

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



Bioaktivní látky hlavních složek mléka a jejich stanovení

Bakalářská práce

Autor práce: Lukáš Malecký

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

2012

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Bioaktivní látky hlavních složek mléka a jejich stanovení“ vypracoval samostatně a použil jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne

Podpis

Poděkování

Tímto děkuji vedoucí bakalářské práce Ing. Veronice Legarové, Ph. D. za odborné vedení, věcné rady a čas, který mi při zpracování této práce věnovala.

Souhrn

Strava je směs živin, kterou tělo potřebuje k získání energie a stavebních látek nutných pro růst a obnovu buněk, tkání a orgánů. Výživné látky neboli látky bioaktivní jsou rozděleny do dvou hlavních skupin: základní živiny (makronutrienty) a doplňkové živiny (mikronutrienty). Základní živiny se dělí na bílkoviny, tuky, cukry a tělo je potřebuje ve velkých dávkách.

První část této práce se s pomocí dostupné literatury zaměřuje na mléko, jeho obecné popsání, rozdělení raných fází vývoje a popsání jednotlivých druhů mlék, jako je mléko kravské, kozí a ovčí. Ve druhé části práce je kladen důraz na bioaktivní látky hlavních složek mléka, především na bílkoviny, jež jsou zastoupeny ve formě bílkovin kaseinových, kde popisují kaseinové frakce společně s kaseinmakropeptidem, a bílkovin syrovátkových, mezi něž patří β -laktoglobulin, α -laktalbumin, mléčné imunoglobuliny, laktoferin, bovinní sérový albumin a proteózo - peptony. Poté je popsána jejich antioxidační aktivita jako jedna z funkčních vlastností těchto látek. Mezi hlavní složky mléka patří také mléčný tuk, u něhož je popisována jedna z jeho hlavních bioaktivních složek, konjugovaná kyselina linolová. Vědci zjistili, že obsah kyseliny linolové v mléce je vyšší u zvířat pasoucích se volně na pastvě než u zvířat ustájených. Průměrný příjem kyseliny linolové v lidské stravě se liší mezi jednotlivými vrstvami obyvatel.

Další část této práce tvoří mléčný disacharid laktóza a oligosacharidy, zastoupené laktulózou, laktitolem, galaktooligosacharidy a galaktózou. Výzkumy dokázaly, že laktózová intolerance může zmizet, pokud je tělo schopno po pravidelném přijímání mléka vytvářet enzym β -galaktosidázu.

Třetí část práce se zaměřuje na vedlejší složky mléka, mezi něž se řadí vitaminy rozpustné v tucích a vitaminy rozpustné ve vodě, dále důležité minerální látky, enzymy a hormony.

Klíčová slova: mléko, bioaktivní látky, bílkoviny, tuky, sacharidy

Summary

Diet is a blend of nutrients that the body needs to obtain energy and building materials needed for growth and repair of cells, tissues and organs. The nutrients or bioactive substances are divided into two main groups: basic nutrients (macronutrients) and additional nutrients (micronutrients). Essential nutrients are divided into proteins, fats, carbohydrates and the body needs in large doses.

The first part of this work with the available literature focuses on the milk, its general description, the distribution of early stages of development and describe the various types of milk such as cow's milk, goat and sheep. In the second part the focus is on bioactive substance major milk constituents, mainly proteins, which are represented in the form of caseinprotein, casein fractions and description along with caseinmacropeptid and whey proteins, including β -lactoglobulin, α -lactalbumin, milk immunoglobulins, lactoferrin, bovine serum albumin and proteoso - peptones. After antioxidant activity is described as one of the functional properties of these substances. The main components of milk are also milk fat, which is described by one of its major bioactive compounds, conjugated linoleic acid. The researchers discovered that linoleic acid in milk is higher in animals grazing freely on pasture than in animals housed. The average intake of linoleic acid in the human diet varies between individual layers of the population.

Another part of this work consists of milk sugar lactose and oligosaccharides, represented lactulose, lactitol, galactooligosaccharides and galactose. Research have that lactose intolerance may disappear if the body is unable to receive milk after regular β -galactosidase enzyme produce.

The third part focuses on the minor components of milk, which include fat - soluble vitamins and water - soluble vitamins, also important minerals, enzymes and hormones.

Key words: milk, bioactive substances, proteins, fats, carbohydrates

Obsah

1. Úvod.....	9
2. Cíl práce	9
3. Literární rešerše	10
3.1 Mléko.....	10
3.1.1 Mléko nezralé	10
3.1.2 Mléko zralé	11
3.1.3 Složení kravského mléka	11
3.1.4 Mléka jiných savců využívaných ve výživě člověka.....	12
3.1.5 Kozí mléko.....	12
3.1.6 Ovčí mléko.....	12
3.1.7 Biomléko.....	13
3.2 Bioaktivní látky	13
3.3 Dusíkaté látky.....	14
3.3.1 Kaseinové bílkoviny	15
3.3.1.1 Frakce kaseinu	15
3.3.1.2 Stanovení kaseinu	16
3.3.1.3 Kaseinmakropeptid	16
3.3.1.3.1 Struktura CMP	17
3.3.1.3.2 Zdravotní účinky CMP	17
3.3.1.3.3 Funkční vlastnosti CMP.....	17
3.3.1.3.4 Metody analýzy CPM	18
3.3.2 Syrovátkové bílkoviny	18
3.3.2.1 Složky syrovátky.....	19
3.3.2.2 Využití syrovátky.....	19
3.3.2.3 β -laktoglobulin.....	20
3.3.2.3.1 Antimikrobiální aktivita.....	20
3.3.2.3.2 Antikarcinogenní aktivita	20
3.3.2.3.3 Metabolické a fyziologické účinky.....	21
3.3.2.4 α -laktalbumin	21
3.3.2.4.1 Získání α -laktalbuminu	21
3.3.2.4.2 Bioaktivita a přehled aplikací	22

3.3.2.4.3 Zvládání stresu	22
3.3.3 Mléčné imunoglobuliny	22
3.3.3.1 Imunoglobuliny mléka a mleziva	22
3.3.3.2 Současné technologie pro izolaci a koncentraci imunoglobulinu.....	23
3.3.3.3 Formulace imunoglobulinových výrobků.....	23
3.3.3.4 Streptokoky kazu	23
3.3.3.5 Zdravotní výhody.....	24
3.3.4 Laktoferin.....	24
3.3.4.1 Mechanismus účinku	25
3.3.4.2 Fyziologické funkce laktoferinu	25
3.3.4.3 Tepelné zpracování	26
3.3.4.4 Aplikace laktoferinu	26
3.3.5 Bovinní sérový albumin.....	26
3.3.6 Antioxidační aktivita peptidů.....	26
3.3.6.1 Aktivita a antioxidační vlastnosti peptidů	27
3.3.6.2 Účinky na zdraví.....	28
3.3.6.3 Metody pro analýzu antioxidační aktivity	28
3.4 Mléčný tuk	28
3.4.1 Metody stanovení mléčného tuku	29
3.4.2 Konjugovaná kyselina linolová	29
3.4.2.1 Analýza izomerů CLA	31
3.4.2.2 Variace obsahu kyseliny linolové v mléčném tuku	31
3.4.2.3 Rostlinné oleje	31
3.4.2.4 Technologické účinky CLA.....	31
3.4.2.5 Fyziologické účinky CLA.....	32
3.5 Laktóza	32
3.6 Oligosacharidy	33
3.6.1 Laktulóza	34
3.6.2 Laktitol.....	34
3.6.3 Laktosacharóza	35
3.6.4 Galaktooligosacharidy	35
3.6.5 Galaktóza	35
3.6.6 Laktózová intolerance.....	36
3.7 Vedlejší složky mléka.....	36

3.7.1 Minerální látky	36
3.7.2 Vitaminy	37
3.7.2.1 Vitaminy rozpustné v tucích	37
3.7.2.2 Vitaminy rozpustné ve vodě	38
3.7.3 Enzymy	39
3.7.4 Hormony	39
4. Závěr	40
5. Seznam použité literatury	41
6. Seznam použitých zkratk.....	50

1. Úvod

Mléko a mléčné výrobky jsou trvalou součástí lidské výživy. Patří k nenahraditelným zdrojům výživy kojenců, ale i pro dospívající jsou důležitou složkou pro tvorbu kostí. Z hlediska krytí potřeb lidského organismu jsou výborným a především cenným zdrojem významných látek, mezi které se řadí vitaminy, esenciální aminokyseliny, kvalitní bílkoviny, tuky a cukry, jež jsou důležitými látkami pro zdravý vývoj jedince. Z nutričního hlediska jsou nejcennější složkou mléka mléčné bílkoviny, jež mají vysokou biologickou hodnotu a obsahují velké množství aminokyselin. V současné době se zvyšuje spotřeba mléčných produktů, zejména sýrů, tvarohů a zakysaných výrobků. Tím se samozřejmě zvyšují požadavky spotřebitelů, kteří od těchto produktů očekávají větší důraz kladený na jakost a především kvalitu. Kromě nutričních hodnot mléka je na biologicky aktivní látky, jako je například kasein a syrovátkové bílkoviny, kladen stále se zvyšující důraz z hlediska fyziologických a biochemických funkcí, které mají zásadní dopad na lidské zdraví a metabolismus. Významný pokrok byl učiněn v oblasti vědy a technologie o množství a složitosti bioaktivních složek, a to zejména v mlezivu a zralém kravském mléce. Kravské mléko je hlavním zdrojem mléka a mléčných výrobků v rozvinutých zemích, i když stále více lidí pije kozí mléko. Mléko obsahuje široké spektrum bílkovin, které poskytují ochranu proti patogenům nebo jsou nezbytné pro výrobu a charakteristickou povahu některých mléčných výrobků. V trávicím traktu jsou bílkoviny rozštěpeny na jednoduché molekuly za pomoci enzymů, které řídí látkovou přeměnu. Tyto jednoduché molekuly jsou vstřebávány do krevního oběhu a některé jsou dále štěpeny. Organismus z nich získává energii, zatímco z jiných se v těle vyrábí velké stavební molekuly. Další hlavní složkou mléka jsou sacharidy, které dodávají energii nutnou pro plynulou látkovou přeměnu, důležitou pro všechny životní procesy uvnitř tělních buněk. Tuky, podobně jako sacharidy, působí jako zásobárna energie, tvoří tukové tkáně a jsou především součástí buněčných membrán.

2. Cíl práce

Cílem této kompilační práce je vypracování přehledné literární rešerše zaměřené na problematiku bioaktivních látek vyskytujících se v mléce a jejich vlivu na zdraví spotřebitele. Dále vytvořit přehled metod stanovení vybraných bioaktivních hlavních složek mléka, jako jsou bílkoviny, mléčný tuk a laktóza, s možností použití konkrétní metody v případné navazující diplomové práci.

3. Literární rešerše

3.1 Mléko

Mléko je homogenní kapalinou a sekretem mléčné žlázy samic savců určeným pro výživu a ochranu mláďat. Mléko je barvy bílé, s tím, že nabývá odstínu šedi a jde i do žluta. Je to disperzní systém, ve kterém kaseinové molekuly tvoří micelární disperzi, tuk se vyskytuje ve formě tukových kapek tvořící emulzi a mléčný cukr laktóza s minerálními látkami tvoří pravý roztok. Všechna druhová mléka je možno zařadit podle jejich chemického složení do různých skupin. Podle zastoupení hlavních druhů bílkovin se rozeznávají mléka kaseinová a mléka albuminová (Vaněk a kol., 2002).

Mléka kaseinová produkují přežvýkavci. Obsah kaseinu v nich překračuje 75 % celkového množství bílkovin. Tyto mléka mají větší význam z hlediska zpracování v mlékárenském průmyslu. Patří mezi ně mléko kravské, kozí, ovčí a buvolí.

Mléka albuminová produkují masožravci, všežravci a býložravci s jednoduchým žaludkem a obsahují méně než 75 % kaseinu z celkového množství bílkovin. Jsou rozšířenější než mléka kaseinová. Vyznačují se vysokým obsahem albuminu a patří mezi ně mléko mateřské, kobydí, oslí a prasečí.

Podle složení, chuti a barvy rozlišujeme v jedné laktaci mléko nezralé (mlezivo) a mléko zralé (Gajdůšek., 2003).

3.1.1 Mléko nezralé

Mlezivo je prvotní mléko u savců, které produkuje mléčná žláza těsně před porodem, nazývané jako mlezivo předběžné, a zvláště pak produkováno asi 3 - 5 dní po porodu, což je mlezivo pravé (Zadražil, 2002). Mlezivo je hustá lepkavá tekutina nažloutlé až nahnědlé barvy díky vlivu vysokého obsahu β -karotenu. Dále je to tekutina příznačného pachu a mírně slané chuti. Má vysoký obsah sušiny, z níž největší podíl tvoří bílkoviny, a to zejména imunoglobuliny, ale vykazuje také zvýšený obsah popelovin a minerálních látek (Gajdůšek, 2003). Je určeno k ochraně a výživě novorozenců v prvních 48 hodinách postnatálního života. Po porodu zajišťuje u mláďat přirozeně pasivní imunitu, tedy příjem hotových protilátek od matky, které novorozená mláďata chrání v prvních týdnech života před infekcemi ze zevního prostředí, když ještě nejsou schopna imunitní reakce a produkce vlastních protilátek. Významně se liší složením a použitím od mléka zralého. Rozdíly ve složení mleziva se postupně mění a z nezralého mléka se stává mléko zralé. Od zralého mléka se liší

vysokým obsahem globulinů, β -karotenu, vitaminů A, B, C, D, E a kyseliny listové (Vaněk a kol., 2002).

Obsahuje mnoho bílých krvinek a kolostrálních buněk. Projevuje se zvýšenou enzymatickou aktivitou, způsobenou enzymy katalázou, amylázou a lipázou (Zadražil, 2002). Také hladina vitaminů rozpustných v tucích je značně vyšší, jelikož obsah vitamínu B₁ bývá dvojnásobně a vitamínu B₂ až čtyřnásobně vyšší (Gajdůšek, 2003).

Je rovněž bohaté na volné peptidy, jednotlivé esenciální aminokyseliny, hořčík, železo, měď, zinek a jód, jenž jsou důležitou složkou pro rozvoj imunitního a nervového systému, ale také ke zvýšení odolnosti vůči chorobám (Doležal a kol., 2006).

3.1.2 Mléko zralé

Mléko zralé je mléko z plné produkce, které je určeno pro výživu lidí (Vaněk a kol., 2002). Složení mléka se vyvíjí od porodu až po zaprahnutí. Změny ve složení mléka vylučovaného od 6. do 10. dne po porodu jsou podstatně menší. Významně se liší mléko zralé od mleziva svými senzoryckými vlastnostmi a tím, že je vhodné pro další průmyslové zpracování (Gajdůšek, 2003). Ve zralém mléku se vyskytuje voda z 87,5 % a sušina v průměrném obsahu 12,5 %. Sušina je dále tvořena ze 3,2 - 4 % bílkoviny, 3,5 - 7 % tukem, 5 % laktózou a obsahem dalších látek, které jsou uvedeny v tabulce I (Vaněk a kol., 2002).

3.1.3 Složení kravského mléka

Mléko představuje biologický systém složený z vody, sušiny a plynů. Čerstvé kravské mléko je bílé barvy nažloutlého odstínu, nasládlé chuti a bez zápachu. Sekreční buňky mléčné žlázy přijímají stavební částice z krve či z lymfy, z nichž syntetizují mléčný tuk, laktózu a téměř všechny bílkoviny. Z krevní plazmy přejímají vodu a selektivně minerální látky (Gajdůšek, 2003).

Tabulka I: Průměrné složení kravského mléka

Složky mléka	Průměrný obsah [%]	Složky mléka	Průměrný obsah [%]
Voda	87,5	Bílkoviny	3,2 - 4
Sušina	12,5	Laktóza	4,7
Tuk	3,5 - 7	Minerální látky	0,7

Zdroj: Ingr, 2003

3.1.4 Mléka jiných savců využívaných ve výživě člověka

Ve výživě člověka je mléko využíváno od řady savců. Vedle kravského mléka se jedná především o mléko ovčí, kozí, buvolí, velbloudí, kobylí, sobí a mléko jaka. Mléka ostatních hospodářských zvířat se liší svým obsahem tuku, bílkovin a ostatních látek podle plemenné příslušnosti, podávaného krmiva, zdravotního stavu zvířete, stadia laktace a mnoha dalších faktorů. Nejvíce je konzumováno mléko kravské a to nejen v ČR, ale také ve vyspělých evropských zemích a USA (Gajdůšek, 2002).

Tabulka II: Chemické složení mléka přežvýkavců

Druh mléka [%]	Voda	Sušina	Laktóza	Tuk	Bílkoviny	Minerální látky
Kravské	86,5 - 87,5	12,5 - 13,5	4,5 - 5,0	3,2 - 6,0	2,9 - 5,0	0,8 - 1,1
Kozí	84,8 - 88,8	11,2 - 15,2	4,2 - 4,6	3,8 - 4,2	3,6 - 3,8	0,7 - 0,9
Ovčí	77,8 - 81,8	18,2 - 22,2	3,5 - 4,5	7,2 - 10,6	5,4 - 7,1	0,7 - 0,9
Buvolí	70,1 - 77,1	22,9 - 29,9	4,5 - 4,9	7,7 - 8,1	14,6 - 16,3	0,7 - 0,9

Zdroj: Smetana, P. a kolektiv, 2009

3.1.5 Kozí mléko

Kozí mléko patří mezi mléka kaseinová. Je to bílá kapalina produkovaná mléčnými žlázami koz a kvalita kozího mléka významně závisí na kvalitě krmiva. Koza má totiž větší tendenci převádět do svého mléka jedy a choroboplodné organizmy, které se do ní snadno dostanou. Obsah bílkovin, aminokyselin a složení mastných kyselin v kozím mléce je podobné obsahu v mléce kravském. Mléčný tuk kozího mléka je nositelem výrazných sensorických vlastností, které jsou ovlivněny mastnými kyselinami. Tuk je rozptýlen v menších kapičkách, což přispívá k jeho lepší stravitelnosti. Kozí mléko lze hodnotit jako kvalitnější a zdravotně prospěšnější než kravské. Oproti tomu obsahuje kyselinu kaprinovou, která způsobuje nepříjemnou vůni a chuť. Obsahuje také nižší množství železa, vitamínu B₁₂, kyseliny listové a askorbové. Nevýhodou je obsah rozpuštěných látek v iontové formě, které mohou způsobit ledvinové potíže. Kozí mléko se používá v lidovém léčitelství jako lék na různé formy dětských ekzémů a vyrážek (Dostálová, 2006).

3.1.6 Ovčí mléko

Ovčí mléko patří mezi mléka kaseinová. Má bílou až slabě žlutou barvu a mírně nasládlou chuť se specifickým pachem. Je obzvláště výživné, z vitamínů obsahuje hlavně B₁ a B₂, z minerálních látek je přítomný hořčík, fosfor, ale zejména důležitý je vápník, kterého

má o 70 % více než mléko kravské a je důležitý pro tvorbu pohybového aparátu a tvorbu kostí. Ovčí mléko obsahuje v porovnání s kravským více bílkovin, jejichž obsah má za důsledek vyšší titrační kyselost, která se pohybuje od 8 do 12,5 SH, a dvojnásobné množství tuku. Tyto tuky jsou přínosem, protože obsahují lehce stravitelné esenciální mastné kyseliny s krátkým a středním řetězcem, které jsou pro svoji stravitelnost výhodné pro léčbu trávicího traktu. Zvýšený podíl nenasycených mastných kyselin se projevuje vytvářením eikosanoidů řady n-3 s příznivými protizánětlivými a tuky snižujícími účinky. Účinky proti diabetu se připisují kyselině linolové, která je v ovčím mléce bohatě zastoupena (Gajdůšek, 2002).

3.1.7 Biomléko

Biomléko má jednoznačně zvýšený výskyt bioaktivních látek v mléku pocházejícím z ekologického zemědělství v porovnání s mlékem z konvenčních chovů. Biomléko obsahuje o 60 až 80 % více nutričních látek v letních měsících a o 50 až 60 % více v zimních měsících v porovnání s mlékem z konvenčních chovů. Má vysokou nutriční hodnotu a snižuje nebezpečí výskytu toxinů, ale také obsahuje významně vyšší podíly konjugované kyseliny linolové (CLA). Touha po konzumaci zdravých potravin zabezpečujících dlouhý život vyvolává požadavek na zemědělskou produkci v udržitelném a environmentálně přátelském ekologickém přístupu. Pro tento systém hospodaření je důležité dodržování standardů chovu a výživy zvířat. Produkty ekologického zemědělství se stávají hlavním nositelem pro produkci základních potravin. V ekologických chovech je důležitá kvalita vstupů, welfare a zdravotní stav hospodářských zvířat. V ekologickém systému hospodaření musí být respektovány přirozené potřeby chovaných zvířat s důrazem na volné ustájení a pastvu, a to zejména u dojnic a odchovu jalovic. Ekologická farma minimalizuje negativní vlivy zemědělství na životní prostředí a prioritou je její kvalita produkce. Ta je jedním z nejdůležitějších parametrů, který je výsledkem dodržování vymezených pravidel hospodaření na půdě, způsobu chovu hospodářských zvířat, výživy a konečné finalizace (Roubal, 2009).

3.2 Bioaktivní látky

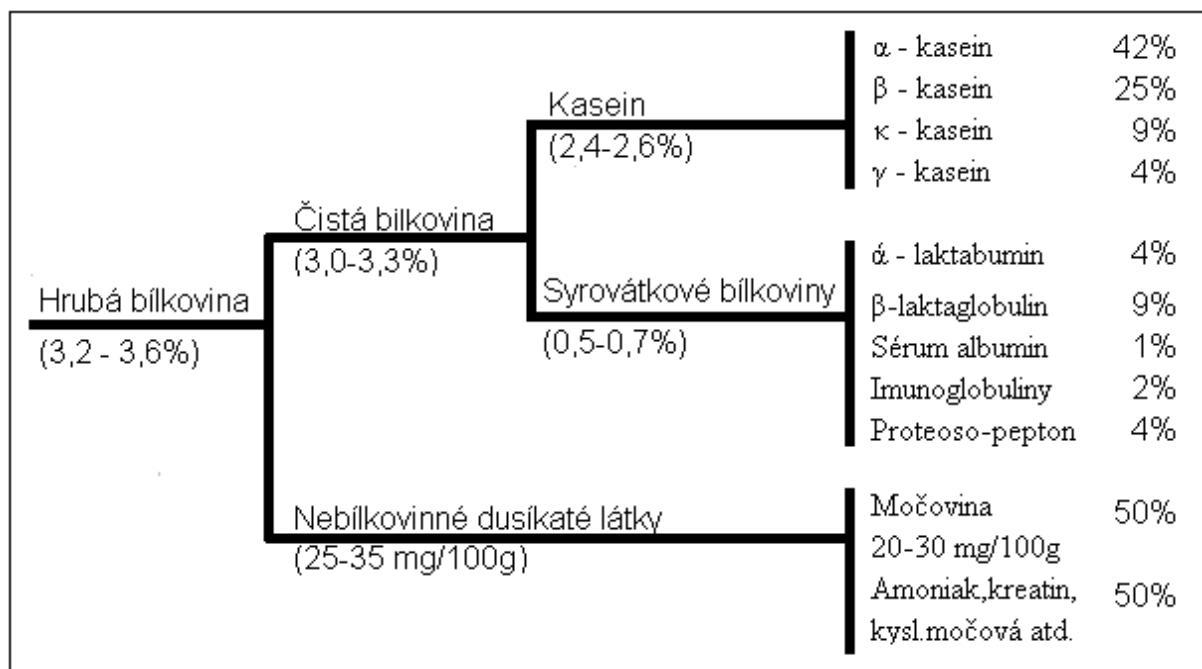
Bioaktivními látkami rozumíme všechny nutné látky, které mají význam pro výživu lidstva. Mezi tyto bioaktivní látky patří bílkoviny, tuky, cukry, vitaminy, minerální látky a mnohonásobně nenasycené kyseliny linolová a α -linolenová, které se nazývají látkami balastními neboli esenciálně výživnými, protože si je samo tělo nedovede vyrobit. Přestože je látková výměna přímo nepotřebuje, jsou pro naše zdraví nepostradatelné a životně důležité.

Dalšími bioaktivními látkami jsou sekundární rostlinné látky, což jsou barviva, aromatické látky, regulátory růstu a přirozené ochranné látky, které rostlina produkuje a používá je jako ochranu proti bakteriím, plísním a virům, ale které také u lidí snižují krevní tlak, cholesterol v krvi a brání tvorbě krevních sraženin (Dittrich and Leitzmann, 1999).

3.3 Dusíkaté látky

Dusíkaté látky tvoří nejkompexnější složky mléka. Vzhledem k nutričnímu a technologickému významu se jejich studiu věnuje ze všech složek mléka největší pozornost. Mléčné proteiny jsou v mléčné žláze syntetizovány z esenciálních a z většiny neesenciálních aminokyselin získaných z krve. Kravské mléko obsahuje dvě velké skupiny bílkovin. Těmito skupinami jsou bílkoviny kaseinové a syrovátkové lišící se svými biologickými účinky (Gajdůšek, 2003). Zadražil (2002) uvádí, že celkové bílkoviny (hrubé bílkoviny) mléka jsou tvořeny bílkovinami kaseinovými, bílkovinami syrovátkovými a dusíkatými frakcemi nebílkovinného původu, mezi které patří volné aminokyseliny, kyselina močová, amoniak, vitaminy skupiny B, močovina, kreatin a nukleotidy v množství 0,13 - 0,25 % z hrubých bílkovin mléka. Přesné rozdělení a zastoupení jednotlivých dusíkatých látek je zobrazeno v tabulce III.

Tabulka III: Rozdělení a zastoupení základních dusíkatých látek kravského mléka



Zdroj: Gajdůšek, 2003

3.3.1 Kaseinové bílkoviny

Kasein je heterogenní skupina fosfoproteinů. Z celkového obsahu bílkovin v mléce, ve kterém jsou hrubé bílkoviny obsaženy v hodnotě 3,3 %, připadá 2,5 - 2,6 % na kasein a 0,5 - 0,7 % na syrovátkové bílkoviny. Kasein vytváří v mléce mikroskopické částice, kaseinové micely. Řada mléčných výrobků je založena na srážení kaseinu, což probíhá působením kyselin (kyselé srážení) nebo působením syřidla (enzym chymosin z telecích žaludků) – sladké srážení. Při obou způsobech dochází rozdílným principem k porušení stability kaseinových micel, a tím k jejich vysrážení (Zadrazil, 2002). Při kyselém srážení se v kyselém prostředí uplatňují kyseliny vznikající činností bakterií mléčného kvašení, jako je kyselina mléčná a kyselina octová, a dochází k poklesu koloidní stability a vytváření gelu, jenž vzniká při dosažení izoelektrického bodu mléka, což je při pH 4,6. Tohoto srážení se využívá při výrobě tvarohů nebo sýru Cottage. Sladké srážení se využívá při výrobě většiny sýrů. Působením syřidlových enzymů dochází k narušení ochranné vrstvy κ -kaseinu a za přítomnosti vápenatých iontů dochází ke spojování kaseinových micel vápenatými můstky a k tvorbě gelu (Smetana a kol., 2009). Výroba kaseinu je jednou z možností využití nadbytku mléka. Kaseiny jsou nerozpustné látky, ale pro využití do tekutých výrobků lze z kyselých kaseinů neutralizací připravit rozpustné nebo dispergovatelné kaseináty (vápenatý, sodný). Kaseinový komplex je syntetizován mléčnou žlázou a dělí se na α , β , γ a κ -kasein (Zadrazil, 2002).

3.3.1.1 Frakce kaseinu

α_{S1} - kasein: je hlavní složkou kaseinové frakce a je syntetizován mléčnou žlázou. Obsahuje dvě hydrofobní oblasti, jenž jsou odděleny polární vazbou, která obsahuje všechny prolinové zbytky, ale jen jednu fosfátovou skupinu z osmi. V přítomnosti vápenatých iontů tvoří nerozpustnou vápenatou sůl.

α_{S2} - kasein: kaseiny této frakce mají podobnou strukturu jako α_{S1} frakce, ale nejsou tak citlivé k přítomnosti vápenatých iontů.

β - kasein: skládá se z 209 aminokyselin, má vysoce nabitě N-konce a hydrofobní C-konce. Podílí se na celkových bílkovinách mléka 25 - 35 %. Sráží se z odstředěného mléka působením vápenatých iontů při teplotě 35 °C. Při nízkých teplotách tvoří s vápenatými ionty rozpustnou sůl a při vyšších teplotách sůl nerozpustnou.

κ - kasein: skládá se z jedné hlavní bezcukerné složky a minimálně šesti malých složek. Obsahuje ve své molekule kromě fosforu D-galaktopyranosu, kyselinu N-acetylneuraminovou a galaktosamin. Má kyselou povahu a představuje výjimečnou složku mezi kaseiny. Jako

jediná kaseinová frakce se nesráží vápenatými ionty. Je jedinou bílkovinnou frakcí, která je v počáteční fázi působení syřidla štěpena chymosinem (Zadrazil, 2002).

Zastoupení jednotlivých frakcí bílkovin mléka je dáno geneticky a je tedy u každé dojnice neměnné. Celkový obsah bílkovin, obsah nebílkovinného dusíku, poměrové zastoupení syrovátkových bílkovin a kaseinu, velikost kaseinových micel i vlastnosti mléka jsou však ovlivněny řadou dalších faktorů a jejich vliv může překrýt vlivy genetického polymorfismu bílkovin mléka (Gajdůšek, 2002).

3.3.1.2 Stanovení kaseinu

Obsah kaseinu v mléce se stanovuje metodou dle Kjeldahla, buď to metodou přímou nebo nepřímou. Kasein v mléce se vypočítá vynásobením celkového obsahu bílkovin v mléce, takzvaným kaseinovým číslem. Jeho zjišťování umožňuje řada analyzátorů založených na infračervené spektrofotometrii, která patří mezi nepřímé metody a během níž je možné přesně a rychle stanovit obsah kaseinu v syrovém kravském mléce (Peterková, 1999).

Dánská firma Foss Electric uvedla na trh přístroje, které jsou schopny rychle a přesně stanovit obsah kaseinu v mléce z jednoho vzorku mléka vedle ostatních základních složek mléka. Jedná se například o přístroj MilkoScan FT 120, jenž analyzuje vzorek na principu měření absorpce infračerveného záření při specifických vlnových délkách. Protože je absorpce ovlivňována i ostatními komponentami ve vzorku, musí se naměřené údaje uvést do souladu s referenčními hodnotami pomocí kalibrace (Peterková, 1999).

3.3.1.3 Kaseinmakropeptid

Kaseinmakropeptid (CMP) neboli glykomakropeptid vzniká působením syřidla chymosinu nebo pepsinu na κ -kasein. Chymosin štěpí vazbu Phe105 - Met106, tím se eliminuje stabilizační schopnost, vznikne hydrofobní část para- κ -kasein a hydrofilní část kaseinmakropeptid (Delfour, Jolles, Alais a Jolles, 1965). CMP proniká do syrovátky, zatímco zbývající část κ -kaseinu, para- κ -kasein, se vysráží do sýřeniny. Společně s β -laktoglobulinem a α -laktalbuminem je CMP nejbohatší protein syrovátkových bílkovin získaný ze sýra s koncentrací mezi 20 až 25 % bílkovin (Park, 2009).

Manso and López-Fandiño (2004) zdůrazňovali schopnost CMP vázat enterotoxiny *Escherichia coli*, která brání bakteriální a virové přilnavosti, podporuje množení bifidobakterií, potlačuje žaludeční sekrety a reguluje krevní oběh. Očekává se od ní usnadnění funkčních vlastností, především vysokou rozpustnost a emulgační vlastnosti.

3.3.1.3.1 Struktura CMP

CMP je hydrofilní, ve vodě rozpustná molekula a má záporný náboj i při nízkých hodnotách pH (Haertlé and Chobert, 1999). Dalším atributem CMP je dobrá emulgační kapacita, s maximální aktivitou při kyselém pH v rozsahu 4,5 - 5,5. Nicméně, stabilita tepelně ošetřené emulze CMP se zhoršuje po 24 hodinách skladování v neutrálním a alkalickém pH (Chobert et al., 1989).

CMP neobsahuje aromatické aminokyseliny, pouze jeden zbytek methioninu. Je to kyselý peptid, vysoce rozpustný a termostabilní. Je známo 11 genetických variant kaseinu a dvě genetické varianty CMP (A a B) dominují v kravském mléce (Farrell et al., 2004).

3.3.1.3.2 Zdravotní účinky CMP

CMP vykazuje zvláštní nutriční a fyzikálně - chemické vlastnosti, je bohatý na aminokyseliny s rozvětveným řetězcem, což z něj činí užitečnou součást diety pro pacienty trpící jaterními chorobami (Abd El-Salam et al., 1996). CMP také zvyšuje vstřebávání zinku (Kelleher et al., 2003).

Neporušený CMP rychle prochází žaludkem a projde částečnou hydrolýzou pankreatickými enzymy (Fosset et al, 2002). To vysvětluje, proč u skotu a lidí se nacházejí fyziologicky aktivní koncentrace CMP v plazmě. U pět dní starých dětí je CMP ve vyšší koncentraci než u dospělých (Chabance et al.,1998).

CMP omezuje přilnavost kariogenních bakterií, kterými jsou *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* a *Streptococcus sobrinus*, do dutiny ústní a upravuje složení mikroflóry zubního plaku (Guggenheim et al., 1999). Schopnost CMP živit zdravou střevní mikroflóru poukazuje na jeho potenciál jako prebiotikum v potravinách nebo jako doplněk ve výživě kojenců (Bruck et al., 2003a). Nicméně, studie u dospělých lidí naznačují, že CMP nemá vliv na příjem potravy a na subjektivní ukazatele sytosti (Gustafson et al., 2001).

3.3.1.3.3 Funkční vlastnosti CMP

Funkční vlastnosti CMP jsou zajímavou možností pro použití při vývoji nových potravin podporujících zdraví. Pro výrobu inovativních produktů se využívají bioaktivní a technologické funkce CMP současně.

Martin-Diana et al. (2004) zjistili, že přidání CMP zvyšuje pružnost, snižuje fázový úhel a výsledkem je více než uspořádaný a strukturovaný gel.

Ahmed and Ramaswamy (2003) studovali vliv vysokého hydrostatického tlaku po dobu 30 minut při 20,1 °C na vlastnostech disperzí CMP při koncentraci 12,5 %. Soudržnost

a zdánlivá viskozita se zvyšuje s tlakem do 300 MPa, poté klesá. Fyziologicky aktivní koncentrace CMP závisí na požadovaném bioaktivním účinku. Dávka 0,2 g CMP denně se považuje za fyziologickou pro stimulaci slinivky břišní (Pedersen et al., 2000).

3.3.1.3.4 Metody analýzy CPM

Je popsáno mnoho metod pro výrobu CMP, ale většina dostupných je v současné době pokryta patenty (Etzcel, 2001). Některé z dřívějších metod pro výrobu CMP se zakládají na selektivním srážení ethanolem po oddělení syrovátkové bílkoviny denaturované tepelným zpracováním v kyselém prostředí (Berrocal and Neeser, 1993). Novější techniky jsou založeny na chromatografii nebo ultrafiltraci, buď pomocí chymosinu nebo syřidlové syrovátky jako výchozího materiálu.

Molle a Léonil (2005) propagovali kvantitativní metodu s elektrosprejem, jejímž základem je detekce specifických více nabitých iontů v kombinaci se stanovením enzymu. CMP se ukazuje jako multifunkční komplex s biologickou aplikací. Většina z dostupných údajů o bioaktivitou neporušeném CMP a peptidů vznikajících z jeho hydrolyzy jsou výsledkem studií na zvířatech.

CMP se izoluje a získává pomocí ionexové chromatografie, afinitní chromatografie a gelové chromatografie. Nízká propustnost způsobená nízkým průtokem snižuje využití drahé pryskyřice, která je ale nepraktická v obchodním měřítku (Etzcel, 2004).

Využití CMP pomocí těchto metod se pohybuje v širokém spektru v závislosti na typu výměníku a propustnosti syrovátky. Kaseinmakropeptidu chybí aromatická aminokyselina fenylalanin, takže obsah fenylalaninu je obecně považován za indikátor čistoty CMP výrobků (Ayers et al., 2003).

3.3.2 Syrovátkové bílkoviny

Kdysi byla syrovátka považována za bezcenný odpad mlékárenského průmyslu a jediné využití měla jako součást krmiv. Nyní její význam zásadně roste, což souvisí s poznatky o výživové hodnotě, s rozvojem separačních technologií, s nutností využívání velkých objemů vedlejšího produktu vzhledem ke koncentraci výroby sýrů, se snahou o ochranu životního prostředí, a tím související snížení zatížení odpadních vod, dále s potřebou speciálních funkčních přísad obsažených v syrovátce pro vývoj nových potravinářských a farmaceutických výrobků (Suková, 2006).

Syrovátka je vedlejším produktem vznikajícím při výrobě sýrů, tvarohu a kaseinu. Obsahuje značné množství vody, jenž je zastoupena v průměru kolem 93 %. Voda se ze syrovátky odstraňuje zahušťováním nebo sušením. Dalšími složkami syrovátky jsou

především vitaminy skupiny B, vitaminy A, E, C a minerální látky (Suková, 2006). Syrovátka příznivě upravuje metabolismus, kladně ovlivňuje činnost střev, obnovuje střevní mikroflóru, ale také se podílí na snížení hladiny cholesterolu v krvi (Gajdůšek, 2002). Největší množství syrovátky vzniká při výrobě sladkých sýrů (sladká syrovátka), kde dochází ke srážení bílkovin pomocí enzymového syřidla při pH 5 - 6, a tvarohů (kyselá syrovátka), kdy dochází ke srážení po okyselení na pH menší než 5 (Suková, 2006). Její účinky sahají od regulace hmotnosti, přes regulaci vysokého krevního tlaku, zvyšování imunity a antioxidační aktivity, zmírnění metabolického stresu, zlepšení svalových funkcí a absorpce živin, ke zvýšení fyzické síly a všeobecnému zlepšení zdravotního stavu (Gajdůšek, 2002).

Syrovátkové bílkoviny mají vyšší nutriční hodnotu než kasein (Gajdůšek, 2003). Ze syrovátky je lze vysrážet záhřevem na 95 °C po dobu 20 minut v kyselém prostředí, kdy dochází k jejich denaturaci (Zadrazil, 2002). Ze syrovátkových bílkovin je nejvíce zastoupen β -laktoglobulin a α -laktalbumin, které jsou syntetizovány mléčnou žlázou (Gajdůšek, 2003).

3.3.2.1 Složky syrovátky

V syrovátce je obsah 55 % sušiny mléka, její složení značně kolísá v závislosti na složení mléka a především na použitých podmínkách výrobního procesu. Základními bílkovinami mléčné syrovátky, které tvoří 10 % sušiny, jsou α -laktalbumin, β -laktoglobulin, sérový albumin, imunoglobuliny, bovinní sérový albumin, laktoferin. Jejich nutriční význam spočívá v jejich snadné stravitelnosti, příznivém složení aminokyselin, v přítomnosti některých bílkovin a jejich frakcí se speciálními účinky. Syrovátkové bílkoviny obsahují všechny esenciální aminokyseliny, a to ve vyváženém poměru z hlediska potřeb organismu. V porovnání s jinými zdroji bílkovin obsahují relativně více aminokyselin s rozvětveným řetězcem (valin, isoleucin a leucin), které ovlivňují látkovou výměnu ve svalech a zpomalují nástup projevů únavy. Také obsahují často nedostatkové sирné aminokyseliny methionin a cystein, jenž je důležitý pro vytváření glutaminu, který má vliv na podporu imunity a růst a obnovu svalové tkáně. Jsou dobrým zdrojem argininu, který podporuje rychlost zotavení po námaze a tryptofanu, prekursoru serotoninu (Suková, 2006).

3.3.2.2 Využití syrovátky

Využívání syrovátky a jejích složek patří jednoznačně k trendům při výrobě funkčních a wellness potravin. Z velké části je však syrovátka využívána ke krmným účelům v tekutém stavu. Nevýhodou však je, že rychle podléhá zkáze. Přes vysokou nutriční a biologickou hodnotu je ekonomicky efektivní využití syrovátky problémem mlékárenského průmyslu na celém světě. Většímu využití v potravinářském průmyslu brání vysoký obsah

solí ve vztahu k celkovému obsahu sušiny. Pro své vlastnosti mezi něž patří hnědnutí, krystalizace laktózy, emulgační a strukturační vlastnosti bílkovin jsou produkty využívány při výrobě sušenek, pekařských výrobků, uzenin, cukrovinek, tavených sýrů, kojenecké výživy, případně k výrobě energetických nápojů. Přídavek texturované syrovátkové bílkoviny do potravin umožňuje částečnou náhradu živočišných bílkovin (Gajdůšek, 2002).

3.3.2.3 β -laktoglobulin

β -laktoglobulin je hlavní syrovátkovou bílkovinou mléka nacházející se v mléčné žláze většiny přežvýkavců (Hambraeus and Lonnerdal, 2003). U skotu je gen tohoto mléčného proteinu uložen na 11. chromozomu. Ačkoli je nejvíce zastoupenou frakcí syrovátkových proteinů, jeho přesná fyziologická úloha zatím není zcela objasněna. Pravděpodobně se podílí na transportu retinolu a mastných kyselin ve střevech (Perez et al., 1992). Je to nákladově efektivní protein s atraktivními vlastnostmi pro funkčnost jídla. Tato významná syrovátková bílkovina poskytuje multifunkčnost průmyslu s množstvím příležitostí k rozvoji nových potravin a nápojů. β -laktoglobulin je rozpustná bílkovina při pH 3 a obecně činí 50 % z celkových syrovátkových bílkovin u přežvýkavců (Creamer and Sawyer, 2003). Není rozpustný v čisté vodě, ale rozpouští se ve zředěných roztocích neutrálně reagujících solí. Je méně kyselý než α -laktalbumin. Tato bílkovina neobsahuje fosfor a chybí jí také aminokyselina hydroxyprolin. Při záhřevu se nevratně denaturuje a když se teplota dostane nad 130 °C, vzniká vařivá příchut' mléka. Ve velké míře je obsažena v nezralém mléce a mléce masožravců (Zadrazil, 2002).

3.3.2.3.1 Antimikrobiální aktivita

Heterosexuální přenos lidského HIV - 1 je hlavní příčinou pokračujícího AIDS po celém světě a použití chemické bariérové metody přispívá ke kontrole této epidemie. Některé studie uvádějí, že β -laktoglobulin je účinný při inhibici HIV - 1, HIV - 2, herpes simplex Virus typu 1 a 2 (Oevermann et al., 2003).

3.3.2.3.2 Antikarcinogenní aktivita

Cílem antikarcinogenní aktivity je stanovení proteinů v prevenci nemocí a přispění tak k základu pro zařazení proteinů do funkčních potravin. Základem je zkoušení změny v krmné dávce zvířat, což má mít za následek účinné brždění chemicky indukované rakoviny tlustého střeva (McIntosh et al., 1995). Strava doplněná o β -laktoglobulin zvyšuje ochranu proti vývoji nádoru na zadní stěně střeva. β -laktoglobulin je schopný vázat mutagenní heterocyklické aminy, a tím poskytnout ochranu proti jejich karcinogenním účinkům

(Yoshida et al., 1991). U této mléčné bílkoviny se zjistilo, že její účinnost při zpomalení střevních nádorů u mladých potkanů je spolehlivá ve srovnání s ostatními dietními bílkovinami (McIntosh et al., 1995).

3.3.2.3.3 Metabolické a fyziologické účinky

β -laktoglobulin se podílí na trávení mléka a tuků v novorozeneckém období tím, že zvyšuje aktivitu před žaludeční lipázovou vazbou mastných kyselin, které inhibují tento enzym. β -laktoglobulin zvyšuje střevní absorpci retinolu a triglyceridů s dlouhým řetězcem mastných kyselin v prenatalním období přežvýkavců (Kushibiki et al., 2001).

3.3.2.4 α -laktalbumin

α -laktalbumin (α -la) je druhou nejvíce zastoupenou syrovátkovou bílkovinou mléka. Vykazuje velmi vysokou biologickou hodnotu, která je dána vysokým obsahem lysinu, tryptofanu a cysteinu, jenž jsou prekurzory serotoninu (Zadražil, 2002). Má globulární strukturu ve vodném roztoku a vykazuje vysokou afinitu ke kovovým iontům, zejména vápníku (Permyakov and Berliner, 2000). α -la je plně syntetizovaný mléčnou žlázou, kde působí jako koenzym pro biosyntézu laktózy (Chatterton et al. 2006). α -la je rozpustný v čisté vodě a proti tepelnému působení je ze všech mléčných proteinů nejstabilnější. Není citlivý vůči syřidlovému enzymu, syřidlem se nesráží a neobsahuje žádný fosfor (Zadražil, 2002). Ve zralém kravském mléce se koncentrace α -la pohybuje od 1 do 1,5 g/l, která tvoří asi 4 % syrovátkových bílkovin (Swaisgood, 1995).

3.3.2.4.1 Získání α -laktalbuminu

Výchozím materiálem pro obohacení a získání α -laktalbuminu je syrovátka. Jeho získání je založeno na membránové technologii. Nejprve proběhne mikrofiltrace pro odstranění β -laktoglobulinu či ultrafiltrace používající cut - off membránu (Uchida et al., 1996). Následně je chymosinová syrovátka upravena na hodnotu pH 5, kde se α -laktalbumin neváže na iontové výměny, a proto se snadno vymývá. Podíl je poté upraven na pH 4 a ultrafiltrován cut - off membránou oddělením od kaseinmakropeptidu (Yukio et al., 1992).

α -laktalbumin je citlivý na vápník. Úprava pH kolem izoelektrického bodu má za následek vytvoření kuličky. Tepelným zpracováním se protein sráží. Nevýhodou je, že se struktura proteinu nevratně změní (Chatterton, 2001).

Objev bioaktivních peptidů spojených přes disulfid znovu zdůrazňuje význam zachování struktury α -laktalbuminu za použití mírných podmínek zpracování v průběhu čištění. Bylo prokázáno, že α -laktalbumin v přítomnosti dalších syrovátkových bílkovin

indukuje tvorbu intermolekulárních můstků mezi α -laktalbuminem a β -laktoglobulinem (Livney et al., 2003).

3.3.2.4.2 Bioaktivita a přehled aplikací

Přínosy pro lidské zdraví z α -laktalbuminu byly dlouho skryté, ale nedávný výzkum naznačuje, že poskytuje příznivé účinky prostřednictvím neporušené molekuly, peptidů částečně hydrolyzovaných bílkovin a aminokyselin plně strávených (Markus et al., 2000). Hladina bílkovin v kojenecké výživě je daleko vyšší než v mateřském mléce. Vysoká hladina bílkovin může být nebezpečná pro děti. Proto je snižován obsah bílkovin v kojenecké výživě, aby se dosáhlo úrovně mateřského mléka. Hydrolyzáty kravského α -la a specifické peptidy odvozené z těchto hydrolyzáatů jsou spojeny s mnoha biologickými aktivitami, jako například s účinky antimikrobiálními, imunomodulačními a prebiotickými (Park, 2009).

3.3.2.4.3 Zvládání stresu

Tryptofan je předchůdcem mozkového serotoninu, který zlepšuje schopnost vyrovnání se se stresem. Studie se provádějí za účelem zjistit, zda α -laktalbumin zmírní příznaky stresu u dospělých jedinců. Poměr aminokyselin v plazmě je o 48 % vyšší po α -laktalbuminové dietě, než po dietě kaseinové. Kromě toho, lidé ve stresu mají vyšší koncentraci prolaktinu, sníženou tvorbu kortizolu a snížené depresivní pocity (Markus et al., 2000).

3.3.3 Mléčné imunoglobuliny

Imunoglobuliny (IGS) spolu s laktoferinem, laktoperoxidázou a lysozymem tvoří důležitý antimikrobiální systém mléka. Imunoglobuliny patří mezi protilátky, které jsou syntetizovány jako antigenní nebo imunogenní podněty, jako jsou bakterie a viry, a tak poskytují ochranu proti mikrobiální infekci. Mlézivo, které je jejich bohatým zdrojem, poskytuje pasivní imunitu novorozenci během vývoje vlastního imunitního systému (Lilius and Marnila, 2001).

3.3.3.1 Imunoglobuliny mléka a mléziva

Biologickou funkcí imunoglobulinů v kravském mléce a mlézivu je ochrana proti patogenům mléčné žlázy a poskytnutí imunologické obrany proti okolním patogenům (Korhonen et al., 2000). IGS jsou u savců rozděleny do pěti tříd na základě jejich fyzikálně-chemických struktur a biologické aktivity. V kravském mléce a lidském sekretu jsou známe třídy IgG, IgM, IgA a IgE (Korhonen et al., 2000). Imunoglobulinové protilátky tvoří 85 % z celkového imunoglobulinu (asi 50 g/l) při dojení v prvním dni po porodu (Elfstrand et al., 2002).

3.3.3.2 Současné technologie pro izolaci a koncentraci imunoglobulinu

Vzhledem k rychlému vývoji membránové separační technologie je možno izolovat individuální mléčné bílkoviny ve velkém měřítku (Korhonen, 2004). Výtěžnost imunoglobulinů pomocí této metody se pohybuje mezi 25 % a 70 % výchozího materiálu.

Mehra and Kelly (2004) produkovali podíl přes mikrofiltraci ze sladké syrovátky pomocí trubkové keramické membrány. Imunoglobulinový poměr proteinů v této frakci byl přibližně 3 krát vyšší než původní sladká syrovátka.

3.3.3.3 Formulace imunoglobulinových výrobků

Jednou z možností výroby IGS výrobků je odučnění a pasterování kravského mleziva za podmínek, které zachovávají biologickou aktivitu. Výrobky jsou ve formě spreje, sušeného prášku, filtrované tekutiny nebo koncentrátu. Některé z možných imunoglobulinů podporujících zdraví jsou ve vývoji nebo v klinickém vyšetřování a dnes se na trhu prodávají jako doplňky stravy (Scammell, 2001).

Příkladem může být například výrobek Gastrogard RTM, jenž je hyperimunním antirotavirovým koncentrátem jako léčivý přípravek pro prevenci rotavirových průjmů u kojenců a malých dětí (Davidson et al., 1989).

Dalším bioproduktem dováženým z Finska je BioenerviTM, sterilní filtrovaný produkt mleziva, který poskytuje růstové a antimikrobiální faktory při namáhavé fyzické činnosti prováděné sportovci (Mero, 1995). Imunoglobulinové přípravky jsou přidávány do maloobchodních produktů. V klinických studiích bylo prokázáno, že ProventraTM je přirozeným imunitním komponentem s rozpustnou vlákninou, který oslabuje škodlivé mikroorganismy a zabraňuje jejich růstu. Stejně jako koncentrace imunoglobulinů, specifická protilátka mění výrazně mléko a mlezivo různých krav v závislosti na spektru antigenů. Všechna mleziva a mléka obsahují zjištělná množství přírodních protilátek u enterobakterií, jako je *Escherichia coli*, ale přítomnost protilátek s jinými antigeny nejde předvídat (Kelly, 2003). S ohledem na celosvětově rostoucí problém antibioticky odolných kmenů, které způsobují endemické infekce, se rozvoj imunitních mléčných výrobků proti těmto infekcím jeví jako velmi zajímavá výzva pro budoucí výzkum.

3.3.3.4 Streptokoky kazu

Protilátka kravského mléka se studují na pasivních očkováních proti zubnímu kazu (Koga et al., 2002). Příprava z kolostra očkovaných krav ukazuje účinnou prevenci zubního kazu rozvojem experimentálního krysího modelu při podání jednou denně po dobu 55 dnů.

Shimazaki et al. (2001) zkoumali účinek imunitního mléka obsahujícího protilátky. Imunitní mléka významně inhibují rekolonizaci *Streptococcus mutans* ve slinách a plaku ve srovnání s kontrolní skupinou (Loimaranta et al., 1998).

Mlezivový imunoglobulin od krav očkovaných *Escherichia coli* může být schopen bránit vychytávání železa stejného kmene a mastitidových izolátů (Takemura et al., 2003). Vliv železa na vyčerpání imunoglobulinu byl testován růstem 15 kmenů *Escherichia coli* a výsledky ukázaly, že sice inhibuje vychytávání železa a růst in vitro, ale má jen malý vliv na růst v železem vyčerpaném mediu (Takemura et al., 2004).

3.3.3.5 Zdravotní výhody

Spotřeba mléka s 2 % obsahem tuku snižuje hladinu cholesterolu u lidí s hypercholesterolémií, což je rizikový faktor kardiovaskulárních onemocnění. Výraznějším vlivem na snížení hladiny cholesterolu v krvi mají netučné zakysané mléčné výrobky. Earnest et al. (2005) uvádějí, že v placebem kontrolované studii krve dochází ke snížení celkové LDL hladiny cholesterolu po podání 5 g denně po dobu 3 až 6 týdnů.

U dospělých mužů se objevují potíže s výskytem infekce horních cest dýchacích, a proto se vyvinul mlezivový výrobek IntactTM, jehož perorálním podáním se sníží riziko infekce (Brinkworth and Buckley, 2003).

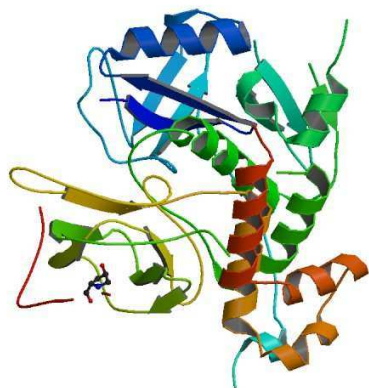
Značný pokrok je učiněn v izolaci a obohacování imunoglobulinů z kravského mleziva. Imunoglobuliny nezpůsobují nežádoucí příznaky a zdravotní rizika hlavně kvůli alergenním vlastnostem (Gingerich and McPhillips, 2005). Nicméně, právní stav těchto produktů je v mnoha zemích stále nejasný nebo se považují za léčiva (Hoerr and Bostwick, 2002).

3.3.4 Laktoferin

Laktoferin (Lf), který je na obrázku 1, je esenciální složkou mateřského mléka, které ovlivňuje vývoj orgánů a fyziologii novorozence. Stimuluje imunitní systém a má vliv na skladbu mikroflóry zažívacího traktu. Je považován za důležitou obranyschopnou molekulu, která má funkce antibakteriální, fungicidní a antivirové (Chierici, 2001). Laktoferinový obsah v mléce se liší v závislosti na druhu mléka. V kravském mléce je obsah 0,1 - 0,4 mg/ml a v mateřském mléce 1 - 3 mg/ml (Tomita, 1991).

Laktoferin je bílkovina, jenž působí antibakteriálně díky tomu, že bakteriím železo odebírá. Toto železo odevzdává červeným krvinkám. Laktoferin však dokáže železo vázat ještě lépe a dokáže si ho udržet i při nízkých hodnotách pH.

Obrázek 1: Laktoferin



Zdroj: Bösze, 2008

Laktoferin působí jako faktor stimulující růst některých typů buněk. Přestože se zprvu myslelo, že laktoferin je výhradně mléčný protein, později byl objeven i v slzách, slinách, žluči a semeni. Je vylučován mukózou dýchacího a trávicího traktu nebo neutrofily. Může zablokovat uhlovodíkový metabolismus bakterií, což vede k jejich zahubení. Za hlavní funkci lze považovat dynamickou vazbu iontů železa v závislosti na jeho množství v organismu a jeho transport v tenkém střevě. Lidský laktoferin se váže na jiná místa ve střevě kojenců než kravský. Váže se na specifická místa (receptory) na buněčných stěnách buněk. Funguje jako ochrana proti infekcím, nemocem, alergiím, syndromu chronické únavy a viru HIV (Park, 2009).

3.3.4.1 Mechanismus účinku

Vědecké studie prokazují, že více než 60 % požitého laktoferinu přežije průchod žaludkem dospělého člověka a vstupuje do tenkého střeva v neporušené podobě (Troost et al., 2001). Některé jeho části jsou po požití nestravitelné a jsou přítomny v dolní části gastrointestinálního traktu. Tyto částečně strávené peptidy, které si zachovávají biologickou aktivitu, mohou způsobit různé fyziologické účinky v trávicím traktu. V imunitním systému se při zánětu zvyšuje počet buněk v lymfatických uzlinách a slezině, zvyšuje se aktivita mikrofágů sleziny a produkce cytokininů (Wakabayashi et al., 2004).

3.3.4.2 Fyziologické funkce laktoferinu

Hlavní biologickou funkcí laktoferinu je udržování stálé a rovnoměrné hladiny železa v organismu. Vlastní řízení této rovnováhy železa se odehrává převážně v tenkém střevě, kde je železo přijímáno z potravy. Intenzivní výskyt v tělesných tekutinách naznačuje, že tento protein hraje důležitou obrannou roli na sliznicích. Transport železa je u laktoferinu vedlejším

produktem a hlavní uplatnění laktoferin nachází v imunitním systému. Kromě udržení homeostázy se podílí také na regulaci buněčného růstu a obraně proti mikrobiální infekci. Tato aktivita nesouvisí jen se schopností laktoferinu vychytávat z biologických substrátů železo potřebné pro růst mikroorganismů, ale také s přímým destabilizujícím účinkem na membrány mikroorganismů (Bösze, 2008).

3.3.4.3 Tepelné zpracování

Tepelná stabilita je důležitá, pokud je laktoferin používán jako bioaktivní složka potravin. Pro studium vlivu pH na tepelnou stabilitu jsou zkoušena prostředí o různé kyselosti v rozsahu pH 2 - 11 v destilované vodě se zahříváním na 80 - 120 °C po dobu 5 minut (Abe et al., 1991). V kyselém prostředí zůstávají vzorky rozpustné a při pH 2 - 3 se zvyšují antibakteriální účinky, laktoferin ztrácí železo a snižuje se jeho vazebná kapacita (Saito et al., 1991).

3.3.4.4 Aplikace laktoferinu

První aplikací v komerčním produktu je doplnění kojenecké výživy. Laktoferin se v současné době používá jako složka funkčních potravin, výživa pro sportovce a jako nutriční zdravotní doplněk. Kojenecké výživy doplněné laktoferinem jsou k dispozici v Japonsku, Koreji, Indonésii. Do České republiky se dostávají během poslední dekády. Další oblasti použití laktoferinu zahrnují péči o pleť (pleťové vody, krémy), které přispívají ke zvlhčení kůže, a péči o dutinu ústní (ústní vody) (Park, 2009).

3.3.5 Bovinní sérový albumin

Jedná se o heterogenní bílkovinu, která představuje 0,7 - 1,3 % z celkových bílkovin mléka. Zvýšené hladiny se zjišťují při zánětech mléčné žlázy (Gajdůšek, 2003). BSA izolovaný z mléka je imunologicky i fyzikálně totožný s krevním sérovým albuminem. Váže mastné kyseliny a další malé molekuly. Vzhledem k vysokému obsahu cysteinu je důležitým zdrojem k produkci glutathionu v játrech.

3.3.6 Antioxidační aktivita peptidů

Peptidy získané z trávení mléčných bílkovin se skládají z 5 - 11 aminokyselin, včetně prolinu, histidinu, tyroxinu nebo tryptofanu. Antioxidační aktivita hydrolyzátů je spojena s charakteristickou sekvencí aminokyselin peptidů odvozených v závislosti na přesnosti proteáz. Hydrolyzáty z mléčné bílkoviny mohou být použity jako přírodní antioxidanty se zvýšenou antioxidační vlastností funkčních potravin. Antioxidanty mají ochrannou funkci

proti vzniku radikálů. Mléko obsahuje několik antioxidačních faktorů, jako jsou vitaminy a enzymy.

Oxidační metabolismus má zásadní význam pro přežití buněk. Vedlejším efektem této závislosti je produkce volných radikálů, které způsobují oxidační změny. Když se tvoří přebytek volných radikálů, mohou převládat ochranné enzymy (katalázy) a způsobit destruktivní nebo smrtící účinky buňky tím, že okysličují membránové lipidy a DNA. V mnoha studiích se prokazuje zvýšené oxidační poškození všech hlavních tříd biomolekul v mozcích pacientů s Alzheimerovou chorobou (Liu et al., 2003). Dalším patologickým stavem spojeným s projevy radikálů je cukrovka nebo revmatoidní artritida (Hoelzl et al., 2005).

Oxidace lipidů je inhibována antioxidačními látkami, mezi něž patří umělé antioxidanty, které vykazují silné antioxidační účinky proti oxidaci několika systémů. Některé bílkoviny z potravin mají schopnost uklidit aktivní kyslík (Okada and Okada, 1998).

3.3.6.1 Aktivita a antioxidační vlastnosti peptidů

Peptidy získané z trávení různých proteinů zaznamenávají antioxidační aktivitu. Schopnost bílkovinných hydrolyzátů zabránit nežádoucím změnám způsobeným oxidací lipidů je vyhovující povahou a složením jednotlivých peptidových frakcí v závislosti na proteázách. Například antioxidační aktivitě sóji se připisuje sekvence aminokyselin Leucin-Leucin-Prolin (Chen et al., 1998).

Účinky různých druhů kaseinu na činnost lipoxygenáz jsou vyhodnoceny a identifikovány v proteinu zodpovědném za inhibiční účinek těchto enzymů (Rival et al., 2001a). Strukturální a funkční vztahy mezi sekvencí aminokyselin, antioxidační kapacitou a účinností se analyzují pomocí syntetických peptidů s použitím tří různých metod (Rival et al., 2001b). β -kasein je silný antioxidant, téměř neúčinný proti enzymově vyvolaným oxidacím kyseliny linolenové. Další sloučeniny, jako vitamin E, jsou bez významných antioxidačních inhibitorů. V modelových systémech se prokázalo, že antioxidační vlastnosti syrovátkových bílkovin se zvyšují pomocí frakční destilace nebo hydrolyzou s určitými enzymy (Auerbach et al., 1992).

Tong et al. (2000) testovali antioxidační aktivitu s vysokou molekulovou hmotností složek syrovátky v emulzi. Jejich výsledky ukázali, že vysoké molekulární hmotnosti proteinů jsou účinnější než nízké molekulární hmotnosti polypeptidů.

3.3.6.2 Účinky na zdraví

Dříve se lidské studie zaměřovaly především na účinky vitamínu A, vitamínu C, vitamínu E a karotenoidů, ale v současné době se zaměřují především na účinky ovocných šťáv z vinných hroznů, nápojů (čaj, káva), zeleniny (rajčat) a dalších složek lidské stravy, jako koenzym Q10 a polynenasycené mastné kyseliny (Hoelzl et al., 2005).

Kullisaar et al. (2003) poznamenali, že konzumace fermentovaného kozího mléka u zdravých jedinců prodlouží odolnost proti oxidaci lipoproteinu, sníží úroveň peroxidázových lipoproteinů a zvýší celkovou antioxidační aktivitu.

3.3.6.3 Metody pro analýzu antioxidační aktivity

Pro detekci antioxidantů je vyvinuta široká škála technik na základě různých antioxidačních mechanismů, které se odrážejí na multifunkčních vlastnostech antioxidantů. Tyto metody se zakládají na přímé interakci s reaktivní molekulou nebo jejich reaktivitou s kovovými ionty. Jejich účinky se poté sledují chemickým měřením.

Radikálové testy působí přímým měřením vodíku či přenosem elektronů z možných antioxidantů na volných radikálech v jednoduchém lipidovém systému. Přenos elektronů obvykle kvantifikuje antioxidační ekvivalent Trolox kapacita (TEAC) a FRAP. TEAC test spoléhá na snižování barevné reakce radikálů (Miller and Rice - Evans, 1996). FRAP vyšetření měří antioxidační kapacitu o snížení oxidu tripyridyltriazinu, složitého modrého komplexu (Benzie and Strain, 1999). Kvantifikační ztráty kyslíku a nenasycených mastných kyselin, vznik volných radikálů a tvorba oxidačních produktů mohou být nejhodnější v závislosti na stupni oxidace. Vyčerpání kyslíku spektroskopickou detekcí radikálů, buď přímo nebo nepřímo, se používá při sledování oxidace lipidů (Andersen and Skibsted, 2002).

3.4 Mléčný tuk

Mléčný tuk se skládá z více než 400 mastných kyselin s různým chemickým složením. Většina z těchto mastných kyselin je estericky vázána na trojsytný alkohol, glycerol (Jensen, 2002). Základními složkami mléčného tuku jsou triacylglyceroly (estery vyšších mastných kyselin a glycerolu), které tvoří 98 % z celkových lipidů mléka. Zbylé 2 % tvoří látky rozpustné v tucích, jako fosfolipidy, karotenoidy, cholesterol a lipofilní vitaminy (Smetana a kol., 2009). Převážná část mléčných lipidů se v mléce nachází ve formě tukových kuliček o velikosti 0,1 - 20 μm . Malá část lipidů se váže na kaseinových micelách a společně s kaseinem se sráží při kyselém srážení (Gajdůšek, 2003). Tukové kuličky v mléce nejsou volné (nejde o pouhou emulzi tuku v mléce), ale jsou obklopeny vrstvou povrchově aktivních

látek, membránových lipoproteinů a především vrstvou fosfolipidů, na které jsou adsorbovány bílkoviny (Kadlec a kol., 2002). Membrány tukových kuliček chrání tuk před splynutím ve velké útvary především svým elektrickým nábojem. Po delším skladování mléka se může na zahřátém mléce pozorovat volný tuk, u něhož je porušena membrána mechanickým zásahem nebo působením enzymů (lipáz). Syrové kravské mléko obsahuje nejméně 33 g tuku/1 l mléka (Kouřimská, 2007).

Z technologického hlediska má mléčný tuk nižší měrnou hmotnost než mléčná plazma. Při delším stání mléka dochází k vytvoření smetanové vrstvy na povrchu, takzvanému samovolnému vyvstávání mléčného tuku, jehož výsledkem je odtučnění mléka a získání smetany odstředováním. Jednou z možností jak tomu zabránit je homogenizace mléka během chlazení před svozem (Smetana a kol., 2009).

Složení mléčného tuku, zejména tedy zastoupení jednotlivých mastných kyselin, kterých je v tuku okolo 95 % a jež jsou tvořeny z 55 - 65 % kyselinami nasycenými a okolo 28 - 38 % kyselinami nenasycenými, rozhoduje o některých technologických vlastnostech mléčných výrobků (Smetana a kol., 2009). Typickou odlišností mléčného tuku oproti ostatním tukovým tkáním přežvýkavců je vysoký podíl nízkomolekulárních mastných kyselin, které dodávají mléčnému tuku typickou chuť a vůni. Syntéza těchto nízkomolekulárních mastných kyselin probíhá převážně v mléčné žláze (Gajdůšek, 2003). V letním období se v mléce u pasených zvířat zvyšuje podíl nenasycených mastných kyselin, což způsobuje lepší roztíratelnost másla a horší šlehatelnost pěny. Naopak v zimním období je v mléce vyšší obsah kyseliny stearové a palmitové, což má za následek horší roztíratelnost másla (Smetana a kol., 2009).

Množství, složení a vlastnosti mléčného tuku ovlivňuje výživa a zdravotní stav dojníc, plemenná příslušnost a stadium laktace (Gajdůšek, 2003).

3.4.1 Metody stanovení mléčného tuku

Chemická analýza v mlékárenském průmyslu užívá jak tradičních, tak moderních metod, od jednoduchých až po složité. Jde o metody stanovení tuku v mléce pomocí ultrazvuku, podle Rose - Gottlieba, podle Gerbera acidobutyrimetrickou metodou a metodou infračervené spektroskopie (Kouřimská, 2007).

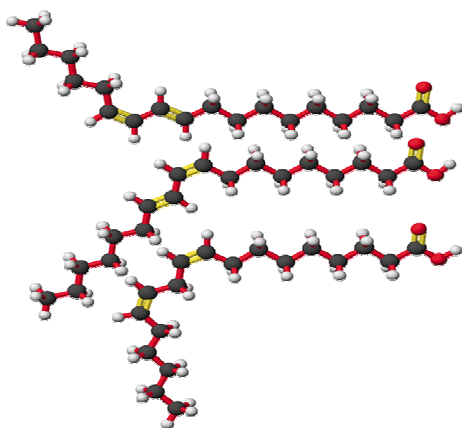
3.4.2 Konjugovaná kyselina linolová

Převládajícími polynenasycenými mastnými kyselinami přežvýkavců jsou kyseliny linolenová a linolová, jež pocházejí především z píce. Zároveň jsou hlavní složkou

olejnatých semen a koncentrátů, které se přidávají do krmných dávek dojnic (Lock and Baumann, 2004).

Konjugovaná kyselina linolová (CLA) je přirozená nenasycená mastná kyselina, jenž se vyskytuje ve zvýšené koncentraci především v tkáních přežvýkavců. Termínem CLA se označuje směs pozičních a geometrických izomerů kyseliny linolové, které obsahují konjugované, nenasycené dvojně vazby. Izomery CLA zahrnují konfigurace cis-cis, cis-trans a trans-trans s dvojnými vazbami v polohách 9 a 11 či 10 a 12. Izomer cis-9, trans-11 se nazývá kyselina bachorová (Coullomb et al., 2006).

Obrázek 2: Kyselina linolová



Zdroj: Bösze, 2008

Důležitým zdrojem CLA je metabolismus anaerobních bakterií v předžaludcích přežvýkavců. Růst mnoha anaerobních bakterií je zde inhibován vyššími mastnými kyselinami. Nenasycené mastné kyseliny s více dvojnými vazbami jsou pro bakterie zvláště toxické. Zřejmě proto jsou některé bachorové bakterie schopny nasytit dvojně vazby mastných kyselin hydrogenací. Koncentrace CLA v mléce se odráží od množství tuku přítomného v trávicím traktu. Hladiny CLA v mléce pasoucích se zvířat jsou výrazně vyšší ve srovnání s ustájenými zvířaty. Jednou z krmných strategií vedoucích ke zvýšení hladiny v tukové tkáni přežvýkavců je i zvýšení koncentrace prekurzoru CLA v krmivu. Nejvíce kyseliny linolové obsahují šroty cereálií a olejin, eventuálně oleje z nich získané. Jejich přídavek vede ke zvýšenému ukládání CLA v živočišných tukových tkáních. Přídavek lipidů však musí být kombinován s vhodnou dietou, aby nedocházelo k inhibici bachorových bakterií. K nejvyššímu zvýšení CLA dochází při kombinaci lipidů nenasycených mastných kyselin s dietou s vysokým obsahem vlákniny, naopak přídavek koncentrátů hladinu CLA v bachoru snižuje (Bösze, 2008).

3.4.2.1 Analýza izomerů CLA

Při analýze CLA je důležité oddělit a kvantifikovat geometrické a polohové izomery, aby se zabránilo další izomeraci. V současné době existuje značná skupina prací potvrzujících, že kyselina katalyzovaná transesterifikací může způsobit obecné izomerace se zvýšením relativního podílu trans izomerů CLA a jiných nežádoucích reakcí (Christie et al., 2001).

Plynová chromatografie spojená s Fourierovou transformací infračervené spektrometrie je vhodnou technikou pro stanovení cis, trans konfigurace dvojných vazeb. Použití všech těchto metod je časově náročné a pracné. Chemická ionizace tandemové hmotnostní spektrometrie se považuje za rychlejší postup (Mossoba et al., 1999).

3.4.2.2 Variace obsahu kyseliny linolové v mléčném tuku

U kravského mléka je tuk nejbohatším přírodním zdrojem kyseliny linolové. V čerstvém mléce jsou koncentrace v rozmezí od 2 do 53 mg CLA/g tuku, ale v běžném mléce nebo mléčných výrobcích se hladina pohybuje od 3 do 6 mg CLA/g tuku. Tyto hladiny vykazují sezónní fluktuace spojené s krmným režimem (Stanton et al., 2003). Široký rozsah těchto hodnot CLA lze přičíst různým faktorům, jako krmnému režimu, konzervaci píče, zeměpisné oblasti, stadiu laktace, plemenné příslušnosti, věku a zdravotnímu stavu zvířete (Park, 2009). Tím nejvýznamnějším faktorem, který však ovlivňuje obsah kyseliny linolové v mléčném tuku, je dieta. Vysoké hodnoty se často vyskytují u krmení z čerstvé pastvy, kde se často objevuje světlice barvířská (Lock and Bauman, 2004).

3.4.2.3 Rostlinné oleje

Rostlinné oleje z různých olejnatých semen mají zcela odlišné složení, a tudíž mají rozdílný vliv na koncentraci mléčného tuku (Stanton et al., 2003).

Lock a Garnsworthy (2002) prokázali, že krmení má vliv na zvýšení obsahu kyseliny linolové v mléce. Různé dietní oleje, jako například arašídový olej s vysokým obsahem kyseliny olejové a slunečnicový olej s vysokým obsahem kyseliny linolové, prokazují, že se mohou vyvinout různé stupně obohacení mléčného tuku. Krmení lněným semenem zvyšuje obsah kyseliny linolové, ale účinky surovin v extrudované formě neprokazují žádné významné rozdíly (Gonthier et al., 2005).

3.4.2.4 Technologické účinky CLA

Vliv výrobních podmínek na obsah kyseliny linolové v mléčných výrobcích studuje řada autorů. Modifikovaný profil může ovlivnit několik fyzikálních a chemických vlastností mléka a mléčných výrobků. Je dobře známo, že vysoký obsah nenasycených mastných

kyselin zvyšuje riziko oxidace a příchutě. Studie na upraveném mléku nenaznačují velký problém, pokud se koncentrace kyseliny linolové mnohonásobně nezvýší ve srovnání s konvenčním mlékem (Avramis et al., 2003).

3.4.2.5 Fyziologické účinky CLA

Různé izomery kyseliny linolové nemusí nutně vykazovat stejné biologické účinky (Martin and Valeille, 2002). Důkazy z pokusů na zvířatech podporují pozitivní vliv kyseliny linolové na složení těla, snížení tělesné hmotnosti, snížení tukové tkáně a relativní nárůst svalové hmoty (Roche et al., 2001).

Výsledky z lidských studií nepodporují žádnou váhovou ztrátu vyvolávanou účinkem kyseliny linolové, ale ukazují na účinky spojené se zvyšováním množství svalové tkáně, stimulací imunogenního systému a potlačením potravní alergie (Larsen et al., 2003). CLA nemá významný vliv na hodnoty LDL a HDL cholesterolu. Její vyšší hladina může redukovat lipogenezi, zvýšit lipolýzu v tukové tkáni, snížit příjem potravy a zvýšit rychlost metabolismu (Terpstra, 2004).

3.5 Laktóza

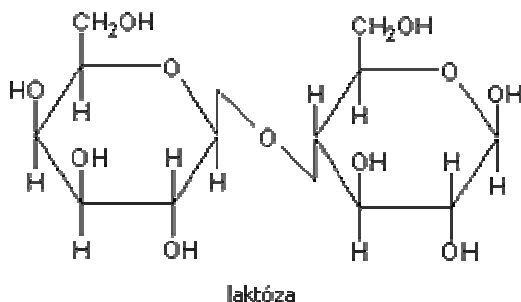
Laktóza (4-O- β -galaktopyranosyl-D-glukopyranóza), jejíž vzorec je na obrázku 3, je hlavním zástupcem sacharidů v mléce vyskytujícího se ve formě disacharidu, tvořeného ze dvou hexóz, D-glukózy a D-galaktózy spojenými β -glykosidovou vazbou (Kadlec a kol., 2002). Vyskytuje se specificky jen v mléce, proto je také nazývána mléčný cukr a nebyla nalezena v žádných dalších tělních tekutinách ani orgánech živočišného organismu (Gajdůšek, 2003). Asymetrický charakter prvního uhlíku na glukózovém zbytku vytváří ve vodných roztocích modifikace alfa a beta. Laktóza je schopná otáčet rovinu polarizovaného světla a existuje ve formě pravotočivé a levotočivé (Zadrazil, 2002).

Laktóza je rozpuštěna v přítomné vodě, dodává mléku nasládlou chuť a s ostatními rozpustnými složkami působí na osmotický tlak v mléce. Rozpustnost laktózy je v porovnání s ostatními sacharidy nízká, a proto její hodnota rozpustnosti při teplotě prostředí je jen 10 % sacharózy (Ryder, 1988). Její nejvyšší obsah je v mateřském mléce v rozmezí od 5,5 do 7,0 %, v kravském mléce činí 4 až 5 % (Gänzle, 2008). Její obsah ve výrobcích připravených homofermentativním mléčným kvašením, jenž se využívá při výrobě jogurtů, kefiru nebo acidofilního mléka, je však nižší než ve sladkém mléce (Velíšek, 2002).

Laktóza se využívá jako zdroj energie. Nevýhodou jejího příjmu společně s galaktózou je to, že vede k výraznému zvýšení hladiny glukózy v krvi. Laktóza se

hydrolyzuje na příslušné monosacharidy enzymem laktázou, kterou produkují bakterie mléčného kvašení, jež štěpí laktózu až na kyselinu mléčnou (Velíšek, 2002).

Obrázek 3: Laktóza



Zdroj: Velíšek, 2002

Laktóza je substrátem pro rozvoj řady bakterií, kterému je zapotřebí na jedné straně zabránit, v případě fermentovaných mléčných výrobků a sýrů je ovšem využití laktózy bakteriemi mléčného kvašení základním technologickým procesem (Kadlec a kol., 2002).

Jedná se o redukující cukr, který při tepelném ošetření reaguje s volnými aminoskupinami bílkovin, především lysinem, za vzniku Maillardových reakcí, jejichž produkty způsobují změnu chuti a hnědnutí sterilovaného mléka. Má omezenou rozpustnost, a proto dochází ve výrobcích jako je slazené kondenzované mléko nebo mražené smetanové krémy k její krystalizaci. Při výrobě se musí zabránit pomalé tvorbě velkých krystalů, jejichž velikost nad 10 μm způsobuje písčítost výrobku (Kadlec a kol., 2002). Laktóza je výhodná jako prebiotikum, jako substrát schopný selektivně podporovat růst probiotických bakterií, hlavně bifidobakterií a laktobacilů, jež dokáží laktózu štěpit, využít ji pro svůj růst, přičemž se vytváří výživově významné látky jako jsou vitaminy B₂, B₁₂ a kyseliny s krátkým řetězcem. Pro některé mikroorganismy je laktóza bez předchozího štěpení nevyužitelná. Růst laktobacilů a potlačování růstu patogenních mikroorganismů je podporován kyselým prostředím v důsledku vznikající kyseliny mléčné (Suková, 2006).

3.6 Oligosacharidy

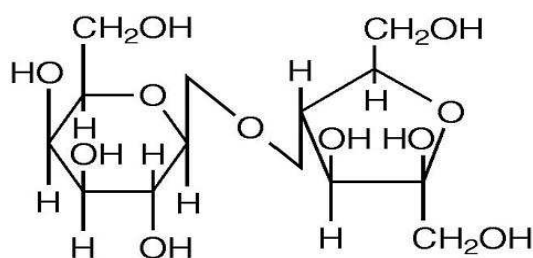
Oligosacharidy různých typů jsou přirozenou složkou řady běžných potravin jako mléko, med, ovoce a zelenina (Kvasničková, 2000). Mezi oligosacharidy se řadí oligomery monosacharidů, u nichž jsou na sebe vázány dvě a nejvýše deset molekul monosacharidů glykosidovou vazbou (Velíšek, 2002). Oligosacharidy, jejichž funkční skupiny nejsou

chráněny, se dělí na neredukující cukry, které nepodléhají v rozpouštědle žádným změnám, a redukující cukry, jenž podléhají při rozpouštění tautomerii, která rychle vytváří rovnováhu mezi odlišnými strukturami (Čopíková, 1997). V mléce se vyskytuje velké množství volných i vázaných oligosacharidů, které jsou jeho přirozenou složkou. Obvykle se skládají z běžných monosacharidů řady D, mezi něž patří glukóza, fruktóza, galaktóza a manóza, které se seskupují v různých kombinacích (Velíšek, 2002). Oligosacharidy potravinářské kvality nejsou jednodruhové čisté produkty, ale směsi obsahující oligosacharidy o různém stupni polymerizace. Jsou rozpustné ve vodě a sladivost se pohybuje v rozmezí 30 - 60 % sladivosti sacharózy. Sladivost závisí na chemické struktuře a molekulové hmotnosti přítomných oligosacharidů ve směsi. Mají vyšší viskozitu, čímž se zlepšuje jejich vjem v ústech, kde vytváří pocit plnosti (Kvasničková, 2000). Oligosacharidy typu laktulózy, laktitolu, laktosacharózy, galaktooligosacharidů a galaktózy mohou být vyráběny z laktózy, která může být využita jako prebiotikum (Suková, 2006).

3.6.1 Laktulóza

Laktulóza, jejíž vzorec je na obrázku 4, se získává z laktózy v alkalickém prostředí pomocí izomerace (Velíšek, 2002). Jako vedlejší produkt vzniká galaktóza a epilaktóza (Gänzle, 2008). Je to nestravitelný disacharid, složený z galaktózy a fruktózy. Je růstovým faktorem pro bifidobakterie, má nízkou energetickou hodnotu a je vhodná do výrobků pro diabetiky (Gajdůšek, 2002). Má slabé laxativní účinky a je poněkud sladší. Důvodem jeho sladkosti je obsah 0,6 sladivosti sacharózy (Velíšek, 2002).

Obrázek 4: Laktulóza



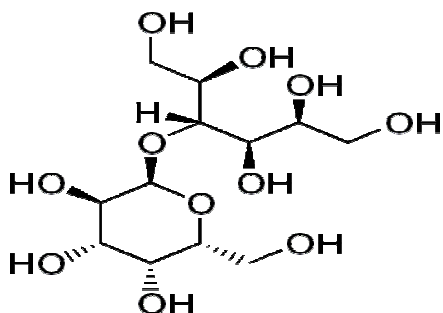
Zdroj: Velíšek, 2002

3.6.2 Laktitol

Laktitol, jehož vzorec je uveden na obrázku 5, vzniká hydrogenací laktózy a je nejvýznamnějším alditolem odvozeným od disacharidů. Nemá vliv na hladinu krevního cukru a jeho metabolické odbourávání nezávisí na inzulinu. Vykazuje silné laxativní účinky a jeho

sladivost je v rozmezí 0,3 - 0,4 ve srovnání se sacharózou. Je používán v potravinách pro diabetiky a jako sladidlo v dietě (Velíšek, 2002).

Obrázek 5: Laktitol



Zdroj: Velíšek, 2002

3.6.3 Laktosacharóza

Laktosacharóza je trisacharid, který se získává z laktózy a sacharózy za použití transfruktosylázové aktivity β -fruktofuranosidázy. Má bifidogenní účinek a ovlivňuje růst střevních klostridií (Velíšek, 2002).

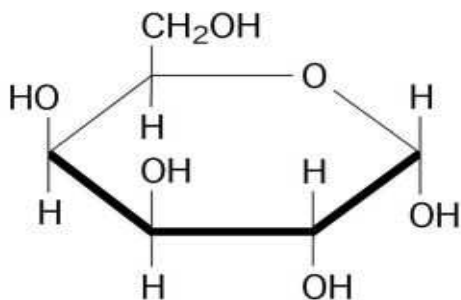
3.6.4 Galaktooligosacharidy

Galaktooligosacharidy (GOS) se získávají z laktózy za využití galaktosyltransferázové aktivity enzymu β -galaktosidázy, která se projevuje v roztocích o vyšší koncentraci laktózy. Tyto oligosacharidy obsahují 2 - 5 molekul galaktózy spojených vazbou β (1 - 6) nebo též vazbou β (1 - 4) (Velíšek, 2002). Galaktooligosacharidy mají vyšší molekulovou hmotnost ve srovnání s monosacharidy a zvyšují viskozitu výrobku (Crittenden and Playne, 1996).

3.6.5 Galaktóza

Galaktóza, jejíž vzorec se nachází na obrázku 6, se nikde jinde než v mléce nevyskytuje. Od glukózy se liší sterickým uspořádáním na čtvrtém atomu uhlíku, čímž dochází ke vzniku cis konfigurace vodíkových atomů (Zadražil, 2002). Galaktóza se hydrolyzuje kyselinami nebo enzymem laktázou na ekvimolární směs glukózy a galaktózy, která je dvakrát sladší než laktóza, neboť galaktóza má asi 0,4 - 0,6 sladivosti sacharózy. Hydrolyzát se připravuje jako sirup, případně se z něj získává po fermentaci galaktóza (Velíšek, 2002).

Obrázek 6: Galaktóza



Zroj: Velíšek, 2002

3.6.6 Laktózová intolerance

Laktózová intolerance je částečná nebo úplná neschopnost trávicího traktu zpracovávat laktózu a jde o nealergickou přecitlivělost na kravské mléko (Frühauf, 2003). Jsou známe dva hlavní typy laktózové intolerance rozšířené v populaci celého světa. Jde o typ primární, kdy dochází k poruše trávení, což je způsobeno poklesem β -galaktosidázy v dětství nebo v dospívání, a takzvaný sekundární typ (Park, 2009). Podstatou je nedostatek enzymu laktázy, která štěpí disacharid na monosacharidy galaktózu a glukózu. Pokud se hodnota enzymu laktázy sníží v tenkém střevě, dojde k laktózové intoleranci. Nestrávenou laktózu v tlustém střevě přemění bakterie na oxid uhličitý, vodík a vodu. V současnosti jí trpí přibližně každý šestý člen populace, přičemž v jižních evropských národech a u Asiatů společně s Afroameričany je její četnost mnohonásobně vyšší než u obyvatel severu Evropy. Četnost laktózové intolerance mléčného cukru významně stoupá s věkem. U předškolních dětí je vzácná, kdežto u lidí ve vyšším věku jí trpí většina populace (Frühauf, 2003). Typickými příznaky laktózové intolerance po požití mléka jsou velké bolesti břicha, které způsobují plynatost a křeče. Poté nastávají nepříjemné průjmy a zvracení (Shortt and O'Brien, 2004). Pánek (2002) zjistil, že laktózová intolerance může zmizet, pokud je tělo schopno po pravidelném přijímání mléka vytvářet β -galaktosidázu.

3.7 Vedlejší složky mléka

Tato část práce se zaměřuje na obsah vedlejších bioaktivních složek obsažených především v kravském mléce. Jedná se zejména o minerální látky, vitaminy, enzymy, hormony a jejich význam v organismu člověka.

3.7.1 Minerální látky

Hlavními konstitučními prvky organických látek jsou organogenní prvky, mezi které patří například uhlík, kyslík, fosfor a dusík. Dalšími prvky jsou minerální látky, které se

definují jako prvky obsažené v popelu nebo též jako prvky, které zůstávají ve vzorku po úplné oxidaci organického podílu na oxid uhličitý a vodu. Podle množství se rozdělují na prvky majoritní (sodík, draslík, vápník, fosfor), minoritní (železo, zinek) a stopové (hliník, bor, kobalt, jód). Mohou se také dělit dle fyziologického významu na prvky esenciální, neesenciální (lithium, brom) a toxické (rtuť, kadmium, olovo). U živočišných materiálů je pro obsah minerálních látek rozhodující výživa, stáří a zdravotní stav zvířete (Velíšek, 2002).

V mléce se minerální látky vyskytující se v koloidní formě váží na některé organické součásti mléka nebo se vyskytují ve formě mléčného séra. Epitelové buňky mléčné žlázy mají schopnost shromažďovat minerální látky, i když rozpustné soli přecházejí pravděpodobně přímo z krve. Z nutričního hlediska regulují osmotický tlak, koncentraci vodíkových iontů a ovlivňují nabobtnání koloidů. Mají funkci aktivátoru enzymů a jsou důležité pro udržení acidobazické rovnováhy v organismu (Gajdůšek, 2003).

Kravske mléko je bohaté na vápník, draslík a fosfáty. Vápník a fosfor jsou v mléce přítomny v roztoku, dále ve formě koloidního kalcium - fosfátu (asi 50 % vápníku a 40 % fosforu) a konečně vázány na kaseinový komplex. Mléko obsahuje značné množství stopových prvků (měď, zinek, hořčík a železo), které se vyskytují v organických sloučeninách, jež jsou vázány na membrány tukových kuliček. Kaseinové micely na sebe váží 60 - 70 % železa. Obsah minerálních látek v mléce není významný jen z hlediska nutričního, ale hraje významnou roli pro udržení pH mléka (Gajdůšek, 2003).

3.7.2 Vitaminy

Vitaminy jsou organické nízkomolekulární sloučeniny syntetizované autotrofními organismy a jsou to látky s různou chemickou strukturou. Jsou nezbytné pro látkovou přeměnu a regulaci metabolismu člověka. Nejsou zdrojem energie ani stavebním materiálem, ale mají funkci jako součást katalyzátorů biochemických reakcí, a proto se označují jako exogenní esenciální biokatalyzátory (Velíšek, 2002).

Dle Parka (2009) jsou vitaminy v mléce rozděleny podle rozpustnosti do dvou skupin: vitaminy rozpustné v tucích (hydrofilní vitaminy) a vitaminy rozpustné ve vodě (lipofilní vitaminy).

3.7.2.1 Vitaminy rozpustné v tucích

Vitaminy rozpustné v tucích jsou obsaženy v mléčném tuku. Jejich obsah v mléce je značně variabilní a ovlivněn řadou intravitálních činitelů, jimiž jsou například výživa či způsob chovu. Mezi tyto vitaminy patří vitaminy A, D, E, K (Zadražil, 2002).

Tabulka IV: Přehled vitaminů rozpustných v tucích

Vitamin	Denní potřeba	Příznaky nedostatku	Příznaky předávkování
A	1,0 mg	šeroslepost, suchost očí, infekce sliznic	nespavost, neklid, žluté zbarvení dlaní
D	10 µg	křivice, měknutí kostí	ztráty vápníku do moči
E	10 mg	porucha svalů a vidění, rozpad krve	nepopsáno
K	150 µg	zvýšená krvácivost	tendence k tvorbě krevních sraženin

Zdroj: Velíšek, 2002

3.7.2.2 Vitaminy rozpustné ve vodě

Vitaminy rozpustné ve vodě se nachází v odstředěném mléce. Jejich obsah je poměrně stabilní a vliv intravitálních činitelů je malý. Mezi tyto vitaminy patří thiamin, riboflavin, pyridoxin, kyselina pantothenová, kyselina listová, biotin, kyselina askorbová a kobalamin. V převážném množství jsou vitaminy skupiny B syntetizovány bacherovou mikroflórou. S výjimkou vitamínu B₁₂ se nemohou ve významnější míře v organismu ukládat a musí se proto průběžně doplňovat (Zadrazil, 2002).

Tabulka V: Přehled vitaminů rozpustných ve vodě

Vitamin	Denní potřeba	Příznaky nedostatku
B₁ (thiamin)	1 - 2 mg	svalová slabost, selhání srdce
B₂ (riboflavin)	1,5 - 2 mg	chudokrevnost, záněty kůže
B₃ (niacin)	15 - 20 mg	slabost, poruchy intelektu
B₆ (pyridoxin)	1,5 - 2 mg	průjmy, nervové poruchy
B₁₂ (kobalamin)	2 - 3 mg	únava, koordinace chůze
Kyselina listová	180 - 400 µg	anémie, ateroskleróza
Kyselina pantothenová	5 - 10 mg	vypadávání vlasů
Biotin	75 µg	nevolnost, deprese
C (kyselina askorbová)	60 mg	kurděje, slabost, únava

Zdroj: Velíšek, 2002

3.7.3 Enzymy

V kravském mléce je přítomen velký počet enzymů, které jsou syntetizovány v mléčné žláze, a některé se dostávají do mléka z krve. Kromě nativních enzymů (peroxidáza, lipáza, kataláza, fosfatáza) mléko obsahuje i mikrobiální enzymy z mikroorganismů v něm přítomných. Některé enzymy jsou v mléce koncentrovány v povrchových vrstvách tukových kuliček a přecházejí do smetany, jiné naopak jsou vázány na bílkoviny mléka a společně s nimi se i sráží. Záhřevem mléka dochází k denaturaci a inaktivaci enzymů (Zadražil, 2002). Enzym laktoperoxidáza má značnou tepelnou stabilitu. Podle přítomnosti a nepřítomnosti laktoperoxidázy v pasterovaném mléce se ověřuje správnost provedení vysoké pasterace mléka nebo smetany (Ingr, 2003).

3.7.4 Hormony

Žlázy s vnitřní sekrecí produkují chemické sloučeniny, které secernují do krve pro transport do různých cílových tkání. Sekrety těchto tkání se nazývají hormony, které katalyzují a řídí rozmanité metabolické pochody v živém organismu. Působí jako katalyzátory, podobající se enzymům, poněvadž jsou potřebné ve velmi malém množství a nejsou během svého katalytického působení spotřebovány. Od enzymů se liší tím, že se vytváří v jiných orgánech než v těch, v nichž nakonec působí. Poněvadž mléko je snadno přístupný substrát, provádí se jejich stanovení nejen v krvi a moči, ale i v mléce (Gajdůšek, 2003).

4. Závěr

Jako téma své bakalářské práce jsem si zvolil bioaktivní látky hlavních složek mléka a jejich stanovení. V první části práce jsem se snažil nejprve obecně definovat mléko jako nutričně významný produkt pro výživu lidstva a poté popsat odlišnosti ve složení mléka od různých savců. Zjistil jsem, že kozí mléko obsahuje větší množství nenasycených mastných kyselin i nižších mastných kyselin než mléko kravské. Ve druhé části práce jsem se zaměřil na problematiku hlavních složek mléka, zejména na bílkoviny. Dozvěděl jsem se, že pomocí sladkého srážení za přispění syřidla chymosinu se vyrábí většina sýrů a za použití kyselého srážení vznikají tvarohy. Syrovátkové bílkoviny mají vyšší nutriční hodnotu než kasein. Strava doplněná o β -laktoglobulin zvyšuje ochranu proti vývoji nádoru na zadní stěně střevní. α -laktalbumin je plně syntetizovaný mléčnou žlázou, kde působí jako koenzym pro biosyntézu laktózy. Laktoferin se používá jako výživa pro sportovce a jako nutriční zdravotní doplněk. U mléčného tuku a mléčného cukru jsem zaznamenal jejich nutriční a technologický význam a vlastnosti. Laktóza je vhodná jako prebiotikum, jako substrát schopný podporovat růst bifidobakterií a laktobacilů, jenž dokáží laktózu štěpit, využít ji pro svůj růst, přičemž se vytváří výživově významné látky, jako jsou organické kyseliny s krátkým řetězcem a vitaminy.

Lidé by měli jíst zdravou, pestrou a vyváženou stravu bohatou především na bílkoviny a vitaminy a snažit se omezit hlavně příjem tučných výrobků, které zvyšují hladinu cholesterolu v krvi a způsobují kardiovaskulární onemocnění.

5. Seznam použité literatury

- Abd El-Salam, M. H., El-Shibini, S., & Buchheim, W. 1996. Characteristics and potential uses of the casein macropeptide. *International Dairy Journal*, 6, 327–341.
- Abe, H., Saito, H., Miyakawa, H., Tamura, Y., Shimamura, S., Nagao, E., et al. 1991. Heat stability of bovine lactoferrin at acidic pH. *Journal of Dairy Science*, 74, 65–71.
- Ahmed, J., & Ramaswamy, H. S. 2003. Effect of high-hydrostatic pressure and temperature on rheological characteristics of glycomacropeptide. *Journal of Dairy Science*, 86, 1535-1540.
- Andersen, M., & Skibsted, L. 2002. Detection of early events in lipid oxidation by electron spin resonance spectroscopy. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104, 65–68.
- Auerbach, B. J., Kiely, J. S., & Cornicelli, J. A. A. 1992. A spectrophotometric microtiter-based assay for the detection of hydroperoxy derivatives of linoleic acid. *Analytical Biochemistry*, 201, 375–380.
- Avramis, C. A., Wang, H., McBride, B. W., Wright, T. C., & Hill, A. R. 2003. Physical and processing properties of milk, butter, and Cheddar cheese from cows fed supplemental fish meal. *Journal of Dairy Science*, 86, 2568–2576.
- Ayers, J. S., Coolbear, K. P., Elgar, D. F., & Pritchard, M. 2003. Process for isolating glycomacropeptide from dairy products with a phenylalanine impurity of 0.5% w/w. US Patent 6,555,659 B1.
- Benzie, I., & Strain, J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 299, 15–27.
- Berrocal, R., & Neeser, J. R. 1993. Production of k-caseino-glycomacropeptide. US Patent 5,216,129.
- Bösze, Z. 2008. Bioactive components of milk. Springer Science + Business Media, LLC. New York. s. 498. ISBN 978-0-387-74086-7.
- Brinkworth, G. D., & Buckley, J. D. 2003. Concentrated bovine colostrum protein supplementation reduces the incidence of selfreported symptoms of upper respiratory tract infection in adult males. *European Journal of Nutrition*, 42, 228–232.

- Bruck, W. M., Graverholt, G., & Gibson, G. R. 2003a. A two-stage continuous culture system to study the effect of supplemental alactalbumin and glycomacropeptide on mixed populations of human gut bacteria challenged with enteropathogenic *E. coli* and Salmonella serotype Typhimurium. *Journal of Applied Microbiology*, 95, 44–53.
- Chatterton, D. E. W., Smithers, G., Roupas, P., and Brodkorb, A. 2006. Bioactivity of β – lactoglobulin and α - lactalbumin - technological implications for processing. *International Dairy Journal* 16: 1290 – 1240.
- Collomb, M., Schmid, A., Sieber, R., Wechsler, D., and Ryhänen, E. L. 2006. Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *Internacional Dairy Journal* 16: 1347 – 1361.
- Creamer, L. K., & Sawyer, L. 2003. b-Lactoglobulin. In H. Roginski, J. W. Fuquay, & P. F. Fox (Eds.), *Encyclopedia of dairy sciences*. New York: Academic Press.
- Crittenden, R. G., Playne, M. J. 1996. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends in Food Science & Technology* 7: 353-361.
- Čopíková, J. 1997. *Chemie a analytika sacharidů*. VŠCHT. Praha. s. 104. ISBN: 80-7080-306-1.
- Davidson, G. P., Daniels, E., Nunan, H., Moore, A. G., & Whyte, P. B. D. 1989. Passive immunisation of children with bovine colostrum containing antibodies to human rotavirus. *Lancet*, 2, 709–712.
- Delfour, A., Jolles, J., Alais, C., & Jolles, P. 1965. Caseino-glycopeptides: Characterization of a methionin residue and of the N-terminal sequence. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 19, 452–455.
- Dittrich, K., Leitzmann C. 1999. *Bioaktivní látky proti rakovině a infarktu*. Fontána. Olomouc. s. 101. ISBN 80-86179-51-6
- Doležal, J., Doležal, P., Vyskočil, I. 2006. Význam mleziva a faktory ovlivňující jeho složení. *Náš chov*. Profi Press, s.r.o. Praha. s. 34 – 37.
- Dostálová, J. 2006. Kozí mléko. *Výživa a potraviny*. č. 1, s. 8 – 9.
- Earnest, C. P., Jordan, A. N., Safir, M., Weaver, E., & Church, T. S. 2005. Cholesterol-lowering effects of bovine serum immunoglobulin in participants with mild hypercholesterolemia. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 792–798.
- Elfstrand, L., Lindmark - Mansson, H., Paulsson, M., Nyberg, L., & Akesson, B. 2002. Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing. *International Dairy Journal*, 12, 879–887.

- Etzel, M. R. 2004. Manufacture and use of dairy protein fractions. *Journal of Nutrition*, 134, 996S–1002S.
- Etzel, M. R. 2001. Production of substantially pure k-casein macropeptide. US Patent 6,168,823.
- Farrell, H. M., Jimenez-Flores, R., Bleck, G. T., Brown, E. M., Butler, J. E., Creamer, L. K., et al. 2004. Nomenclature of the proteins of cows' milk - sixth revision. *Journal of Dairy Science*, 87, 1641–1674.
- Fosset, S., Fromentin, G., Gietzen, D. W., Dubarry, M., Huneau, J. F., Antoine, J. M., et al. 2002. Peptide fragments released from Phe-caseinomacropeptide in vivo in the rat. *Peptides*, 23, 1773–1781.
- Frühauf, P., Nevoral, J., Paulová, M. 2003. *Výživa novorozenců a kojenců*, Solen, s.r.o. pro Nestle Česko s.r.o., s. 80. ISBN 80-239-2011-1.
- Gajdůšek, S. 2003 *Laktologie*. MZLU. Brno. s. 78. ISBN 80-7157-657-3.
- Gajdůšek, S. 2002 *Mlékařství II*. MZLU. Brno. s. 142. ISBN 80-7157-342-6.
- Gänzle, M. G., Hasse, G., Jelen, P. (2008): Lactose: Crystallization, hydrolysis and valueadded derivatives. *International Dairy Journal* 18: 685-694.
- Gingerich, D. A., & McPhillips, C. A. 2005. Analytical approach to determination of safety of milk ingredients from hyperimmunized cows. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 41, 102–112.
- Gonthier, C., Mustafa, A. F., Ouellet, D. R., Chouinard, P. Y., Berthiaume, R., & Petit, H. V. 2005. Feeding micronized and extruded flaxseed to dairy cows: Effects on blood parameters and milk fatty acid composition. *Journal of Dairy Science*, 88, 748–756.
- Guggenheim, B., Schmid, R., Aeschlimann, J. M., Berrocal, R., & Neeser, J. R. 1999. Powdered milk micellar casein prevents oral colonization by *Streptococcus sobrinus* and dental caries in rats: A basis for the caries-protective effect of dairy products. *Caries Research*, 33, 446–454.
- Gustafson, D. R., McMahon, D. J., Morrey, J., & Nan, R. 2001. Appetite is not influenced by a unique milk peptide: Caseinomacropeptide (CMP). *Appetite*, 36, 157–163.
- Haertlé, T., & Chobert, J. M. 1999. Recent progress in processing of dairy proteins: A review. *Journal of Food Biochemistry*, 23, 367–407.
- Hambraeus, L., & Lonnerdal, B. 2003. Nutritional aspects of milk proteins. In P. F. Fox, & P. L. H. M. McSweeney (Eds.), *Advanced dairy chemistry (I. Proteins 3rd edition, Part B)*. New York, USA: Kluwer.

- Hoelzl, C., Bichler, J., Ferk, F., Simic, T., Nersesyan, A., Elbling, L., et al. 2005. Methods for the detection of antioxidants which prevent age related diseases: A critical review with particular emphasis on human intervention studies. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 56, 49–64.
- Hoerr, R. A., & Bostwick, E. F. (2002). Commercializing colostrum based products: A case study of Galagen Inc. *IDF Bulletin*, 375, 33–46.
- Chabance, B., Marteau, P., Rambaud, J. C., Migliore-Samour, D., Boynard, M., Perrotin, P., et al. 1998. Casein peptide release and passage to the blood in humans during digestion of milk or yogurt. *Biochimie*, 80, 155–165.
- Chatterton, D. E. W. 2001. a-Lactalbumin: An ingredient for enriching infant formula. *Industrial Proteins*, 9(3), 13–15 (Publisher: Senter IOP).
- Chen, H. M., Muramoto, K., Yamauchi, F., Fujimoto, K., & Nokihara, K. 1998. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 49–53.
- Chierici, R. 2001. Antimicrobial actions of lactoferrin. *Advances in Nutritional Research*, 10, 247–269.
- Chobert, J. M., Touati, A., Bertrandharb, C., Dalgalarondo, M., & Nicolas, M. G. 1989. Solubility and emulsifying properties of k-casein and its caseinomacropptide. *Journal of Food Biochemistry*, 13, 457–473.
- Christie, W. W., Sábédio, J. L., & Juanéda, P. 2001. A practical guide to the analysis of conjugated linoleic acid (CLA). *Inform*, 12, 147–152.
- Ingr, I. 2003. *Zpracování zemědělských produktů*. MZLU. Brno. s. 249. ISBN 8071575208
- Kadlec, P. a kolektiv. 2002. *Technologie potravin II*. 1. vydání. VŠCHT Praha, s. 236. ISBN 80-7080-510-2.
- Kelly, K. S. 2003. Bovine colostrums: A review of clinical uses. *Alternative Medicine Review*, 8, 378–394.
- Koga, T., Oho, T., Shimazaki, Y., & Nakano, Y. 2002. Immunization against dental caries. *Vaccine*, 20, 2027–2044.
- Korhonen, H., Marnila, P., & Gill, H. 2000. Bovine milk antibodies for health: a review. *British Journal of Nutrition* 84 (Suppl.1): 135 – 146.
- Korhonen, H. 2004. Isolation of immunoglobulins from colostrum. *IDF Bulletin*, 389, 78–81.
- Kouřimská, L. 2007. *Úvod do mlékařství*. ČZU. Praha. s. 99. ISBN 978-80-213-1665-2

- Kramer, M., Parizza, W. & Nelson, G. J. Advances in conjugated linoleic acid research. Champaign, IL, USA: AOCS Press. Vol. 1. pp. 126–140.
- Kushibiki, S., Hodate, K., Kurisaki, J., Shingu, H., Ueda, Y., Watanabe, A., et al. 2001. Effect of b-lactoglobulin on plasma retinol and triglyceride concentrations, and fatty acid composition in calves. *Journal of Dairy Research*, 68(4), 579–586.
- Kullisaar, T., Songisepp, E., Mikelsaar, M., Zilmer, K., Vihalemm, T., & Zilmer, M. 2003. Antioxidative probiotic fermented goats' milk decreases oxidative stress-mediated atherogenicity in human subjects. *British Journal of Nutrition*, 90, 449–456.
- Kvasničková, A. 2000. Sacharidy pro funkční potraviny. ÚZPI Praha. Praha. s. 82. ISBN: 80-7271-001-X.
- Lilius, E. M., & Marnila, P. 2001. The role of colostral antibodies in prevention of microbial infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 14, 295–300.
- Livney, Y. D., Verespej, E., & Dalgleish, D. G. 2003. Steric effects governing disulfide bond interchange during thermal aggregation in solutions of β -lactoglobulin B and α -lactalbumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), 8098–8106.
- Liu, Q., Raina, A., Smith, M., Sayre, L., & Perry, G. 2003. Hydroxynonenal, toxic carbonyls, and Alzheimer disease. *Molecular Aspects of Medicine*, 24, 305–313.
- Lock, A. L., Bauman, D. E. 2004. Modifying Milk Fat Composition of Dairy Cows to Enhance Fatty Acids Beneficial to Human Health, vol. 39, p. 1197–1206
- Lock, A. L., & Garnsworthy, P. C. 2002. Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows' milk. *Animal Science*, 74, 163-176.
- Loimaranta, V., Carlen, A., Olsson, J., Tenovuo, J., Syvaöja, E. L., & Korhonen, H. 1998. Concentrated bovine colostral whey proteins from *Streptococcus mutans/streptococcus* immunized cows inhibit the adherence of *Strep. mutans* and promote the aggregation of *mutans streptococci*. *Journal of Dairy Research*, 65, 599–607.
- Manso, M. A., & López-Fandino, R. 2004. k-casein macropeptides from cheese whey: Physicochemical, biological, nutritional, and technological features for possible uses. *Food Reviews International*, 20, 329–355.
- Markus, C. R., Olivier, B., Panhuysen, G. E., Van Der Gugten, J., Alles, M. S., Tuiten, A., et al. 2000. The bovine protein α -lactalbumin increases the plasma ratio of tryptophan to the other large neutral amino acids, and in vulnerable subjects raises brain serotonin

- activity, reduces cortisol concentration, and improves mood under stress. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6), 1536–1544.
- Markus, C. R., Olivier, B., Pamhuysen, G. E., Van der Gugten, J., Alles, M. S., Tuiten, A., et al. 2000. The bovine protein α - lactalbumin increases the plasma ratio of tryptophan to the other large neutral amino acids, and in vulnerable subjects raises brain serotonin activity, reduces cortisol concentration and improves mood under stress. *American Journal of Clinical Nutrition* 75: 1051 – 1056.
- Martin-Diana, A. B., Pelaez, C., & Requena, T. 2004. Rheological and structural properties of fermented goat's milk supplemented with caseinomacropptide and whey protein concentrate. *Milchwissenschaft*, 59, 383–386.
- Martin, J. C., & Valeille, K. 2002. Conjugated linoleic acids: all the same or to everyone its own function? *Reproduction Nutrition Development*, 42, 525–536
- McIntosh, G. H., Regester, G. O., Le Leu, R. K., Royle, P. J., & Smithers, G. W. 1995. Dairy proteins protect against dimethylhydrazineinduced intestinal cancers in rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 125(4), 809–816.
- Mehra, R., & Kelly, P. M. (2004). Whey protein fractionation using cascade membrane filtration. *IDF Bulletin*, 389, 40–44.
- Mero, A. 1995. A dietary supplement based on bovine colostrum increases the serum IGF-I concentration in male athletes during a short-term strength and speed training period. In Congress abstract: The eighth FIMS European Congress of sport medicine, Granada, Spain,
- Miller, N., & Rice-Evans, C. 1996. Spectrophotometric determination of antioxidant activity. *Redox Report*, 2, 161–171.
- Mollé, D., & Léonil, J. 2005. Quantitative determination of bovine k-casein macropptide in dairy products by liquid chromatography/electrospray coupled to mass spectrometry (LC-ESI/MS) and liquid chromatography/electrospray coupled to tandem mass spectrometry (LC-ESI/MS/MS). *International Dairy Journal*, 15, 419–428.
- Mossoba, M. M., Yurawecz, M. P., Kramer, J. K. G., Eulitz, K. D., Fritsche, J., Sehat, N., et al. 1999. Confirmation of conjugated linoleic isomers by capillary gas chromatography-Fourier-Transform infrared spectroscopy. In M. P. Yurawecz, M. M. Mossoba, J. K. G.
- Oevermann, A., Engels, M., Thomas, U., & Pellegrini, A. 2003. The antiviral activity of naturally occurring proteins and their peptide fragments after chemical modification. *Antiviral Research*, 59(1), 23–33.

- Okada, Y., & Okada, M. 1998. Scavenging effect of water soluble proteins in broad beans on free radicals and active oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 401–406.
- Park, Y. W. 2009. *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. Wiley-Blackwell. USA. p. 426. ISBN: 978-0-8138-1982-2.
- Pedersen, N. L. R., Nagain-Domaine, C., Mahe, S., Chariot, J., Roze, C., & Tome, D. 2000. Caseinomacropptide specifically stimulates exocrine pancreatic secretion in the anesthetized rat. *Peptides*, 21, 1527–1535.
- Perez, M. D., Sanchez, L., Aranda, P., Ena, J. M., Oria, R., Calvo, M. 1992. Effect of β -lactoglobulin on the activity of pregastric lipase. A possible role for this protein in ruminant milk. *Biochimica et Biophysica Acta* 1123, 151 - 155.
- Permyakov, E. A., & Berliner, L. J. 2000. α -lactalbumin: Structure and function. *FEBS Letters*, 473(3), 269–274.
- Peterková, L.: Význam kaseinu a podílu volných mastných kyselin v syrovém mléce pro výrobu mlékárenských výrobků a možnosti jejich stanovení. *Problematika prvovýroby mléka XXII*. Milcom servis, a.s. Praha. Listopad 1999. s. 20.
- Rival, S. G., Boeriu, C. G., & Wichers, H. J. 2001a. Caseins and casein hydrolysates. 2. Antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 295–302.
- Rival, S. G., Fornaroli, S., Boeriu, C. G., & Wichers, H. J. 2001b. Caseins and casein hydrolysates. 1. Lipoxygenase inhibitory properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 287–294.
- Roche, H. M., Noone, E., Nugent, A., & Gibney, M. J. 2001. Conjugated linoleic acid: A novel therapeutic nutrient? *Nutrition Research Review*, 14, 173–187.
- Ryder, D. N. 1988. Hydrolysis of lactose in whey products. *Bulletin 202*, Brussels, Belgium: International Dairy Federation. p. 45-52
- Saito, H., Miyakawa, H., Tamura, Y., Shimamura, S., & Tomita, M. 1991. Potent bactericidal activity of bovine lactoferrin hydrolysate produced by heat treatment at acidic pH. *Journal of Dairy Science*, 74, 3724–3730.
- Scammell, A. W. 2001. Production and uses of colostrum. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 56, 74–82.

- Shimazaki, Y., Mitoma, M., Oho, T., Nakano, Y., Yamashita, Y., Okano, K., et al. 2001. Passive immunization with milk produced from an immunized cow prevents oral recolonization by *Streptococcus mutans*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 8, 1136–1139.
- Shortt, C., O'Brien, J. 2004. *Handbook of Functional Dairy Product*. CRC Press. p. 293.
- Smetana, P., Havlíček, J., Mrázek, J., Samková, E., Pospíšil, M., Rozsypal, R., Trávníček, P. 2009. *Faremní zpracování mléka v ekologickém zemědělství*. Bioinstitut. Olomouc. s. 64. ISBN 978-80-904174-5-8
- Stanton, C., Murphy, J., McGrath, E., & Devery, R. 2003. Animal feeding strategies for conjugated linoleic acid enrichment of milk. In J. L. Sébédio, W. W. Christie, & R. Adlof (Eds.), *Advances in conjugated linoleic acid research*, Vol. 2 (pp. 123–145). Champaign, IL, USA: AOAC Press.
- Suková, I. 2006. *Syrovátka v potravinářství. Ústav zemědělských a potravinářských informací*. Praha. s. 64. ISBN 80-7271-173-3.
- Swaigood, H. E. 1995. Nitrogenous components of milk. F. Protein and amino acid composition of bovine milk. In R. G. Jensen (Ed.), *Handbook of milk composition* (pp. 464–468). New York, USA: Academic Press.
- Takemura, K., Hogan, J. S., & Smith, K. L. 2003. Effect of immunoglobulin G from cows immunized with ferric citrate receptor (FecA) on iron uptake by *E. coli*. *Journal of Dairy Science*, 86, 133–137.
- Terpstra, A. H. 2004. Effect of conjugated linoleic acid on body composition and plasma lipids in humans: An overview of the literature. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 352–361.
- Tomita, M., Bellamy, W., Takase, M., Yamauchi, K., Wakabayashi, H., & Kawase, K. 1991. Potent antibacterial peptides generated by pepsin digestion of bovine lactoferrin. *Journal of Dairy Science*, 74, 4137–4142.
- Tong, L. M., Sasaki, S., McClements, D. J., & Decker, E. A. 2000. Mechanisms of the antioxidant activity of a high molecular weight fraction of whey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1473–1478.
- Troost, F. J., Steijns, J., Saris, W. H. M., & Brummer, R. J. M. 2001. Gastric digestion of bovine lactoferrin in vivo in adults. *Journal of Nutrition*, 131, 2101–2104.
- Uchida, Y., Shimatani, M., Mitsuhashi, T., & Koutake, M. 1996. Process for preparing a fraction having a high content of α -lactalbumin from whey and nutritional

- compositions containing such fractions (Patent No: US5503864). Japan: Snow Brand Milk Prod Co. Ltd.
- Vaněk, D. a kolektiv. 2002. Chov skotu a ovcí. ČZU Praha a ISV Praha. s. 199. ISBN 80-86642-11-9.
- Velíšek, J. 2002. Chemie potravin I. 2. vydání. OSSIS. Tábor. s. 344. ISBN 80-86659-00-3.
- Velíšek, J. 2002. Chemie potravin II. 2. vydání. OSSIS. Tábor. s. 320. ISBN 80-86659-01-1.
- Wakabayashi, H., Kurokawa, M., Shin, K., Teraguchi, S., Tamura, Y., & Shiraki, K. 2004. Oral lactoferrin prevents body weight loss and increases cytokine responses during herpes simplex virus type 1 infection of mice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68, 537–544.
- Yoshida, S., Ye, X., & Nishiumi, T. 1991. The binding ability of alactalbumin and β -lactoglobulin to mutagenic heterocyclic amines. *Journal of Dairy Science*, 74(11), 3741–3745.
- Yukio, U., Masaharu, S., Ichirou, M., Suzuka, N., & Masanobu, K. 1992. Method for manufacturing a milk fraction having a high α -lactalbumin content and product obtained by implementing this Method (Patent No: NL9102003). Japan: Snow Brand Milk Prod Co. Ltd.
- Zadrazil, K. 2002. Mlékařství. ČZU v Praze a ISV Praha. s. 127. ISBN 80-86642-15-1.

Internetové zdroje

- Roubal, P. Biomléko obsahuje prokazatelně více bioaktivních látek. Bio-info [online]. Leden 2010. Praha. [cit. 2012-03-10]. Dostupné z <http://www.bio-info.cz/zpravy/biomleko-obsahuje-prokazatelne-vice-bioaktivnich-latek?source=rss>

6. Seznam použitých zkratek

α -la	α -laktalbumin
BSA	bovinní sérový albumin
CLA	konjugovaná kyselina linolová
CMP	kaseinmakropeptid
GOS	galaktooligosacharidy
HDL	z anglického “high density lipoprotein”
IGS	imunoglobuliny
LDL	z anglického “low density lipoprotein”
Lf	laktoferin
Phe105 - Met106	vazba fenylalaninu a methioninu
TEAC	Trolox kapacita