Přesto, že fermentované výrobky mají příznivý vliv na mikroflóru a jsou lépe tolerovány a mají příznivé účinky na střevní sliznici, v případě poruch snášenlivosti laktózy není možné je ke konzumaci takto oslabeným jedincům doporučit.

7 Závěr

Po prozkoumání trhu bylo zjištěno, že nabídka bezlaktózových výrobků je široká a dostatečná. Tyto výrobky mohou být konzumovány i jedinci s laktózovou tolerancí, ale jelikož jejich chuť je nasládlá, není to u konzumentů běžných mléčných produktů žádané z důvodu nezvyklé nasládlé chuti. Úprava vzorků mléka čiřením dle Carreze a následná analýza zvolenou HPLC metodou se ukázaly jako vhodné pro sledování produktů fermentace vzorků acidofilní a keřirovou kulturou. Při použití keřirové kultury po 16 hodinové fermentaci při 37 °C doporučené výrobcem (Milcom a.s.) došlo ke snížení obsahu laktózy ve srovnání s nefermentovaným konzumním mlékem o 18 %. Také při použití acidofilní kultury došlo ke snížení obsahu laktózy ve srovnání s nefermentorvaným konzumním mlékem o 34 %.

Bakterie mléčného kvašení rozkládají laktózu na glukózu a galaktózu pomocí enzymu laktázy (β -galaktozidázy). Galaktóza je následně přeměněna na glukózu, proto ve výsledcích zmiňujeme pouze glukózu. Obsah laktózy, který zbyl po fermentaci, je stále příliš vysoký, proto tyto nápoje nemohou být doporučovány osobám trpícím laktózovou intolerancí. Pro tyto potraviny platí vyhláška č. 46/2014 Sb., kterou se mění vyhláška č. 54/2004 Sb., o potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich použití, která stanovuje limit laktózy v potravinách s nízkým obsahem laktózy nejvýše 1 g ve 100 g nebo 100 ml a bezlaktózové potraviny mohou obsahovat nejvýše 10 mg laktózy ve 100 g nebo 100 ml potraviny ve stavu určeném ke spotřebě a ve kterých je přítomnost volné galaktózy vyloučena.

Pokud omezíme příjem mléka a mléčných výrobků, omezíme tím také příjem vápníku a může se zvýšit riziko osteoporózy. Tudiž je suplementace vápníku nezbytná.

8 Použitá literatura

- Bánovčin, P. a Zibolen M. 2016. Základné informácie o materskom mlieku a dojčení pre pracovníkov v zdravotníctve. Bratislava: A-medi management. ISBN 978-80-89797-17-2.
- Benešová, E., Marková M., Lipovová P. a Králová B. 2005. Fukosidasy a oligosacharidy obsahující fukosu. Chemické listy [online]. (324-329) [cit. 2017-01-17]. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2005_05_324-329.pdf>.
- Bhandari, V., Singh, H. 2003. Physical methods. In: ROGINSKI, H. (ed.): Encyclopedia of Dairy Sciences. Vol. I. London: Academic Press, p. 93-101.
- Böhmová, J., Černý, V. 1994. Stanovení technologických vlastností mléka z hlediska výroby sýru. Ministerstvo zemědělství, Národní agentura pro zemědělský výzkum, č. R – 329 -142/2, 1992-1994.
- Böttcher, MF., Jenmalm MC., Garofalo RP. a Björkstén B. 2000. Cytokines in breast milk from allergic and nonallergic mothers. [online]. Pediatr Res., 47 (1), 157-62 [cit. 2017-02-06]. Dostupné z: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10625097>>
- Bremel, Robert D. 1990. Genetic Engineering of Milk. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 4:5-6, 22-26, DOI: 10.1080/13102818.1990.10818614.
- Bruhn, John C. Dairy Goat Milk Composition. In: DRINC: The Dairy Research & Information Center [online]. 1996 [cit. 2017-02-05]. Dostupné z: <<http://drinc.ucdavis.edu/goat1.htm>>.
- Březina, P., Jelínek, J. 1990. Chemie a technologie mléka I. Část, Praha: MOM.
- Burks W, Helm R, Stanley S, Bannon GA. 2001. Food allergens. Current Opinion in Allergy and Clin Immunology. 1, 3: 243–248.
- Campbell, AK., Waud, JP., Matthews, SB. 2005. The molecular basis of lactose intolerance. Sci Prog; 88 (Pt 3): 157-202.
- Clark, A. J. 1996. Genetic modification of milk proteins. The American Journal of Clinical Nutrition. 63(4), 633-638.

- Cvačka, J. Instrumentace pro vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii. In: Univerzita Karlova v Praze [online]. Praha: Univerzita Karlova v Praze, 2010 [cit. 2017-02-10]. Dostupné z: <<http://web.natur.cuni.cz/~analchem/bosakova/hplc2.pdf>>.
- Coco, M. 2012. The immunopathogenesis of cow's milk protein allergy (CMPA). Italian Journal of Pediatrics. 38 (č. 1), str. 35.
- Česká Republika. Sbírka zákonů. Praha: Tiskárna ministerstva vnitra, 2014, ročník 2014, číslo 19.
- Čierna, I. 2007. Intolerancia laktózy nie je alergia. *Pediatrica pre prax.* (3), 129-134.
- Čuboň, J. 2007. Konzumácia mlieka jako prevencia před osteoporózou. Nitra: Agroinštitút. ISBN 978-80-8069-894-2.
- Dort, J., Dortová E., Jehlička P. 2013. Neonatologie. 2. vyd. Praha: Karolinum, 118 s. ISBN 978-80-246-2253-8.
- Dostálová, J. 2006. Kozí mléko. *Výživa a potraviny*, roč. 59, č. 1, s. 8 – 9.
- Drbohlav, J. a Vodičková M. 2001. Tabulky látkové složení mléka a mléčných výrobků. 1. vyd. Praha: ÚZPI-Ústav zemědělských a potravinářských informací, 84, 85 s. ISBN 80-727-1005-2.
- Ettlerová, K. Alergie na kravské mléko. In: *Dermatologie pro praxi.* 2009, s. 178-183. DOI: <<http://www.solen.cz/pdfs/der/2009/04/06.pdf>>.
- Fantová, M. 2000. Chov koz. 1. vyd. Brázda Praha. 200 s. ISBN 80-209-0290-2.
- Farrell, H. M., Jimenez-Flores, R., Bleck, G. T., Brown, E. M., Butler, J. E. 2004. Nomenclature of the proteins of cow's milk – sixth revision. In *J. Dairy Sci.*, 87, p. 1641-1674.
- Fermentace. In: *Bezpečnost potravin A - Z: Ministerstvo zemědělství* [online]. 2012 [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <<http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92242.aspx>>.

Fojík, P., Falt, P., Urban, O., Novosad, P., Richterová, L. a Bóday A. Laktózová intolerance. Practicus [online]. 2013, (5), 7-12 [cit. 2017-04-06]. Dostupné z: <<http://web.practicus.eu/sites/cz/Documents/Practicus-2013-05/7-Laktozova-intolerance.pdf>>.

Forman, L. 1996. Mlékárenská technologie II. 2. vyd. Praha: VŠCHT. 228 s. ISBN 80-7080-250-2.

Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. 1998. Dairy chemistry and biochemistry. Blackie Academic & Professional, an imprint of Thomson Science. London. ISBN 0412720000.

Frühauf, P., & Szitányi, P. 2013. Výživa v pediatrii. Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví. 64 s. ISBN: 978-80-87023-26-6.

Fuchs. 2016. Potravinová alergie schéma. In: Česká iniciativa pro astma [online]. [cit. 2017-03-20]. Dostupné z: <http://www.cipa.cz/dokumenty/Potravinova_alergie_schema1.pdf>.

Gajdůšek, S. 2003. Laktologie. Brno: MZLU, 78 s., ISBN 8071576573.

Gajdůšek, S. 2002. Mlékařství II. 1. vyd. Brno: MZLU. 142 s., ISBN 8071573426.

Grieger, C., Holec, J. a kol. 1990. Hygiena mlieka a mličných výrobkov. Príroda Bratislava, 397 s. ISBN 80-07-00253-7.

Haenlein, G.F.W., 2001. The nutritional value of sheep milk. International Journal of Animal Science 16, 253 – 268.

Hlavatá, K. Mlékem k prevenci osteoporózy a zubního kazu! [online]. [cit. 2017-03-16]. Dostupné z: <<http://bileplus.cz/ml%C3%A9kem-k-prevenci-osteopor%C3%B3zy-zubn%C3%ADho-kazu#.WMleOVU1-M8>>.

Holec, J. a kol., 1989. Hygiena a technologie mléka a mléčných výrobků. Praha, Spn, 362. ISBN 8085114607.

Hrstková, H. 2003. Výživa kojenců a mladších batolat. 1. vyd. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů v Brně, 77 s. ISBN 80-7013-385-6.

Hylmar, B. 1985. Zvyšování nutričních a dietetických vlastností mléka bakteriemi mléčného kvašení. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav potravinářského průmyslu. 141 s.

- Ingr, I. 2003. Zpracování zemědělských produktů. Brno: MZLU, 249 s., ISBN 8071575208.
- Isolauri E. 2001. Probiotics in the prevention and treatment of allergic disease. *Pediatr Allergy Immunol* 2001; 12: (Suppl. 14): 56–59. Murch SH. Toll of allergy reduced by probiotics, *Lancet*; 357: 1057–1059.
- Kopáček, J. a Obermaier O. Mléko: Pít či nepít? [online]. 2013 [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: <<http://www.cmsm.cz/mleko-pit-ci-nepit/>>.
- Kopřiva, V. 2007. Mléko a mlezivo - Hlavní rozdíly a nutriční význam mléka ve výživě [online]. [cit. 2017-01-19]. Dostupné z: <http://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/vy_04_07.pdf>.
- Krus, G. N., Khramcov, A. G., Volokitina, Z. B. a kol. 2006. *Teknologiya moloka i molochnykh produktov*. Kolos S. p. 455. ISBN: 5-9532-0166-4.
- Lactic acid fermentation in Sourdough [online] [cit. 2017-02-26] dostupný z <<http://www.thefreshloaf.com/node/10375/lactic-acid-fermentation-sourdough>>.
- Legarová V. a Kouřimská L. Metody sledování změn obsahu laktosy a dalších analytů během fermentace syrovátky. *Chem. listy*. 2011, 105, 869-873.
- Livia, A. 1982. Effect of Fermentation on Lactose, Glucose, and Galactose Content in Milk and Suitability of Fermented Milk Products for Lactose Intolerant Individuals. *Journal of Dairy Science* [online]. 65(3), 346-352 [cit. 2017-04-09]. DOI: <[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82198-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82198-X)>.
- Ludman, S., Shan, N. a Fox, A.T. 2013. Managing cows' milk allergy in children. *Clinical review* [online]. (Volume 347), 5 [cit. 2017-02-20]. Dostupné z: <http://www.bmj.com/bmj/section-pdf/746284?path=/bmj/347/7925/Clinical_Review.full.pdf>.
- Lukášová J. a kol., 2001: *Hygiena a technologie mléčných výrobků*. 1. Vyd. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. 180 s, ISBN 80-7305-415-9.

Luyt, D., Ball, H., Makwana, N., Green, M. R., Bravin, K., Nasser, S. M. a Clark, A. T.. BSACI guideline for the diagnosis and management of cow's milk allergy. *Clinical & Experimental Allergy* [online]. John Wiley & Sons, 2014, (44), 642-672 [cit. 2017-02-23]. Doi: 10.1111/cea.12302. ISBN 10.1111/cea.12302. Dostupné z: <<http://doi.wiley.com/10.1111/cea.12302>>.

Madureira, A. R., Pereira, C. I., Gomes, A. M. P., Pintado, M. E., Malcata, F. X. 2007. Bovine whey proteins – overview on their main biological properties. In *Food Res. Int.*, 40, 2007, p. 1197-1211.

María, C. G. F., Sidonia M., Inmaculada F. a Carballo J. Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. *International Dairy Journal* [online]. Elsevier, 2006, 16(7), 762–767 [cit. 2017-04-17]. <DOI: <http://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.07.004>>.

Mc Kenzie, H. A. 1991. β -lactoglobulins. Milk proteins. In *Chem. molec. biology*, 12, 1991, p. 257-330.

Miciński, J., Pogorzelska, J., Shaikamal, G.I., Sobczuk-Szul, M., Beisenov, A., Aitzhanova, I., Dziegelewska-Kuzmińska, D. a Miciński, B.. Basic and mineral composition of colostrum from cows in different ages and calving period. 2012. DOI: 10.5601/jelem.2016.21.2.1159. ISBN 10.5601/jelem.2016.21.2.1159. Dostupné také z: <<http://jsite.uwm.edu.pl/articles/view/1159/>>.

Mills, O. In: *The British Sheep Dairying Association* [online]. 1983 [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <<https://www.sheepdairying.com>>.

Mlékařské kultury [online]. [cit. 2017-03-15]. Dostupné z: <<http://www.milcom-as.cz/vum-a-laktoflora/produkty-laktoflora/mlekarske-kultury.html>>.

Muntau, Ania. 2014. *Pediatric*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, 608 s. ISBN 978-80- 247-4588-6.

Navrátilová, P., Králová, M., Janštová, B., Přidalová, H., Cupáková, Š. a Vorlová, L. *Hygiena produkce mléka*. 2012. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ISBN 978-80-7305-625-4.

Ovčí mléko. In: Bezpečnost potravin A - Z: Ministerstvo zemědělství [online]. 2012 [cit. 2017-02-05]. Dostupné z: <<http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92073.aspx>>.

Ovčí mléko a mléčné výrobky. In: Zootechnika [online]. 2009 [cit. 2017-02-07]. Dostupné z: <<http://www.zootechnika.cz/clanky/chov-ovci/dojeni-ovci/ovci-mleko-a-mlecne-vyroby.html>>

Pánek, J.; Pokorný, J.; Dostálová, J.; Kohout, P. 2002. Základy výživy a výživová politika. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1. vydání, 219s, ISBN 80-7080-468-8.

Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. 2013. Milk and Dairy Products in Human Nutrition. Wiley-Blackwell. ISBN 9781118534168.

Pescuma, M., Hébert, EM., Mozzi, F., de Valdez, GF. 2010. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiology*, Jun 30, 141 (1-2), p. 73-81. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.011.

Petr, J. 2006. GMO v živočišné produkci – Geneticky modifikovaní živočichové. In: Sborník Geneticky modifikované organismy. Ministerstvo zemědělství ČR a České zemědělská univerzita v Praze, s. 21-25.

Pintado, M. E., Malcata, F. X. 1999. Studies on genetic variants of α -lactalbumin and β -lactoglobulin from milk of native Portuguese ovine and caprine breeds. In *Int. J. Food Sci. Tech.*, 34, 1999, p. 245-252.

Pokyn pro oddělení: laktóзовý toleranční test. In: Laboratorní příručka Oddělení klinické biochemie a hematologie Oblastní nemocnice Kladno, a.s. [online]. Kladno, 2011 [cit. 2017-04-06]. Dostupné z: <<http://www.enclabmed.cz/lpkladno/HVEZDAJADY.htm>>.

Procházková, Z. Assessment of physical and chemical characteristics of goat's kolostrum using FT-NIR spectrofotometry [online]. [cit. 2017-01-19]. Dostupné z: <http://www.potravinarstvo.com/dokumenty/mc_februar_2011/pdf/4/prochazkova.pdf>.

Prokš, J. Mlékařství. 1. vyd. Státní nakladatelství technické literatury Praha, 1969. 224 s.

Příznaky laktosové intolerance. [2017-01-19] Dostupné z: <<http://www.vyzivaspol.cz/clanky-casopis/laktozova-intolerance-versus-laktozova-tolerance.html>>.

Reece, W. O. 2011. Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat - 2., rozšířené vydání. Grada Publishing, 430. ISBN 8024732823.

Reilly, R. Forget gum: Eating Cheese can prevent tooth decay because it neutralises acid in the mouth [online]. 2013 [cit. 2017-03-16]. Dostupné z: <<http://www.dailymail.co.uk/health/article-2336850/Forget-gum-Eating-CHEESE-prevent-tooth-decay-neutralises-acid-mouth.html>>.

Robinson, K. Richard. 2005. Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products. 3rd Edition. New York: John Wiley & Sons. ISBN 0-471-38596-4.

Sambraus, H. Atlas plemen hospodářských zvířat. 1. vyd. Brázda Praha, 2006. 296 s. ISBN 80-209-0344-5.

Schoenian, S. Got milk? In: Sheep 101 [online]. 2015 [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <<http://www.sheep101.info/dairy.html>>.

Solinas, C., a kol. 2010. Cow's milk protein allergy. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine : The Official Journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians, 23 Příloha 3 October, 76–9.

Solomons, NW. 2002. Fermentation, fermented foods and lactose intolerance. Eur J Clin Nutr; 56 (Suppl. 4): S50-5.

Suková, I. 2011. Snižování a odstraňování laktózy z mléka a výrobků. Agronavigátor [online]. Praha, [cit. 2017-03-27]. Dostupné z: <www.agronavigator.cz>.

Suková, I. 2009. Výživově významné fosfolipidy z mléka. Agronavigátor [online]. Praha, [cit. 2017-01-19]. Dostupné z: <www.agronavigator.cz>.

Sýkora, D. a J. Fährnich. Kapalinová chromatografie a absorpční UV spektrofotometrie. In: VŠCHT [online]. Praha: VŠCHT, [cit. 2017-02-10]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/anl/lach1/6_LC.pdf>.

Šilhánková, L. 2002. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. 3. vyd. Praha: Academia. 363 s. ISBN 80-200-1024-6.

Tamine, A.Y. 2009. Milk Processing and Quality Management. Blackwell Publishing. UK. 324. ISBN 978-1-405-14530-5.

Teplý, M. Čisté mlékařské kultury. 1. vyd. Praha: SNTL, 1984. 296 s.

Thompson, A., Boland, M., Singh, H. 2009. Milk Proteins from Expression to Food, Food Science and Technology Series. Elvise. San Diego. 532. ISBN: 978-0-12-374039-7

Tolerovaný příjem laktózy při její nesnášenlivosti. Internetový portál bezpečnosti po-travin [online]. 2010 [cit. 2017-03-16]. Dostupné z: <<http://www.bezpecnostpotravin.cz>>.

Vicente, E. Cow's Milk Protein Allergy: Review of Literature on signaling pathways in CMPA and a Clinical Case Study [online]. Nevada, 2015 [cit. 2017-02-20]. Dostupné z: <<https://scholarworks.unr.edu/bitstream/handle/11714/630/11E09EEF.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. University of Nevada, Reno. Vedoucí práce Josh Baker.

Vincentová, D. 2006. Výživa novorozence, kojence a batolete. *Pediatric pro praxi*, 4, 224-226.

Walstra, P., Wouters, J. T. M., Geurts, T. J. 2006. Dairy Science and Technology. 2nd ed. New York: Taylor & Francis Group. Chapter 1, Milk: Main Characteristics, p. 3-16. ISBN 0-8247-2763-0.

Webb, B.H., Johnson, A.H., Alford, J.A. *Fundamental of Dairy Chemistry*. 2nd Ed. Westport, CT: AVI Publishing Co; 1974. Chapter I

Internetový zdroj č. 1: Tesco FreeForm. In: Fandom [online]. [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <http://logos.wikia.com/wiki/Tesco_Free_From>.

Internetový zdroj č. 2: Albert FreeForm. In: Albert [online]. [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <<https://www.albert.cz/pro-novinare/loga>>.

Internetový zdroj č. 3: K-Classic bezlaktózové výrobky. In: Kaufland [online]. [cit. 2017-04-05]. Dostupné z: <http://www.kaufland.sk/Home/02_Sortiment/012_Bezlaktozove/01_Znacka/index.jsp>.