

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



Složení a význam mléčné bílkoviny

Bakalářská práce

Autor práce: Bc. Jolana Trojáčková

Obor studia: ATZP

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

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Složení a význam mléčné bílkoviny" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21. 4. 2017

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala paní doc. Ing. Aleně Hejtmánkové, CSc. za odborné vedení, pomoc, připomínky, konzultace, a hlavně za čas, který této bakalářské práci věnovala. Velmi děkuji svému partnerovi, rodině a přátelům za pomoc a psychickou podporu.

Složení a význam mléčné bílkoviny

Souhrn

Mléko je nezbytné pro výživu, správný vývoj a růst mláďat a má značnou úlohu ve výživě člověka. Bakalářská práce je zaměřena na složení a význam mléčných bílkovin, které tvoří 1 - 14 % mléka v závislosti na druhu zvířete. Mléčné bílkoviny jsou důležité zejména pro své složení aminokyselin a pro vhodné technologické vlastnosti k dalšímu potravinářskému zpracování.

V bakalářské práci je popsáno celkové složení mléka, které se skládá z emulze tukových kuliček a suspenze kaseinových micel, všechny suspendované ve vodné fázi, která obsahuje laktózu, syrovátkové bílkoviny, minerály a organické kyseliny. Hlavní část bílkoviny většiny mlék tvoří kaseiny, které se dále dělí na α_{s1} -, α_{s2} -, β -, a κ -kaseiny. Další významnou bílkovinou mléka jsou syrovátkové bílkoviny. Jejich hlavní složkou je α -laktalbumin a β -laktoglobulin. V menšině se v ní vyskytují i další bílkoviny, např. sérový albumin, imunoglobuliny, laktoferin, glykomakropeptid, proteoso-peptony, laktoperoxidáza. Vedle kaseinů a syrovátkových bílkovin je možné v mléce nalézt i jiné bílkoviny a nebílkovinné dusíkaté látky.

Složení mléka jednotlivých druhů zvířat se liší. Rozdíl je především v poměru kaseinů a syrovátkových bílkovin. Kaseinová mléka obsahují více než 75 % kaseinů, zatímco syrovátková mléka obsahují do 75 % kaseinů. Na obsah bílkovin v mléce má vliv prostředí, zejména teplota vzduchu. Jedná se hlavně o výtěžnost bílkovin a průměrně se produkce bílkovin se vzrůstající teplotou sníží o 0,01 kg s každým °C. Složení bílkovin není stejné v průběhu celé laktace, ale mění se s potřebami mláďete. První dny po porodu je z mléčné žlázy vylučováno tzv. kolostrum, které se postupně mění na zralé mléko. Maximální denní produkce α - a β -kaseinu, α -laktalbuminu a β -laktoglobulinu je dosažena pět dní po porodu. Produkce κ -kaseinu v průběhu laktace je variabilní.

Kaseiny i syrovátkové bílkoviny mají význam ve výživě mláďat i člověka a důležitou roli hrají ve výrobě potravin. Surovátka má pozitivní složení svým obsahem mnoha vitaminů, minerálů a aminokyselin. V potravinářství se využívá při výrobě syrovátkových sýrů, alkoholických i nealkoholických nápojů, proteinových doplňků stravy, syrovátkových permeátů atd. Biologickou funkcí kaseinu je transport vápníku a fosforu. Kromě vápníku mají schopnost vázat zinek a další kovy. Nezastupitelnou úlohu mají při výrobě tvarohů a sýrů. Při výrobě sýrů či tvarohů se využívá schopnost volného kaseinu srážet se v kyselém prostředí. Existují dva druhy srážení kaseinu: kyselé a sladké. Ke kyselému srážení dochází po

okyselení a ke sladkému po přidání syřidla. Kyselého srážení se využívá při výrobě tvarohu a sladké srážení při výrobě sýrů.

V bakalářské práci je pozornost věnována i mléku mateřskému. Mateřské mléko obsahuje z celkového množství bílkovin pouze 40 % kaseinů a je důležité zejména pro podporu imunitního systému novorozence.

Klíčová slova: mléko, proteiny, kaseinové bílkoviny, syrovátkové bílkoviny, výživa

Composition and importance of milk proteins

Summary

Milk is essential for nutrition, development and growth of pups and it is important for human nutrition. Bachelor thesis is focused on the composition and the importance of milk proteins that make up 1–14 % of the milk, depending on the species. Milk proteins are particularly important for its amino acid composition and technological properties.

The thesis describes the composition of the milk, which consists of an emulsion of fat globules and casein micelles suspension, that are suspended in the aqueous phase. Aqueous phase contains lactose, whey proteins, minerals and organic acids. Caseins are the main proteins of the milk. Four types are known: α 1-, α 2-, β - and κ -casein. Another major milk proteins are whey proteins. Their main components are α -lactalbumin and β -lactoglobulin. There are also another proteins, eg., serum albumin, immunoglobulins, lactoferrin, glycomacropeptide, proteoso-peptones, lactoperoxidase. Besides casein and whey protein there are other proteins and non-protein nitrogen in the milk.

Milk composition of individual species varies. The difference is mainly in the ratio of caseins and whey proteins. Environment affects the milk protein composition too. With each °C the protein production decreases about 0,01 kg. Protein composition varies with the needs of the baby. First days after lactation, milk is called colostrum, which is gradually changing into milk. Maximum daily production of α - and β -casein, α -lactalbumin and β -lactoglobulin is five days after birth. The production of κ -casein during lactation varies.

Caseins and whey proteins are important in the man's diet and pups and play an important role in food production. Whey contains many vitamins, minerals and amino acids. It is used in the manufacture of whey cheese, alcoholic and soft drinks, protein supplements, whey permeates etc. Caseins transport calcium and phosphorus. They are important in the production of curd and cheese, because of their ability precipitate in the acidic medium. There are two kinds of precipitation of casein: acid and sweet. Acid precipitation is used in curd production and the sweet precipitation in cheese production.

There is a mention of the human milk in the theses. Breast milk contains about 40 % of caseins and it is especially important for immune system of newborn child.

Keywords: milk, proteins, caseins, whey proteins, nutrition

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Cíl práce	2
3	Přehled literatury.....	2
3.1	Složení mléka	2
3.2	Bílkoviny	3
3.3	Dusíkaté látky v mléce	6
3.3.1	Kaseiny	7
3.3.2	Syrovátkové bílkoviny	10
3.3.3	Srovnání kaseinů a syrovátkových bílkovin v mléce.....	13
3.3.4	Ostatní bílkoviny.....	13
3.3.5	Nebílkovinné dusíkaté látky	14
3.4	Rozdíly ve složení mléčných bílkovin v mléce jednotlivých druhů hospodářských zvířat.....	14
3.5	Faktory ovlivňující složení bílkovin v mléce.....	19
3.5.1	Vliv teploty prostředí	19
3.5.2	Změny v průběhu laktace.....	20
3.6	Význam mléčné bílkoviny	21
3.6.1	Význam syrovátky	21
3.6.2	Význam kaseinů.....	25
3.6.3	Význam mléčných výrobků obecně.....	27
3.7	Mateřské mléko	28
3.7.1	Složení.....	28
3.7.2	Význam pro výživu kojenců	28
4	Závěr	30
5	Seznam literatury	32

1 Úvod

Mléko a mléčné výrobky jsou významnou potravinářskou komoditou a k výživě člověka patří již tisíce let. Mléko je výjimečná potravina poskytující širokou škálu základních živin nezbytných pro správné fungování organismu. Vyvinulo se jako prostředek k zajištění správného vývoje novorozence. Pro mláďata má mléko nezastupitelnou úlohu v imunitní ochraně, stimulaci vlastních obranných mechanismů a podpoře růstu. Je velmi důležité pro zdraví mláďat a pro jeho biochemické, molekulární a fyzikálně-chemické vlastnosti. Pro lidi je důležité především obsahem dusíkatých látek (Hurley, 2012). Dusíkatými látkami, obsaženými v mléce, jsou kaseiny, syrovátkové bílkoviny, malá část dalších bílkovin a dusíkaté látky nebílkovinné povahy. Jejich poměr se v mléce různých hospodářských zvířat i v mléce mateřském liší a z tohoto pohledu se mléka dělí na kaseinová a albuminová.

Vzhledem k tomu, že se čerstvě nadojené mléko rychle kazí, začaly se jeho přebytky zpracovávat na trvalejší výrobky (sýry, jogurty, tvarohy atd.). Při výrobě sýrů či tvarohů se využívá schopnost volného kaseinu srážet se v kyselém prostředí.

Složení bílkovin v mléce je závislé na mnoha faktorech, z nichž nejdůležitějšími jsou druh savce, výživa, plemeno, dojivost, sezóna, stadium laktace, pořadí laktace, zdravotní stav zvířete nebo genetika.

Výzkum mléčných bílkovin má dlouhou historii. První metoda na separaci kaseinů, hlavních bílkovin kravského mléka, byla provedena Braconnotem v roce 1830. O osm let později Mulder, který jako první použil termín proteiny, publikoval výsledky výzkumu týkající se mléčných bílkovin. Mnoho let probíhaly výzkumy týkající se nejen mléčných bílkovin, ale bílkovin obecně. Nejlepším příkladem výzkumu proteinů je práce Carlsbergské laboratoře v Copenhagenu. Jejich výzkumy mléčných bílkovin jsou aktuální dodnes. Klasické výzkumy mléčných proteinů se týkaly převážně mléka kravského. Nicméně postupně se začaly objevovat srovnávací studie mlék různých druhů savců. Například Robert Jenness (1986) již popsal složení mléka nejen kravského, ale i jiných druhů zvířat. Pojednával o fyzikálních a chemických vlastnostech mléčných bílkovin a také o jejich biologické funkci a biosyntéze. K charakterizaci mléčných bílkovin je třeba vysoce senzitivních a specifických metod, což splňují například imunochemické metody (McKenzie et al., 2012).

Díky tomu, že mléko slouží k výživě mláďat, má jedinečné vlastnosti. Kasein může být zahříván v roztoku nebo může být vystaven organickým rozpouštědlům, denaturačním činidlům nebo malému množství kyseliny nebo zásady bez zásadních změn jeho vlastností. Je

tráven rychleji než typické globulární proteiny a je důležitým proteinem pro studie mechanismu proteolytických enzymů.

Důležité bylo provést kvalitativní a kvantitativní analýzu proteinů mléka. Jedna z prvních chemických metod, založená na srážení mléčných bílkovin za přítomnosti trichloroctové kyseliny, pro odhalení distribuce proteinů v mléce, byla vyvinuta Rowlandem v roce 1938, kterému se tak podařilo zjistit rozložení dusíku v jednotlivých bílkovinných frakcích (McKenzie et al., 2012).

2 Cíl práce

Cílem práce je podat ucelený literární přehled o složení kaseinových a syrovátkových bílkovin různých druhů hospodářských zvířat, jejich významu v humánní výživě i při výrobě různých typů mléčných výrobků a faktorech, které mohou obsah i složení bílkovin v mléce ovlivnit. Pozornost bude věnována rovněž složení mateřského mléka a jeho významu pro výživu kojenců.

Literární přehled bude vypracován na základě provedené literární rešerše a četby vyhledaných tematicky vyhovujících vědeckých a odborných publikací. Při realizaci literární rešerše bude využito dostupných databází a vhodné odborné literatury věnované mléku a jeho složení, jeho významu ve výživě i vlivu na zdravotní stav konzumenta i zpracování mléka na mléčné výrobky.

3 Přehled literatury

3.1 Složení mléka

Mléko je produkt mléčných žláz samic savců, které slouží k výživě mláďat. Je to bílá nebo nažloutlá kapalina. Jde o polydisperzní systém, ve kterém je voda disperzním prostředím a rozptýlené částice dispergovanou fází. Skládá se z emulze tukových kuliček a suspenze kaseinových micel, všechny suspendované ve vodné fázi, která obsahuje laktózu, syrovátkové bílkoviny a minerály a organické kyseliny (Bernabucci et al., 2013; Potůčková, 2016).

Složky mléka se dělí na původní a cizorodé. Původní složky jsou dále rozděleny na hlavní a vedlejší složky. Mezi hlavní složky patří voda, tuk, bílkoviny a laktóza a mezi vedlejší složky mléka patří minerální látky, organické kyseliny, vitaminy, enzymy, hormony, somatické

buňky, plyny, atd. Do cizorodých látek patří složky exogenní a endogenní. Exogenní složky mají původ ve vnějším prostředí, například nečistoty, seno, aj. Endogenní složky pochází přímo z metabolismu samice, patří sem například těžké kovy či mykotoxiny (Potůčková, 2016).

Voda tvoří 87–88 % hmotnosti kravského mléka a rozlišuje se voda volná a voda vázaná. Vázaná voda může být vázaná na bílkoviny, v tom případě se jedná o vodu hydratační, nebo může být vázána chemicky a pak jde o vodu krystalickou. Vázaná voda na rozdíl od vody volné netuhne ani při teplotě -40 °C (Potůčková, 2016).

Sušina mléka se stanovuje sušením při teplotě $102 \pm 2\text{ °C}$ do konstantní hmotnosti. Kravské mléko obsahuje 12–13 % sušiny.

Mléko obsahuje i plynné látky, jejichž objem by v čerstvě nadojeném mléce neměl přesahovat 8 %. Plyny v mléce jsou nežádoucí. Například kyslík v mléce startuje oxidační procesy, oxid uhličitý ovlivňuje titrační kyselost. Plyny také snižují účinnost procesů při zpracování mléka.

Mléčný tuk tvoří 3,9 % kravského mléka a vyskytuje se zde ve formě emulze oleje ve vodě, v podobě tukových kuliček. Malá část je tvořena tukem volným. Tukovou kuličku tvoří membrána a vnitřní část. Membrána je složena z polární lipidové dvouvrstvy, která je tvořena fosfolipidy, lipoproteiny a glykolipidy. Povrch membrány je polární. Vnitřní část kuličky je tvořena nepolárními triacylglyceroly, volnými mastnými kyselinami, steroly a karotenoidy (Potůčková, 2016).

Specifickým sacharidem mléka je laktóza. Je to disacharid složený z D-glukózy a D-galaktózy. V malém množství obsahuje mléko v malých množstvích i jiné sacharidy, jako například glukózu, galaktózu a oligosacharidy.

Mléko je bohaté na vitaminy. Z vitaminů rozpustných v tucích obsahuje vitamin A, D, E a K, které se nacházejí hlavně v mléčném tuku. Ve vodné fázi je přítomen vitamin B. Hlavními minerálními látkami mléka je vápník a fosfor (Bernabucci et al., 2013).

3.2 Bílkoviny

Bílkoviny jsou polykondenzáty aminokyselin, vzniklé procesem proteosyntézy. Na struktuře proteinů se podílí aminokyseliny, které jsou vázány peptidovou vazbou a tvoří lineární řetězec, dále disulfidové, esterové a amidové vazby. Na molekulách bílkovin jsou navázány molekuly vody, anorganické ionty a někdy i jiné organické sloučeniny (sacharidy, lipidy, nukleové kyseliny aj.).

Bílkoviny jsou součástí většiny živých organismů a mají mnoho funkcí. Jsou hlavním zdrojem dusíku v potravě. Slouží jako stavební kostra buněk, tkání a pletiv, jako enzymy, či hormony. Mají katalytickou funkci, transportují například hemoglobin, jsou součástí svalů, imunitního systému (protilátky), jako feritin mají zásobní funkci. Významná je i funkce sensorická, např. zrakový pigment rodopsin a jsou zdrojem esenciálních aminokyselin, bez nichž se živočichové neobejdou (Velíšek, 2002).

Proteiny patří vedle sacharidů a lipidů mezi hlavní živiny a ve výživě jsou nezbytné. Organismus je využívá jako stavební kameny pro tvorbu a obnovu tkání a částečně jako zdroj energie. Rozlišují se proteiny rostlinné, jejichž zdrojem je sója, luštěniny, obiloviny, okopaniny, aj. a živočišné, nacházející se v mléce, mase a vejcích.

Bílkoviny existují ve čtyřech úrovních struktury – primární, sekundární, terciární a kvartérní. Primární struktura udává informace o kovalentní struktuře molekuly bílkoviny. U sekundární struktury jde o prostorové uspořádání, tzv. konformaci. Jedná se o primární strukturu aminokyselin s fixací funkčních skupin aminokyselin. Část řetězce je stočená do helixu (šroubovice). Terciární struktura určuje uspořádání postranních řetězců v prostoru a konformaci celého polypeptidového řetězce. Terciární struktura vymezuje i vlastnosti v prostoru, jako je prohnutí, svinutí a vzájemné spojení. Kvartérní struktura je zjevná pouze u bílkovin, které jsou složené z více peptidových řetězců nebo i z další nebílkovinné části. Kvartérní struktura determinuje polohu řetězců, dohromady tvořících celou bílkovinu (Velíšek, 2002).

Jednotlivé bílkoviny se liší svou rozpustností v rozpouštědlech. V polárních rozpouštědlech jsou rozpustné globulární proteiny, zatímco fibrilární proteiny nikoliv, v méně polárních rozpouštědlech jsou rozpustné pouze gliadiny. Charakteristikou bílkovin je také jejich isoelektrický bod, což je hodnota pH, při němž je volný náboj nulový. Tento náboj vzniká jako rozdíl počtu kladných a záporných nábojů molekuly, které vznikly disociací funkčních skupin jednotlivých aminokyselin (Velíšek, 2002).

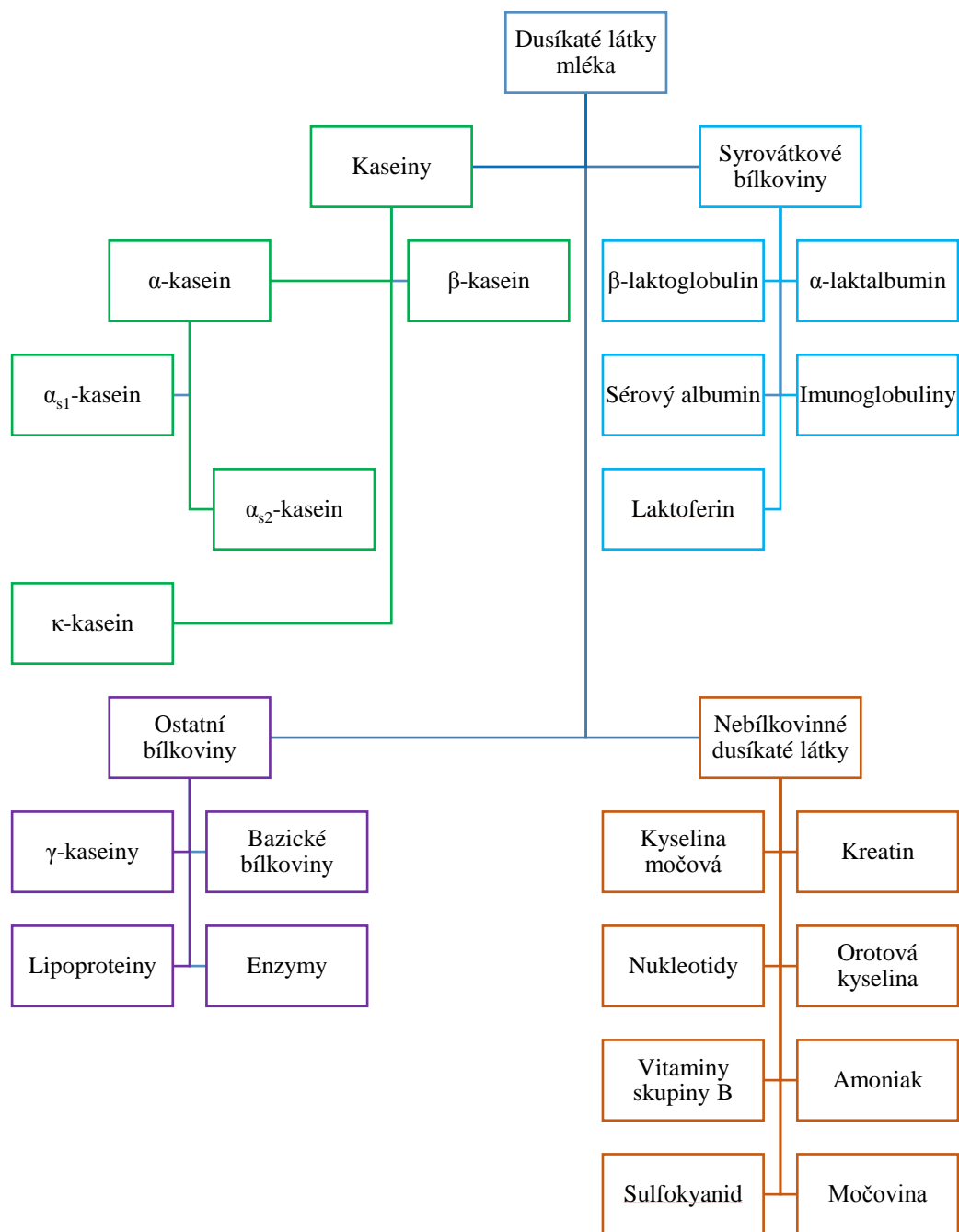
Působením fyzikálních nebo chemických činitelů může docházet k denaturaci bílkovin. Struktura proteinu se tak mění v méně uspořádanou a změny jsou většinou ireverzibilní. Tyto změny doprovází ztráta funkce biologické aktivity proteinu. Mezi fyzikální faktory způsobující denaturaci bílkovin patří změna teploty, tlaku, působení ultrazvuku či elektromagnetického záření. Z chemických činidel mohou způsobit denaturaci kyseliny, soli, zásady, povrchově aktivní látky či změna pH, ionty vzniklých kovů (Velíšek, 2002). Ve výživě člověka je denaturace většinou žádoucí, protože denaturované bílkoviny jsou snadněji zpracovatelné trávicími enzymy. Zvýší se tak využitelnost a stravitelnost.

Aby byl schopen organismus bílkoviny využít, musí je nejprve rozložit přes polypeptidy, oligopeptidy až na jednotlivé aminokyseliny. Proteolýza probíhá v trávicím traktu za pomoci enzymů proteáz. Proteázami žaludečních šťáv jsou pepsin A a pepsin C (gastricin) u dospělých savců a renin (chymosin) u mláďat. Mezi proteázy pankreatické šťávy patří trypsin, chymotrypsin A, B, C, elastáza a karboxypeptidáza A a B. Střevní šťávy obsahují aminopeptidázy a dipeptidázy. Po rozložení na aminokyseliny jsou vstřebány tenkým střevem a dopraveny krevním oběhem do jater nebo lymfatickým oběhem do tkání. Osud aminokyselin v játrech je různorodý. Je zde uložena minimální zásoba, tzv. aminokyselinový pool, většina aminokyselin podléhá metabolickým pochodům. Po deaminaci je možný vstup uhlíkového skeletu aminokyseliny do citrátového cyklu a mohou z něj touto cestou vznikat sacharidy, lipidy či ATP (Velíšek, 2002).

Výživová hodnota je dána složením esenciálních aminokyselin. Hodnotu proteinu určuje množství tzv. limitující aminokyseliny. Jde o aminokyselinu, které se v bílkovině vyskytuje v nejmenším množství, tzn. ačkoliv bude bílkovina obsahovat ostatních aminokyselin dostatek, nebude tato bílkovina zdrojem všech esenciálních aminokyselin a bude muset být získána z jiného zdroje (Velíšek, 2002).

3.3 Dusíkaté látky v mléce

Následující schéma znázorňuje obsah dusíkatých látek v mléce.



Obrázek 1: Dusíkaté látky v mléce

Bílkoviny mléka jsou biologicky velmi hodnotné, patří mezi nejdůležitější složku mléka z nutričního i technologického hlediska. Obsahují esenciální aminokyseliny a zajišťují kvasnost a syřitelnost mléka.

Mezi dusíkaté látky mléka patří kaseiny, syrovátkové (sérové) bílkoviny, proteoso-peptony a nebílkovinné dusíkaté látky (Fox, 2003). Kaseiny patří mezi nejvýznamnější bílkovinnou složku mléka. Jejich množství se pohybuje okolo 80 % z mléčných bílkovin kravského mléka a 2,6 % z celého objemu mléka. Jsou přítomny jako koloidní disperze a sráží se v přítomnosti kyselin nebo syřidla (Suková, 2006).

Kolem 20 % všech mléčných proteinů a 0,67 % mléka jako celku tvoří syrovátkové (sérové) bílkoviny, které jsou zde obsaženy ve formě koloidního roztoku a ve vysoké míře zůstávají po zpracování v syrovátce (Suková, 2006). 9,1 % tvoří albuminy, 3,5 % globuliny, 4,1 % proteoso-peptony a 5 % nebílkovinné dusíkaté látky (McKenzie et al., 2012).

Kaseiny je možno dále dělit na α_{s1} -kasein, α_{s2} -kasein, β -kasein a κ -kasein a do syrovátkových bílkovin jsou zařazovány β -laktoglobuliny, α -laktalbumin, sérový albumin, imunoglobuliny, laktoferin, glykomakropeptid, proteoso-peptony a laktoperoxidáza.

3.3.1 Kaseiny

Kaseiny jsou heterogenní skupinou mléčných bílkovin tvořící 80 % bílkovin kravského mléka. Kaseiny se sráží po okyselení mléka na pH 4,6 (Hurley, 2012). Kaseiny patří do rodiny fosfoproteinů a jsou syntetizovány mléčnou žlázou jako reakce na hormon prolaktin a na další podněty. Kaseiny jsou vylučovány ve formě velkých koloidních agregátů nazývaných micely, které jsou zodpovědné za jedinečné fyzikální vlastnosti mléka, které jsou důležité zejména v mlékárenském průmyslu při výrobě mléčných výrobků. Patří mezi fosfoproteiny s velmi nízkým izoelektrickým bodem a vlivem $-\text{COOH}$ skupiny mají kyselou povahu. Fosfor je na kasein vázán esterickou vazbou přes hydroxyskupiny aminokyselin serinu a threoninu (Ginger and Grigor, 1999).

Kaseiny nejsou homogenní látky, ale jsou složeny ze dvou oddělených frakcí. První z nich je vysrážena v přítomnosti vápníku a nazývá se kalcium-senzitivní kasein. Druhé z nich jsou v přítomnosti vápníku stabilní – kalcium-nonsenzitivní kaseiny (Swaisgood, 1992).

Existují čtyři druhy kaseinů, α_{s1} -kaseiny, α_{s2} -kaseiny, β -kaseiny a κ -kasein. Skupina kaseinů je dále heterogenní skupinou, kaseiny jsou totiž produkty kodominantních alel autosomálních genů (Swaisgood, 1992). Z hlediska fosforylace může mít každý ze čtyř druhů kaseinů různé množství fosfátových skupin. Dalším zdrojem variability kaseinů jsou genetické polymorfismy. Tento fenomén byl poprvé popsán v roce 1955. Stejný protein existuje v mnoha formách, které se liší v jediné nebo několika aminokyselinách (Hurley, 2012).

Izolace kaseinů je založena na rozdílné rozpustnosti v různých rozpouštědlech (Swaisgood, 1992). Procesem agregace α -, β - a κ -kaseinu vznikají submicely. Submicely se spojují do micel pomocí fosfátových skupin α_s -kaseinů a β -kaseinů a vápenatých iontů. Micela kravského mléka obsahuje kolem 20 000 molekul kaseinů. Z 93 % je tvořena kaseiny, ze 3 % vápenatými ionty, ze 3 % anorganickým fosfátem, ze 2 % fosfátem vázaným jako fosfoserin, z 0,4 % citrátem a z 0,5 % sodnými, draselnými a hořečnatými ionty. Průměr micely je přibližně 50–300 nanometrů. Větší částice obsahují zpravidla méně α -kaseinů a více κ -kaseinů než menší částice (Velíšek, 2002).

α_{s1} - a α_{s2} -kaseiny jsou charakteristické svou velmi nízkou molekulovou hmotností. α -kaseiny se tak jednoduše spojují mezi sebou i s ostatními kaseiny (β - a κ -kasein) za tvorby velkých agregátů. V přítomnosti vápníku může agregace kaseinů vést k tvorbě micel. Tvorba micel evolučně slouží jako prostředek ke zvýšení obsahu vápníku v mléce, aniž by byla ohrožena jeho fyzikální stabilita. Hlavní protein tvořící micelu je α_s -kasein, jehož obsah je v micelle 65 %.

3.3.1.1 α_{s1} -kaseiny

α_{s1} -kasein tvoří 37 % celkového kaseinu (Hurley, 2012). α_{s1} - kaseiny patří do kalcium-senzitivních kaseinů. V přítomnosti vápenatých iontů tvoří nerozpustnou vápenatou sůl (Ginger and Grigor, 1999). Rozdíl mezi α_{s1} -kaseiny a α_{s2} -kaseiny spočívá v rozdílu sekvence jejich aminokyselin. α_{s1} -kasein je hlavní frakcí bílkovin kravského mléka. Je tvořen 199 aminokyselinami. Jedná se o vysoce fosforylovaný protein. α_{s1} -kasein se skládá z fosfoserinového nebo fosfothreoninového zbytku a jakékoli aminokyseliny. α_{s1} -kasein kravského mléka existuje ve dvou fosforylovaných podobách obsahující 8 a 9 fosfátových skupin v jednom molu (Ginger and Grigor, 1999). Dle Hurleye (2012) jsou známy genetické polymorfismy A-D (Hurley, 2012). Podle Swaisgooda (1992) existují genetické varianty A-G.

3.3.1.2 α_{s2} -kaseiny

α_{s2} -kaseiny tvoří 10 % kaseinových bílkovin (Hurley, 2012). α_{s2} -kaseiny jsou oproti α_{s1} -kaseinům více nesourodou skupinou. Jedná se též o vysoce fosforylované peptidy. Kravské mléko obsahuje čtyři rozdílně fosforylované izoformy, které obsahují 10 – 13 fosfátových skupin v jednom molu. S vápenatými ionty tvoří při teplotách 1 °C a nižších rozpustnou sůl a

při vyšších teplotách sůl nerozpustnou. Ke srážení dochází při teplotě nad 20 °C (Velíšek, 2002). Existují genetické polymorfismy A-D (Hurley, 2012).

3.3.1.3 β -kaseiny

β -kasein tvoří 35 % kaseinových proteinů (Hurley, 2012). Sestávají z 209 aminokyselin, obsahují 4-5 fosfoserinových zbytků (Hurley, 2012). Při teplotách 1 °C a nižších tvoří s vápníkem rozpustnou sůl, při vyšších teplotách sůl nerozpustnou. K jejich srážení dochází při teplotách vyšších než 35 °C (Gajdůšek, 2003). β -kasein je polární a zároveň vykazuje hydrofobní vlastnosti. Ze všech kaseinů obsahuje nejvíce prolylových zbytků (Gajdůšek, 2003). Podle Hurleye (2012) existují genetické varianty A¹, A², A³ – E. Dle Swaisgooda (1992) se β -kaseiny dělí na genetické polymorfismy A¹, A², A³, A⁴, B, C, D, E, F.

Z β -kaseinu byla izolována frakce zvaná γ -kasein. γ -kasein je produktem hydrolýzy β -kaseinu mléčnou proteázou (Kaminogawa and Yamauchi, 1974).

3.3.1.4 κ -kasein

κ -kasein tvoří 12 % všech kaseinových frakcí a obsahuje 1 - 3 fosfoserinové zbytky (Hurley, 2012). κ -kasein se liší svou rozpustností v přítomnosti vápenatých iontů a má mnohem menší podíl fosfátové složky než jakýkoli z ostatních kaseinů (Ginger and Grigor, 1999; Gajdůšek, 2003). Jediný se nesráží vápenatými ionty. Obsahuje sacharidové skupiny, je citlivý na štěpení enzymem chymosinem (Ginger and Grigor, 1999; Gajdůšek, 2003). Ve své molekule obsahuje fosfor, D-galaktopyranosu, N-adetyl-D-galaktosamin a N-acetylneuraminovou kyselinu. Jako jediný obsahuje sirné aminokyseliny (cystein a methionin). V 56 % κ -kaseinů je hlavní složkou rozvětvený tetrasacharid, v 18,5 % rozvětvený trisacharid, v 18,4 % lineární sacharid, v 6,3 % disacharid a v 0,8 % N-acetyl-D-galaktosamin. Cukry jsou na serin či threonin proteinu navázány prostřednictvím glykosidické vazby N-acetyl- β -D-galaktosaminem. κ -kasein mateřského mléka obsahuje více glykosidických vazeb než κ -kasein ovčího či kravského mléka a zbytky sacharidů mohou představovat až 55 % hmotnosti molekuly. Kravský κ -kasein se vyskytuje v genetické variantě A a B (Hurley, 2012). Forma A obsahuje 136 zbytků aminokyselin, forma B 148 zbytků (Ginger and Grigor, 1999; Gajdůšek, 2003). Dle Swaisgooda (1992) existují genetické polymorfismy A, B, C, D, E, F, F¹, G.

Jejich struktura má amfifilní charakter. Ve srovnání s β -kaseiny je jejich hydrofobní oblast méně hydrofobní, obsahují méně prolylových zbytků a více sekundární struktury. Z tohoto

důvodu, přestože tvoří tyto proteiny polymerní micely stejně jako β -kaseiny, nejsou citlivé na teplotu nebo iontové síly (Swaisgood, 1992).

3.3.2 Syrovátkové bílkoviny

Syrovátkové bílkoviny jsou součástí tzv. syrovátky, což je nažloutlá tekutina, která vzniká jako vedlejší produkt při výrobě sýra, tvarohu a kaseinu. Syrovátku lze dále rozdělit na sladkou a kyselou. Sladká syrovátka vyvstane srážením bílkovin pomocí enzymového syřidla při pH 5 – 6, typicky vzniká při výrobě sýrů. Obsahuje kaseinomakropeptid, který byl odštěpen syřidlem. Kyselá syrovátka vzniká při výrobě tvarohu při srážení po okyselení na pH, které musí být nižší než 5,1. Obsahuje více popelovin, hlavně vápník.

Syrovátka obsahuje vedle bílkovin laktózu, minerální látky (vápník, fosfor, sodík, draslík, hořčík, zinek) a vitaminy skupiny B (Barth and Behnke, 1997; Keri Marshall, 2004; Suková, 2006).

Syrovátka tvoří 50 % sušiny mléka, její vlastní obsah sušiny kolísá v rozmezí 5,5 – 6,5 %, z čehož 70 – 80 % je tvořeno laktózou, 10 % bílkovinami, 11 % minerálními a nebílkovinnými dusíkatými látkami a 1 % tuky, vitaminy, stopovými prvky a kyselinami. Sušená syrovátka obsahuje 95 % sušiny, 66 – 74 % laktózy, 10 – 14 % bílkovin, 6 – 12 % minerálních látek, 2 – 9 % kyselin a 1 % tuku (Suková, 2006).

Mezi jednotlivé komponenty syrovátkových bílkovin patří albuminy a globuliny. Mezi albuminy patří β -laktoglobulin, α -laktalbumin a sérový albumin. Do třídy globulinů patří protilátky (imunoglobuliny), které jsou ukazateli stavu imunity. Sérové bílkoviny jsou dále tvořeny laktoferinem, glykomakropeptidem a proteoso – peptony.

V syrovátce se vyskytují také dusíkaté látky nebílkovinné povahy, hlavně puriny, které tvoří 5 – 7 % dusíku mléka (Suková, 2006).

3.3.2.1 β -laktoglobuliny

β -laktoglobulin je hlavním syrovátkovým proteinem přežvýkavců. Jeho sekvence aminokyselin a trojrozměrná struktura ukazují na to, že se jedná o lipokalin. Váže se nejvíce na malé hydrofobní ligandy a tak působí jako specifický transportér například cholesterolu a vitamínu D. β -laktoglobulin je malý protein se 162 aminokyselinovými zbytky, složenými do osmi řetězců (Kontopidis et al., 2004).

Zajímavostí je, že mateřské mléko neobsahuje žádný β -laktoglobulin. β -laktoglobulin je zdrojem esenciální aminokyselin a aminokyselin s rozvětveným řetězcem (Keri Marshall,

2004). β -laktoglobuliny tvoří oligodisperzní roztoky. V prostředí o pH 3,5–5 existují jako oktamer, v prostředí o pH 5–7,5 jako dimer (Velíšek, 2002).

3.3.2.2 α -laktalbumin

α -laktalbumin je přítomen v mléce všech savců. Skládá se ze 123 aminokyselin. Protein se skládá ze dvou domén, velká doména se skládá hlavně z α -helikální struktury a menší doména z β -struktury skládaného listu. Trojrozměrná struktura je stabilizována pomocí vápenatých iontů. Velká doména obsahuje čtyři α -helixy, menší doména obsahuje trojici β -struktur skládaného listu a krátkou helikální strukturu. Dvě domény jsou spojeny cysteinovým můstkem

Má význam při tvorbě laktózy. Tvorba α -laktalbuminu probíhá v lumen endoplazmatického retikula a bílkovina je následně transportována na povrch membrány Golgiho aparátu, kde interaguje s galaktosyltransferázou. α -laktalbumin funguje jako substrátový modifikátor, zvyšující specifitu a afinitu galaktosyltransferázy ke glukóze, katalyzuje tak poslední krok produkce laktózy v mléčné žláze (Hurley, 2012).

Další významnou funkcí je tvorba komplexu s kyselinou olejovou, tím vykazuje selektivní cytotoxickou aktivitu proti rakovinným buňkám (Hurley, 2012).

Čistý α -laktalbumin se využívá při výrobě náhrad mateřského mléka, z toho důvodu, že je strukturně nejpodobnější proteinům mateřského mléka. (Keri Marshall, 2004).

3.3.2.3 Sérový albumin

Sérový albumin tvoří 0,7 – 1,3 % bílkovin mléka a 10 – 15 % z celkové syrovátky. Je zdrojem esenciálních aminokyselin a vyšší hladiny byly prokázány při mastitidách (Gajdůšek, 2003).

3.3.2.4 Imunoglobuliny

Mezi další bílkoviny v mléce patří imunoglobuliny. Imunoglobuliny vykazují protilátkovou aktivitu a vážou se s imunogeny. Jsou součástí humorální imunitní odpovědi. Mezi jejich základní vlastnosti patří specifita pro daný antigen a diverzita. Imunoglobuliny jsou velmi významné při obraně organismu proti onemocnění a při podpoře fagocytózy. Existuje pět tříd protilátek – IgA, IgD, IgE, IgG, IgM. Mezi nejdůležitější imunoglobuliny mléka patří IgA a IgG. Imunoglobuliny G jsou přenášeny z matky na mládě transplacentárně a posléze kojením. Slouží jako novorozencova imunitní první obranná linie, která je též označována jako imunita

pasivní. Imunoglobuliny A jsou obsaženy v mléce, po vypití mléka putují do zažívacího traktu mláděte, a tak se podílejí na tvorbě imunity (Keri Marshall, 2004; Slavík et al., 2010).

3.3.2.5 Laktoferin

Laktoferin je glykoprotein, na kterém je navázáno železo. Jedná se o neenzymatický antioxidant nacházející se v syrovátce zralého mléka i mleziva. Laktoferin kravského mléka sestává z 689 aminokyselinových zbytků, laktoferin mateřského mléka z 691 těchto zbytků. Skládá se z jediného polypeptidového řetězce se dvěma vazebnými místy pro železité ionty. Laktoferin kravského mléka obsahuje 15 – 20 % železa, zatímco laktoferin mateřského mléka pouze 5 % a je označován jako apolaktoferin. Mateřské mléko obsahuje první dny po porodu $7 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ laktoferinu a obsah postupně klesá na $2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, kravské kolostrum obsahuje pouze $1,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a zralé kravské mléko $0,2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (Keri Marshall, 2004).

3.3.2.6 Glykomakropeptid

Glykomakropeptid je v syrovátce obsažený z 10 – 15 %. Je rozpustný ve vodě a do syrovátky přechází při výrobě sýra po srážení mléka pomocí chymozinu. Tato bílkovina obsahuje vysoký obsah aminokyselin s větveným řetězcem a postrádá fenylalanin, tryptofan a tyrosin. Protože neobsahuje fenylalanin, je bezpečný pro jedince s fenylketonurií (Keri Marshall, 2004).

3.3.2.7 Proteoso-peptony

Proteoso-peptony jsou nízkomolekulární proteiny, obsahují fosfor a tvoří velmi malý podíl bílkovin mléka. Kravské mléko obsahuje z celkové bílkoviny mléka 2–6 % těchto proteinů (Gajdůšek, 2003).

3.3.2.8 Laktoperoxidáza

Laktoperoxidáza tvoří 1 % syrovátkových bílkovin. Patří do peroxidázové rodiny, skupiny přírodních enzymů, jež se vyskytují v přírodě a jsou součástí rostlin i živočichů, včetně člověka. Její hlavní funkcí je katalyzovat oxidační reakce, za účelem produkce látek se širokým spektrem antimikrobiální aktivity. Biologický význam laktoperoxidázy spočívá v zapojení do systému přirozené obrany hostitele proti mikroorganismům, podílí se také na degradaci karcinogenů a chrání živočišné buňky proti oxidaci. Antimikrobiální funkce závisí na schopnosti laktoperoxidázy rozkládat za přítomnosti sulfokyanidu peroxid vodíku na vodu

a kyslík, který má baktericidní účinek. Na produkci laktoperoxidázy mléčnou žlázou má vliv výživa, roční období a pohlavní cyklus krav. Její množství je nejvyšší na počátku laktace (Kussendrager and Hooijdonk, 2000; Gajdůšek, 2003).

3.3.3 Srovnání kaseinů a syrovátkových bílkovin v mléce

Jedním z rozdílů mezi kaseiny a syrovátkovými bílkovinami je v jejich rozpustnosti při pH 4,6. Zatímco syrovátkové bílkoviny jsou při tomto pH rozpustné, kaseiny nikoli. Kaseiny mají na rozdíl od syrovátkových bílkovin schopnost koagulace, při které probíhá proteolýza. Dalším rozdílem je stabilita těchto dvou proteinů za působení vysoké teploty. Kaseiny jsou velmi tepelně stabilní. Ani působení teploty 100 °C po dobu 24 hodin nebo teploty 140 °C po dobu 20–25 minut nevyvolá koagulaci kaseinů. K denaturaci syrovátkových proteinů dochází již při teplotě 90 °C po dobu 10 minut. Tento rozdíl je zapříčiněn stabilní sekundární a terciární strukturou kaseinů (Fox, 2003).

Rozdílné je i aminokyselinové složení. Kaseiny obsahují vyšší hladiny prolinu. Kaseiny jsou na rozdíl od syrovátkových bílkovin fosforylovány. Přítomnost fosfátových skupin má zásadní význam pro specifické vlastnosti kaseinů. Má vliv například na hydrataci, rozpustnost a tepelnou stabilitu kaseinů. Fosfátové skupiny mají také význam při vazbě kovů, většinou vápníku, zinku a fosforu, což ovlivňuje jeho fyzikálně-chemické, funkční i výživové vlastnosti. Důsledkem vazby s vápníkem je vysrážení polyvalentních kationtů (Fox, 2003).

Syrovátkové bílkoviny obsahují 1,7 % síry na rozdíl od kaseinů, ve kterých je síra zastoupena pouze z 0,8 % z důvodu nepřítomnosti aminokyselin methioninu a cysteinu.

Další rozdíl spočívá v biosyntéze dvou hlavních bílkovin mléka. Kaseiny jsou syntetizovány mléčnou žlázou a jsou pro ni specifické. Hlavní syrovátkové bílkoviny jsou tvořeny mléčnou žlázou, ale některé se do mléka dostávají také z krve matky.

Fyzikální vlastnosti syrovátkových bílkovin a kaseinů jsou odlišné. Syrovátkové proteiny existují v mléce většinou jako monomery, kaseiny naopak existují jako velké koloidní agregáty, které se nazývají micely (Fox, 2003).

3.3.4 Ostatní bílkoviny

Mezi další bílkoviny mléka patří γ -kasein, bazické bílkoviny, lipoproteiny a enzymy.

3.3.5 Nebílkovinné dusíkaté látky

Nebílkovinné dusíkaté látky zůstávají v roztoku po vysrážení mléčných bílkovin. Do této skupiny patří močová kyselina, kreatin, nukleotidy, orotová kyselina, vitaminy skupiny B, amoniak, sulfokyanid, močovina a další.

3.4 Rozdíly ve složení mléčných bílkovin v mléce jednotlivých druhů hospodářských zvířat

Následující tabulka znázorňuje obsah jednotlivých složek mléka dle některých autorů.

Tabulka 1: Složení různých druhů mlék

Obsah složky		Typ mléka						
		Kravské	Kozí	Ovčí	Bůvolí	Velbloudí	Kobylí	Mateřské
Voda (%)		87,3	86,7	82	80 - 83	86,5	88,8	87,1
Sušina (%)		12,7	13,3	18	17 - 20	13,5	11,2	12,9
Bílkoviny (%)		3,2	3,2	4,6	4 - 4,8	3,6	2,1	1,1
	Podíl kaseinů z celkového obsahu bílkovin	80	80	80	80	71 - 76	62	40
	Podíl syrovátkových bílkovin z celkového obsahu bílkovin	20	20	20	20	17 - 23	38	60
Tuky (%)		3,9	4,5	7,2	6,9 - 8,5	4	1,2	4,5
laktóza (%)		4,6	4,3	4,8	4,6 - 6,2	5	6,4	7,1
Minerální látky (%)		0,7	0,8	0,9	0,7 - 1	0,8	0,4	0,2
Energetická hodnota (kcal/100g)		66	70	102	100	70	48	72

Zdroj: Mahmood and Usman, 2010; Bernabucci et al., 2013; Hejtmánková et al., 2012; Farah, 1993; Ahmad et al., 2013

Složení mléka různých savců se značně liší v množství a poměru hlavních složek. Závisí velmi na typu žaludku. Mezi přežvýkavci a monogastry je velký rozdíl ve fyziologii trávení, na čemž následně závisí typy proteinů mléka, podíl bílkovin, tuků, cukrů, množství vitamínů a minerálních látek a velikost globulí mléčného tuku. Množství mléčných bílkovin se mezi druhy značně liší. Jejich množství kolísá od 1 % v mateřském mléce až po množství 14 % v mléce velrybím (Bernabucci et al., 2013).

Podle zastoupení hlavních bílkovin se dělí mléka na kaseinová a albuminová. Kaseinová mléka produkují přežvýkavci a z celkových bílkovin obsahují přes 75 % kaseinu.

Albuminová mléka jsou produkována býložravci s jednoduchými žaludkem, všežravci a masožravci. Do kaseinových mlék patří například mléko kravské, ovčí, kozí, bývolí či velbloudí. Mezi mléka albuminová patří mléko mateřské, kobyly a oslí.

Složení kravského mléka je kvůli bachoru kvalitativně i kvantitativně odlišné od složení mléka mateřského. Kravské mléko obsahuje podstatně nižší množství laktózy, a naopak vyšší podíl proteinů. Mezi celkovým obsahem tuku kravského a mateřského mléka je rozdíl minimální, avšak velmi se liší jejich složení. pH kravského mléka se pohybuje v rozmezí od 6,5 do 6,8, na rozdíl od mateřského mléka je tedy kyselé (Bernabucci et al., 2013). Obsahuje průměrně 87,3 % vody a 3,2 % bílkovin, 3,9 % tuku, 4,6 % laktózy, 0,7 % minerálních látek a energetickou hodnotu 66 kcal/100 g (Jenness, 1986). Co se týče dusíkatých látek, je v něm zastoupeno kolem 78 % kaseinů, 20 % syrovátkových bílkovin a 2 % nebílkovinného dusíku. Hlavním kaseinem je α_s -kasein. Hlavní syrovátkovou bílkovinou kravského mléka je β -laktoglobulin, druhou nejvíce zastoupenou syrovátkovou bílkovinou je α -laktalbumin. Koncentrace taurinu je mnohem nižší než v mateřském mléce (Bernabucci et al., 2013; Jenness, 1986).

Kozí mléko je, stejně jako mléko mateřské, zásadité povahy. Ovčí mléko obsahuje 7,2 % tuku, 4,6 % bílkovin, 4,8 % laktózy, 0,9 % popelovin a energetickou hodnotu 102 kcal/100 g. Kozí mléko obsahuje 4,5 % tuku, 3,2 % bílkovin, 4,3 % laktózy, 0,8 % popelovin a energetickou hodnotu 70 kcal/100 g. Rozdíly ve složení a v podílu kaseinů jsou důvodem kratší doby koagulace a tím pádem kratší doby výroby tvarohu z ovčího mléka, než z mléka kozího nebo kravského. V ovčím mléce je více sušiny (18 %) než v mléce kozím (13,3 %) a kravském (12,7 %) (Bernabucci et al., 2013).

Kaseinové micely ovčího a kozího mléka mají mnohem větší velikost než micely kravského mléka. Fyzikálně-chemické vlastnosti kozích kaseinových micel jsou odlišné od kravských. Micely v kozím mléce obsahují více vápníku, anorganického fosforu a neodstředivý kasein. Kasein kozího mléka má také horší tepelnou stabilitu. Proteiny jsou v něm snadněji a rychleji stravitelné, což přináší výhodu pro kojence, děti a osoby s gastrointestinálními poruchami. Často je lépe snášeno i lidmi, kteří mají alergii na bílkovinu kravského mléka (Bernabucci et al., 2013).

Celkový obsah kaseinu je v kozím mléce nižší, než v mléce kravském (Eriksen et al., 2008). Hlavními kaseiny kravského mléka jsou α_s 1-kasein a β -kasein, kdežto mezi hlavní kaseiny kozího mléka patří pouze β -kasein (Eriksen et al., 2008). Na rozdíl od kravského mléka obsahuje pouze stopy α_s 1-kaseinu, který je původcem alergií. Kravské mléko často způsobuje alergie u malých dětí a kozí mléko je proto často výbornou náhradou. Kozí mléko je méně

alergenní než kravské, avšak k alergii na kozí mléko dochází ve vyšším věku dítěte (Eriksen et al., 2008).

Mezi mlékem od různých koz je však značný rozdíl a obsah α_{s1} -kaseinu kolísá od 0 do 3,6 g*I⁻¹ (Eriksen et al., 2008). Obsah κ -kaseinu je vyšší než v mléce kravském i ovčím (Eriksen et al., 2008). Sacharidová část κ -kaseinu kravského mléka se skládá z galaktosy, N-acetylglukosaminu, N-acetylgalaktosaminu a N-acetylneuramové kyseliny. κ -kasein ovčího mléka obsahuje N-glykol-neuramovou kyselinu a tři jmenované cukry. κ -kasein mateřského mléka je složitější a obsahuje fruktózu, galaktózu, N-acetylglukosamin, N-acetylgalaktosamin a N-acetylneuramovou kyselinu (Ginger and Grigor, 1999; Gajdůšek, 2003).

Co se týče syrovátkových bílkovin kozího mléka, obsah α -laktalbuminu je přibližně stejný, ale liší se obsahem β -laktoglobulinu, kterého je v kravském mléce více (Eriksen et al., 2008). Nejvíce zastoupenými syrovátkovými bílkovinami kozího a ovčího mléka jsou β -laktoglobulin a α -laktalbumin. Ve velké míře jsou zastoupeny i imunoglobuliny, laktoferin, ferritin, proteózo-peptony, kalmodulin, prolaktin a folát vázající protein. Nebílkovinného dusíku je v ovčím, kozím a mateřském mléce více než v mléce kravském (Bernabucci et al., 2013).

Průměrný celkový obsah bílkovin v ovčím a kozím mléce byl stanoven v mléce plemene východofríská ovce a koza bílá krátkosrstá (Hejtmánková et al., 2012). Celkový obsah proteinů se ve vyšším obsahu vyskytoval v mléce východofríské ovce ($6,36 \pm 1,81$ %), v mléce kozy bílé krátkosrsté se jejich obsah pohyboval od $2,57 \pm 0,02$ % do $3,15 \pm 0,02$ %. Obsah bílkovin závisí velmi na stádiu laktace. Celkový obsah bílkovin vzrůstá společně s probíhající laktací a nejvyšší je v kozím i ovčím mléce ve finálním stádiu laktace. Co se týče množství syrovátkových bílkovin kozího mléka, jejich obsah kolísá kolem hodnoty 0,433 g na 100 g. V mléce východofríské ovce byl zaznamenán nejvyšší obsah syrovátkových bílkovin na začátku a na konci laktace. Celkové množství syrovátkových bílkovin do druhého měsíce laktace klesal. Od druhého měsíce stoupal z obsahu 0,749 g na 100 g se dostal až na hladinu 1,791 g na 100 g (Hejtmánková et al., 2012).

Průměrné zastoupení syrovátkových bílkovin činilo $15,8 \pm 2,61$ % v kozím mléce a $17,4 \pm 2,68$ % v ovčím mléce. Hlavními syrovátkovými bílkovinami jsou β -laktoglobulin a α -laktalbumin. V ovčím mléce jsou zastoupeny z $92,4 \pm 7,22$ % ze všech bílkovin syrovátky a v kozím mléce $86,7 \pm 2,23$ %. Zajímavé jsou změny složení syrovátkových bílkovin v průběhu laktace. Přestože se v druhé fázi laktace obsah syrovátkových bílkovin v ovčím

mléce zvýšil, množství β -laktoglobulinu a α -laktalbuminu se na konci laktace výrazně snížilo. Ovčí syrovátka obsahovala výrazně více β -laktoglobulinu než syrovátka kozí. Rozdíly byly také v tom, že ovčí mléko obsahovalo ve všech fázích laktace vyšší koncentraci β -laktoglobulinů než α -laktalbuminů a v kozím mléce tomu bylo až v konečné fázi laktačního období naopak. Průměrný poměr mezi β -laktoglobulinem a α -laktalbuminem byl v ovčím mléce 3,44 a v průběhu laktačního období kolísal od 1,65 do 9,74. V kozím mléce byl průměrný poměr těchto dvou složek 0,59 a pohyboval se v rozmezí od 0,25 do 1,94. V ovčím i kozím mléce byl poměr na konci laktace nejvyšší, v obou druzích mléka byla v posledních fázích laktace naměřena nejvyšší koncentrace β -laktoglobulinu (Hejtmánková et al., 2012).

Co se týče aminokyselin kozího a ovčího mléka, jejich složení je podobné mléku kravskému. Z celkového počtu aminokyselin se v nejvyšší míře v mléce vyskytoval glutamát (20 %), prolin (10 %) a leucin (10 %). Obsah esenciálních aminokyselin v mléce je kolem 40 % z jejich celkového množství. Největší rozdíl mezi ovčím a kozím mléce byl zaznamenán v obsahu sirných aminokyselin – tj. v cysteinu a methioninu. Obou aminokyselin bylo v ovčím mléce více než v mléce kozím. Nejmenší rozdíl byl naopak v množství argininu, prolinu a izoleucinu

(Hejtmánková et al., 2012).

Další rozdíly ve složení bílkovin kravského, kozího a ovčího mléka popsal Park et al. (2007). Micelární struktura kozího a ovčího mléka se liší od mléka kravského svým průměrem, hydratací a mineralizací. Kaseinová micela kozího mléka obsahuje více vápníku a anorganického fosforu. Micely kozího mléka jsou méně tepelně stabilní než micely kravského mléka. Micely ovčího mléka jsou podobné micelám mléka kozího. Kozí mléko obsahuje při 20 °C 10 % rozpuštěného kaseinu na rozdíl od mléka kravského, které ho při stejné teplotě obsahuje pouze 1 %. Při teplotě 5 °C je v kozím mléce obsaženo 25 % rozpuštěného kaseinu a v kravském mléce 10 %. Bylo zjištěno, že teplota má výrazný vliv na micelární systém mléka a chlazení vede k částečnému rozpuštění β -kaseinu. Rozdíly mezi kozím, ovčím a kravským mlékem je možné spatřit při výrobě sýrů. Doba sýření kozího mléka je kratší než mléka kravského. Konzistence gelu při výrobě sýrů z kozího mléka je řidší, a tak je kozí mléko pro jeho výrobu méně vhodné než mléko kravské.

Ovčí mléko obsahuje celkově 5,8 % bílkovin, což je více než v mléce kozím, ve kterém je obsaženo 4,6 % bílkovin. Nejméně proteinů se vyskytuje v kravském mléce, jejich obsah je 3,3 %. Kozí mléko obsahuje 0,7 % - 1 % dusíku, zatímco ovčí mléko ho obsahuje 0,4 – 0,8 %. Ovčí mléko obsahuje 95 % bílkovinného a 5 % nebílkovinného dusíku. V kozím mléce je

vyšší obsah nebílkovinného dusíku než v mléce ovčím a kravském. To vede k nižší výtěžnosti sýrů a k řidší struktuře jogurtů vyráběných z kozího mléka (Park et al., 2007).

Bůvolí mléko je druhé nejčastěji využívané mléko pro lidskou výživu na světě. V mnoha částech světa hraje v lidské výživě hlavní roli. Bůvolí mléko je velmi nutričně hodnotné. Liší od mléka ostatních druhů hospodářských zvířat mimořádně vysokým obsahem celkových bílkovin, jež činí 4,4 – 4,8 % (Ahmad et al., 2013).

Obsahuje více živin než mléko kravské. Největší rozdíl mezi nimi je v obsahu tuku. Bůvolí mléko obsahuje průměrně 8,3 % tuku, na rozdíl od kravského mléka, ve kterém se nachází pouze 3 – 5 % tuku (Ahmad et al., 2013).

Kravské i bůvolí mléko obsahují stejné typy kaseinů, ale v jiných poměrech. V bůvolím mléce jsou nejvíce zastoupeny β -kaseiny a α_{s1} -kaseiny, méně pak α_{s2} -kaseiny a κ -kaseiny.

V mnoha částech světa je důležitou součástí lidské stravy velbloudí mléko a mléčné výrobky. Složení velbloudího mléka závisí výrazně na fázi laktace, věku, krmivu a množství a kvalitě vody. Velbloudi jsou schopni přežít ve velmi extrémním prostředí a produkují tak mléko s vysokou nutriční hodnotou. Jeho chuť závisí významně na druhu krmiva a dostupnosti pitné vody (Bernabucci et al., 2013). Kyselost velbloudího mléka je podobná mléku ovčímu (6,5 – 6,7) (Yateem et al., 2008). Obsahuje 86,5 % vody, 4 % tuku, 3,6 % bílkovin, 5 % laktózy, 0,8 % popelovin a energetickou hodnotu 70 kcal/100 g. Je zdrojem bílkovin s antimikrobiální a ochrannou funkcí. Je náhradní možností pro lidi alergické na kravskou bílkovinu či pro diabetiky. Složení proteinů se liší od bílkovin kravského, kozího a ovčího mléka, ale celkové složení aminokyselin je podobné. Ve velbloudím mléce je obsaženo více imunoglobulinů, ale méně lyzinu a laktoferinu než v mateřském mléce (Bernabucci et al., 2013).

V posledních letech je o kobydí mléko stále větší zájem, protože se v mnoha ohledech podobá mléku mateřskému. Kobydí mléko obsahuje velmi nízký obsah bílkovin a optimální poměr mezi syrovátkovými bílkoviny a kaseiny, takže je vhodné jako náhrada mateřského mléka. Vyskytují se v něm extrémně vysoké hladiny laktoferinu a lyzinu a je vysoce stravitelné. Kobydí mléko obsahuje průměrně 88,8 % vody, 2,1 % bílkovin, 1,2 % tuku, 6,4 % laktózy, 0,4 % minerálních látek a má energetickou hodnotu 48 kcal/100 g. Obsah bílkovin je vyšší než v mateřském mléce, ale naopak nižší než v mléce kravském. Složení bílkovin zahrnuje 1,3 % kaseinů, 0,8 % syrovátkových bílkovin a 0,03 % dusíkatých látek nebílkovinné povahy (Malacarne et al., 2002).

Množství kaseinů je vyšší než množství syrovátkových bílkovin, ale v porovnání s kravským mlékem obsahuje kobyli mléko menší množství kaseinů a větší množství syrovátkových bílkovin obdobně jako mateřské mléko. Hlavními syrovátkovými proteiny kobyliho mléka jsou alfa-laktalbumin a imunoglobuliny. Hlavním imunoglobulinem kobyliho i mateřského mléka je IgA, zatímco převládajícím imunoglobulinem kravského mléka je IgG. Hlavními antimikrobními látkami jsou lysozym a laktoferin, v kravském mléce jsou hlavní imunoglobuliny. Hlavní kaseinovou frakcí v kobyli i mateřském mléce je β -kasein, v menší míře α 1-kasein. Nebílkovinný dusík představuje 10–15 % celkového dusíku. Obsah taurinu je ve srovnání s kravským mlékem vyšší a v porovnání s mlékem mateřským naopak nižší (Bernabucci et al., 2013).

3.5 Faktory ovlivňující složení bílkovin v mléce

Existuje mnoho faktorů, které mohou ovlivnit složení a obsah bílkovin v mléce. Hlavními faktory jsou zdravotní stav dojeného zvířete, stádium laktace, výživa a výživový stav, plemenná příslušnost, druh zvířete a genetické polymorfní frakce.

3.5.1 Vliv teploty prostředí

Kvalitu mléka velmi ovlivňuje teplota prostředí. Mléko krav, které jsou vystaveny vyšším teplotám, vykazují nižší podíl bílkovin, laktózy, vyšší pH a nižší titrační kyselost. Mléko též neposkytuje takovou výtěžnost sýrů při jejich výrobě. Průměrně se produkce bílkovin se vzrůstající teplotou sníží o 0,01 kg s každým °C. Mléko obsahuje také méně vápníku, fosforu a hořčíku, a naopak více chloridů. Vysoké teploty mají vliv také na snížení obsahu kaseinu v mléce a vyšší obsah sérových bílkovin. Obsah κ -kaseinu se nemění, ale snižuje se množství α _s- a β -kaseinů. α _s- a β -kaseiny představují přibližně 90 % celkových mléčných kaseinů a obsahují vysoké množství fosfátových skupin. Jejich fosforylace vyžaduje přítomnost fosfátu z ATP. Tato fosforylace je významně snížena za podmínek, které vedou k energetickému deficitu. Nižší obsah kaseinu v mléce je tak částečně způsoben energetickým deficitem a snížením dostupnosti proteinů z výživy jako důsledek tepelného stresu. Tyto ztráty též vysvětlují nižší výtěžnost sýrů a změny vlastností sýrů, vyráběných z mléka krav ustájených v teplém prostředí či v letním období. Kromě toho α _s- a β -kasein, bohaté na fosfátové skupiny, jsou kyselými komponenty kaseinových micel. Nižší obsah těchto složek proto vede k vyššímu pH, nižší titrační aciditě mléka a nižší výtěžnost sýrů.

Výkyvy v koncentraci α -laktalbuminu a β -laktoglobulinu nebyly prokázány (Bernabucci et al., 2013).

3.5.2 Změny v průběhu laktace

V průběhu laktace se složení mléka mění v závislosti na potřebách mláděte.

Mléko lze rozdělit podle stádia laktace na mléka nezralá, označovaná také jako kolostrum a mléka zralá. Mlezivo neboli kolostrum, je produkováno mléčnou žlázou 24-48 hodin po porodu a mění se postupně v mléko zralé. Jedná se o komplexní biologickou tekutinu a jeho složení je podobné složení krve a významně se liší od mléka. Složení mleziva závisí na druhu zvířete, plemenu, zdravotním stavu a krmení. Mnoho složek kolostra pochází přímo z krve, například imunoglobuliny, jiné jsou produkovány přímo mléčnou žlázou (kaseiny, α -laktalbumin, β -laktoglobulin). Složení mleziva se mění se změnou nároků mláděte (Bernabucci et al., 2013).

Larson a Kendall (1957) publikovali výsledky týkající se změn ve složení bílkovin kravského mléka v průběhu laktace. Výsledky ukazují, že maximální denní produkce α - a β -kaseinu byla dosažena pět dní po porodu. Produkce α -kaseinu byla u některých krav vyšší v den porodu, u většiny byla produkce zvýšena na maximum až v následujících dnech. Produkce α - a β -kaseinu je po dosažení maxima vysoká až do konce laktace, na rozdíl od výnosu mléka, který se první měsíc zvyšuje a pak postupně klesá až do konce laktačního období.

Denní produkce κ -kaseinu není stejná jako produkce α - a β -kaseinu. Jeho produkce byla více variabilní a vysoká v kolostru první den laktace. Denní produkce κ -kaseinu mléka Holštýnsko-fríského skotu byla vysoká a s klesajícím výnosem mléka jeho koncentrace neklesala. Procentuální zastoupení α -kaseinů ze všech kaseinů bylo po prvních dnech laktace konstantní. Množství β -kaseinů bylo na začátku laktace nižší a pak se zvyšovalo (Larson and Kendall, 1957).

Denní produkce sérových α -laktalbuminu a β -laktoglobulinu měla průběh podobný α - a β -kaseinu. Maximální produkce byla zaznamenána pátý den laktace. Množství β -laktoglobulinu bylo po prvních dnech relativně konstantní. V mléce Holštýnsko-fríského skotu bylo naměřeno 50–55 % β -laktoglobulinu na rozdíl od plemene Ayrshire a Guernsey, jejichž mléko obsahovalo 60–65 % β -laktoglobulinu. Maximálního množství α -laktalbuminu bylo dosaženo přibližně měsíc po otelení a pak postupně až do konce laktace snižovalo. Produkce imunoglobulinů byla jednoznačně nejvyšší v den porodu. Do konce laktace jejich obsah

klesal. Ke konci laktačního období denní produkce imunoglobulinů neklesala tak rapidně jako produkce ostatních proteinů. Zatímco denní produkce po prvním měsíci laktace klesala, relativní koncentrace imunoglobulinů se zvyšovaly. Nejvyšší hodnota sérového albuminu v kravském mléce byla též v den porodu. Množství sérového albuminu bylo průměrně 1 % ze všech proteinů mléka. Dále je nutno zmínit, že více sérového albuminu, imunoglobulinů a κ -kaseinů se vyskytovalo v kolostru krav než v kolostru prvnicek (Larson and Kendall, 1957). Ze studie je patrné, že existuje úzká podobnost denní produkce α -kaseinu, β -kaseinu, α -laktalbuminu a β -laktoglobulinu v průběhu laktačního období. Podobnost v produkci těchto čtyř bílkovin vyplývá z toho, že jsou produkovány v blízkém vztahu mléčnou žlázou. Vyšší variabilita v produkci κ -kaseinu, imunoglobulinů a sérového albuminu je dána závislostí na dalších faktorech. Do mléka přecházejí z krve (Larson and Kendall, 1957).

3.6 Význam mléčné bílkoviny

3.6.1 Význam syrovátky

Syrovátkové proteiny patří mezi bílkoviny s nejvyšší biologickou hodnotou, díky jejich aminokyselinovému složení. Kromě toho vykazují pozitivní vlastnosti, které umožňují rozmanité využití v potravinářství, a to při výrobě potravin, nápojů, výrobě náhradní dětské výživy a hydrolyzátů v případě nesnášenlivosti bílkovin kravského mléka. Syrovátka působí jako antioxidant, má antihypertenzní, protinádorové, hypolipidemické, antivirové a antibakteriální účinky (Barth and Behnke, 1997; Keri Marshall, 2004).

Syrovátka je nažloutlá kapalina, vznikající po srážení a odstranění kaseinu při výrobě sýrů, tvarohu a kaseinu. Tento vedlejší produkt představuje 85–95 % objemu mléka a je v něm uloženo 55 % mléčných živin (laktóza, bílkoviny, lipidy, minerální látky). Mezi syrovátkové soli patří chlorid sodný a chlorid draselný. Dalšími složkami jsou mléčná, citronová kyselina, nebílkovinný dusík (močovina, močová kyselina), vitaminy skupiny B a další. Existují dva typy syrovátky – kyselá, jejíž pH je ≤ 5 a sladká s pH 6–7, v závislosti na postupu, který byl použit pro srážení kaseinů. Kyselá syrovátka je charakteristická vyšším obsahem popelovin, a naopak nižším podílem bílkovin na rozdíl od syrovátky sladké. Sladká syrovátka má lepší uplatnění díky lepším sensorickým vlastnostem produktů z ní vyráběných (Siso, 1996).

Současné trendy na trhu ukazují na nárůst výroby sýrů, v současné době na $15,5 \times 10^6$ tun, což odpovídá 145×10^6 tun syrovátky ročně. Jako vedlejší produkt při výrobě 1 kg sýra vzniká 9 kg syrovátky. Vzhledem k nízkému obsahu mléčné složky a pouze 6–7 % sušiny

byla syrovátka dlouho považována za odpadní produkt a byla likvidována ve formě odpadní vody, případně zkrmována hospodářskými zvířaty. Dnes existují nové technologie, například separace, které umožňují zpracovávat a využívat velké objemy syrovátky. Kolem 60 % syrovátky vzniklé při výrobě sýra je zpracováno a slouží k výrobě různých potravinářských produktů. Část syrovátky je zpracována do konečných produktů tekuté formy (např. syrovátkové nápoje), o něco méně do sušené syrovátky, z části jsou vyráběny laktózové produkty a produkty ochuzené o laktózu a zbytek jako bílkovinné koncentráty. V současné době je vyvíjena řada nových syrovátkových produktů. Existují také syrovátkové sýry.

Hospodářským zvířatům je syrovátka přidávána do vody jako zdroj kvalitních bílkovin a minerálních látek, např. vápníku, fosforu a síry a ve vodě rozpustných vitaminů (Siso, 1996; Suková, 2006).

3.6.1.1 Význam syrovátky při výrobě potravin

Pro konzervaci, dlouhodobé skladování, snadnou manipulaci a transport syrovátky se využívá konzervace sušením. Existuje několik druhů sušené syrovátky. Patří mezi ně kompletní kyselá či sladká sušená nebo demineralizovaná syrovátka, dále syrovátka zbavená laktózy nebo bílkovin, syrovátka obohacená o tuky a další. Její hlavní využití je v krmení hospodářských zvířat v kombinaci s melasou nebo sójovou moukou. Sušená syrovátka má ale uplatnění i v lidské výživě, je přidávána do zmrzlin, pekařských a cukrářských výrobků a omáček. (Siso, 1996)

Demineralizace syrovátky se provádí nanofiltrací, gelovou filtrací nebo elektrodialýzou. Tento proces je důležitý zejména kvůli vysokému obsahu solí v syrovátce. Kromě následného sušení je také možné ji konzervovat zahuštěním.

Dalším možným procesem zpracování syrovátky je teplená denaturace jejích bílkovin. Metoda je však nešetrná k bílkovinám. Míra denaturace, stravitelnost a funkční vlastnosti bílkovin závisí na teplotě, která při procesu na bílkoviny působila. Dnes se takto získaná bílkovina již téměř nevyužívá, ale sloužila jako aditivum při výrobě potravin, krmiv a sýrů (Suková, 2006).

Význam má také výroba bílkovinných koncentrátů membránovými technikami, např. ultrafiltrací či diafiltrací. Výhodami těchto metod je rychlost a nižší náklady. Velkou výhodou také je, že při procesu nedochází k denaturaci bílkovin a nepřítomnost solí v koncentrátu ho činí použitelným ve všech odvětvích lidské výživy. Koncentrát obsahuje vysoký obsah hodnotných bílkovin a esenciálních aminokyselin (Siso, 1996).

Izolát syrovátkových bílkovin je velmi čistá forma koncentrátu, v němž podíl bílkovin v sušině je 90 % (Suková, 2006).

Syrovátkový permeát je deproteinovaná syrovátka. Získává se ultrafiltrací, která funguje na základě propustnosti membrány pro molekuly pouze do určité molekulové hmotnosti. Část, která neprojde, je tvořena bílkoviny, případně tuky. Při menší velikosti pórů, například při reverzní osmóze, přechází membránou de facto pouze voda. Permeát je zdrojem laktózy a používá se při výrobě sirupů, sladidel a v krmivářství.

Dalšími způsoby využití syrovátky je výroba biomasy v krmivářství, výroba etanolu, mléčné kyseliny, propionové kyseliny a substrátů pro bakterie, plísně či kvasinky. Ze syrovátky se také izoluje laktóza, vyrábějí se laktózové sirupy nebo sladidla (Suková, 2006).

3.6.1.1.1 Syrovátkové sýry

Výroba syrovátkových sýrů spočívá v zahřívání syrovátky na 80-95 °C po dobu několika minut. Po zbavení přebytečné vody je syrovátkový sýr lisován. Mezi syrovátkové sýry patří Ricotta, Manouri, Gjetost, Mysost nebo Myzithra (Pintado et al., 2001). Při výrobě syrovátkových sýrů se využívá tepelná denaturace, sekvenční agregace a srážení syrovátkových bílkovin. Při výrobě syrovátkových sýrů je do syrovátky přidáno malé množství mléka (Pintado et al., 2001).

3.6.1.1.2 Syrovátkové nápoje

Využití syrovátky jako nápoje ve výživě člověka je datováno až do roku 460 př. n. l. do doby Hippokrata. V této době se využívaly syrovátkové nápoje zejména k léčebným účelům. Nejlevnějším způsobem je výroba z celé syrovátky. Syrovátka vzniká jako vedlejší produkt při výrobě sýrů, dále je pasterizována, ochucena a rovnou zabalena a připravena k použití. Bývá míchána s ovocnými džusy (Holsinger et al., 1974).

Z deproteinizované syrovátky je také možné vyrábět nealkoholické nápoje. Odstranění proteinů ze syrovátky se dosáhne zahříváním okyselené syrovátky na teplotu 90 °C. Koagulované syrovátkové bílkoviny jsou z ní odstraněny filtrací nebo odstředěním. Nápoje je možné dále sytit oxidem uhličitým. Mohou být fermentované i nefermentované.

Ze syrovátky je možné připravit i alkoholické nápoje, např. syrovátkové pivo nebo víno. Syrovátka má mnoho vlastností, které ji činí vhodnou pro výrobu piva. Má podobné složky jako mladina a má vysokou kapacitu pro vazbu kyseliny uhličité. Některé její složky při dlouhodobém zahřívání za vysokého tlaku způsobují karamelovou chuť, která připomíná chuť sladu. Až 30 % sladu je možné nahradit deproteinizovanou syrovátkou. Syrovátka je

částečně deproteinizovaná vařením při pH 4,5 – 5,5 s chmelem a filtrát je smíchán se sladinou. Následuje spodní kvašení pivními kvasnicemi.

Syrovátkové víno se vyrábí z 5,7 litru syrovátky a 454 g hnědého cukru. Směs je následně fermentována.

Vedle nealkoholických a alkoholických nápojů ze syrovátky mají význam i proteinové nápoje (Holsinger et al., 1974).

3.6.1.2 Význam syrovátky ze zdravotního hlediska

Příjem syrovátky má pozitivní vliv na regulaci BMI, léčbu kardiovaskulárních poruch, dále na podporu imunitního systému, antioxidační aktivity, zvládnání stresu, zlepšení svalových funkcí, absorpce živin, fyzické síly a vyznačují se též antirakovinovými účinky. Syrovátka má pozitivní složení svým obsahem mnoha vitaminů, minerálů a aminokyselin. Pozitivní vliv má na správnou funkci ledvin a střev, detoxikaci organismu, úpravu metabolismu. Má také probiotické a protizánětlivé účinky, snižuje krevní cholesterol a díky obsahu mléčných kyselin zlepšuje příjem vápníku (Suková, 2006).

Syrovátka pomáhá regulovat hmotnost díky obsahu vápníku, laktózy a bílkovin. Laktóza má nízký glykemický index a tím zajistí, že se pocit hladu dostaví později. Význam bílkovin spočívá v tom, že při jejich zpracování lidským tělem je spotřebováno více energie než při trávení sacharidů, a ještě více energie než při trávení tuků, v důsledku této činnosti nezbyvá tolik energie pro uložení v těle v podobě tukových zásob. Bílkoviny mají také význam při správném hospodaření těla s vodou (Suková, 2006).

Syrovátkové bílkoviny stimulují tvorbu významného antioxidantu glutathionu ve tkáních a produkují zásobu svalového glutaminu. Antioxidant glutathion v kombinaci se svalovým glutamanem významně pomáhají posilovat imunitní systém. Glutathion působí jako antioxidant. Ve své molekule má cystein, který obsahuje thiolovou skupinu, v přítomnosti kyslíkových radikálů dochází k její oxidaci. Zdrojem cysteinu je bovinní sérový albumin a β -laktoglobulin, významný také tím, že váže a transportuje retinol (Kopřiva, 2011; a Suková, 2006).

Ukázal se i pozitivní vliv bioaktivních peptidů na krevní tlak, kardiovaskulární choroby a hladinu glukózy v krvi. Bioaktivní peptidy vznikají proteolýzou během trávení ze syrovátkových bílkovin. Bioaktivní peptidy brzdí angiotenzin konvertázu (ACE). Enzym štěpí angiotenzin I. na angiotenzin II., který zvyšuje krevní tlak. Bioaktivní peptidy se prostřednictvím regulace ACE podílejí na snižování krevního tlaku (Nečas, 2000).

Syrovátkové bílkoviny jsou schopny tlumit růst nádorových buněk, a dokonce jsou schopny zmenšit již vzniklé tumory při současné ochraně zdravých buněk organismu. Jsou jako jediné bílkoviny schopné odčerpat z rakovinotvorných buněk glutathion a předat ho zdravým buňkám (Suková, 2006).

3.6.2 Význam kaseinů

Hlavní biologickou funkcí kaseinů je přenos vápníku a fosforu, dále tvorba sraženiny v žaludku pro efektivní trávení (Bernabucci et al., 2013).

Z výživového hlediska jsou důležité díky vysokému obsahu fosfátů, což jim umožňuje vázat značné množství vápníku a také obsahují vysoký obsah lysinu (Hurley, 2012).

Vážou nejen velké množství vápníku, ale i zinku a dalších biologicky významných kovů. Velký význam však mají i při výrobě potravin, kde se uplatňuje interakce s vápníkem. Interakce kaseinů s vápníkem je velmi důležitá zejména při výrobě tvarohů a sýrů. Vápník se váže na serinové zbytky. Reakce vzniká na základě jejich citlivosti na vápník, která závisí na složení a primární struktuře jednotlivých typů kaseinů. α_2 -kasein je při pH 6,6 – 7, iontových silách 0,08 – 1 a teplotě 37 – 40 °C citlivý na vápník o koncentraci nižší než 2 mM, α_{s1} -kasein na vápník o koncentraci 3 – 8 mM a β -kasein dokonce na koncentraci vyšší než 8 – 15 mM při teplotě 37 °C, ale při teplotě 1 °C zůstává v roztoku až do koncentrace 400 mM. Pouze κ -kasein není citlivý na přítomnost vápníku v mléce. Koncentrace vápníku, která iniciuje srážení, klesá s rostoucím pH a teplotou, ale roste se vzrůstajícími iontovými silami a se zvyšující koncentrací bílkovin v roztoku. Nezávisle na iontové síle a teplotě, se každý protein začíná srážet, v okamžiku, kdy množství vázaného vápníku je rovné počtu serinových zbytků (Swaisgood, 1992).

Existují dva druhy srážení kaseinu: kyselé a sladké. Ke kyselému srážení dochází po okyselení a ke sladkému po přidání syřidla.

Kyselého srážení se využívá zejména při výrobě tvarohů. Okyselením dochází ke zkvašení laktózy na kyselinu mléčnou. K této činnosti dochází spontánní činností mikroorganismů, které se v mléce přirozeně vyskytují nebo po přidání vhodných mlékařských kultur (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*) (Velišek, 2002).

3.6.2.1 Význam kaseinů při výrobě tvarohů a sýrů

Sýry jsou významnými produkty již několik tisíc let. Vznikají oddělením syrovátky po koagulaci mléka. Sýry jsou tvořeny základními složkami sušiny mléka, zejména kaseiny a

mléčným tukem. Ke koagulaci dochází v důsledku působení enzymů nebo snížením pH na hodnotu blízkou izoelektrickému bodu kaseinu. Sýry jsou čerstvé nebo zrající. Mléko je základní surovinou pro výrobu sýrů a hlavní význam pro složení a výtěžnost výroby sýra má chemické složení mléka. Pro obsah tuku v sušině je rozhodující poměr tuku a kaseinu. K tomu, aby probíhalo enzymové srážení, je nezbytná přítomnost vápenatých iontů. Pufrační schopnost mléka je ovlivněna obsahem fosforečnanu vápenatého a kaseinu v mléce. Základním parametrem při výrobě sýrů jsou změny pH během procesu. Před vlastní výrobou sýrů je provedena filtrace nebo centrifugace, termizace, pasterace, baktofugace nebo mikrofiltrace, standardizace mléka, homogenizace, přidavek chloridu vápenatého, dusičnanu draselného a lysozymu. Pro výrobu tvarohů a sýrů je nezbytný přidavek kyselých kultur bakterií mléčného kvašení. Základním procesem při výrobě sýrů je srážení kaseinu. Existují dva typy srážení kaseinu – kyselé a sladké. Kyselé srážení se uplatňuje při výrobě tvarohů a některých sýrů, např. cottage. K okyselení slouží kyselina mléčná vzniklá činností bakterií mléčného kvašení. Je možné přidat octovou, citronovou či chlorovodíkovou kyselinu. Kasein se sráží z mléka při hodnotě pH blízké izoelektrickému bodu. Izoelektrické srážení probíhá při pH 4,6, protože kasein patří mezi hydrofobní bílkoviny, z mléka se sráží po ztrátě vnějšího náboje a solvatačního vodního obalu. Sýry je možné vyrábět i ze syrovátky, ale až po zvýšení teploty na 95 °C, poté co se hydrofilní bílkoviny syrovátky vysrážejí po ztrátě svého vodního obalu. Při kyselém srážení je z kaseinových micel pozvolna uvolňován koloidní fosforečnan vápenatý. Agregací se vytváří souvislý gel sraženého mléka, k tomu je však potřeba teplota vyšší než 6 °C. Kyselým srážením vznikají sýry o nižším obsahu sušiny. K sladkému srážení dochází po přidavku syřidla. Sladké srážení je založeno na enzymovém štěpení peptidové vazby mezi 105. a 106. aminokyselinou (fenylalanin-methionin) ve frakci κ -kaseinu (Kadlec et al., 2009). κ -kasein se vyskytuje na povrchu kaseinové micely a slouží jako ochrana pro ostatní kaseinové frakce, které se v přítomnosti vápenatých iontů sráží (Kadlec et al, 2009). Při srážení κ -kaseinu dochází k jeho hydrolýze, jeho molekula se rozštěpí na para- κ -kasein a κ -kaseinomakropeptid. Para- κ -kasein je nadále součástí kaseinových micel, obsahuje původní hydrofobní část a je složený ze 105 aminokyselin, ale ztratil již ochrannou funkci. κ -kaseinomakropeptid obsahuje hydrofilní část molekuly, je složen z 64 zbytků aminokyselin a přechází při srážení do syrovátky. Mezi micelami se tvoří silné vazby a v přítomnosti vápenatých iontů dochází k vysrážení kaseinů a následkem toho k tvorbě sýřeniny. Sýřenina v průběhu několika hodin tuhne a vzrůstá její kyselost (Velíšek a Hajšlová, 2009). Po koagulaci mléka se sraženina zpracovává a formuje. Zpracování a

formování vede k vytvoření sýrových zrn a oddělení syrovátky (Kadlec et al., 2009). Význam má solení. Má vliv na aktivitu enzymů a kultur při zrání sýrů a působením na bílkoviny se v důsledku zvýšení osmotického tlaku uvolní více syrovátky. Při zrání sýrů dochází k texturálním změnám a vzniku aromatických látek v důsledku glykolýzy, proteolýzy a lipolýzy (Kadlec et al., 2009). Zrání probíhá za nízkých teplot. Přítomné mikroorganismy obsahují chymosin a proteasy, které během zrání působí proteolyticky, což je důležité z hlediska získání žádoucích organoleptických vlastností sýrů (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Význam v potravinářském průmyslu mají i tzv. kaseináty. Kaseináty jsou deriváty kaseinu. Surovinou pro jeho výrobu je nerozpustný kyselý kasein získaný po srážení mléka minerálními kyselinami nebo mléčnou kyselinou nebo kyselý kasein rozpuštěný v zásadách. Kaseinát sodný má využití jako pěnotvorný a emulgační prostředek do zmrzlin, majonéz a tavených sýrů. Kaseinát draselný se využívá při výrobě cukrovinek (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Tvaroh vzniká smíšeným srážením mléka s převahou kyselého srážení (Kadlec et al., 2009). K dosažení vyšší výtěžnosti se využívá počáteční ošetření mléka při 82 – 92 °C po dobu 5 – 6 minut. Výsledkem je denaturace syrovátkových bílkovin, jejich navázání na kasein a jejich společné vysrážení (Kadlec et al., 2009)

3.6.3 Význam mléčných výrobků obecně

Mléčné výrobky mají příznivý vliv na zdravotní stav. Příjem mléčných výrobků, především nízkotučných, má pozitivní vliv na krevní tlak, snižuje pravděpodobnost kardiovaskulárních chorob a podporuje funkčnost cév.

Na zhoršení kardiovaskulárních chorob a cévních funkcí má vliv zvýšení koncentrace krevní glukózy. Pokud tento jev vzniká po jídle, mluví se o tzv. postprandiální hyperglykémii. Mléko a mléčné výrobky podporují nízkou glykemickou odezvu, a tím omezují postprandiální hyperglykémii. Příjem mléčných výrobků je velkým pomocníkem při redukčních dietách. Po jejich požití je vyprazdňování žaludku díky bioaktivním peptidům zpomaleno, a tím se dostaví pocit hladu později. Mléčné výrobky také obsahují bioaktivní složky a mikronutrienty, které působí na posílení cév. Z mikronutrientů je zastoupen zejména draslík s vápníkem. Vyšší příjem vápníku v potravě je v korelaci s nižším výskytem mrtvice a kardiovaskulárních chorob (Ballard and Bruno, 2015).

3.7 Mateřské mléko

3.7.1 Složení

Mateřské mléko je tekutina bohatá na všechny živiny potřebné pro novorozence. Obsahuje také bioaktivní složky, podporující dobré zdraví, růst a vývoj dítěte. Hodnota pH mateřského mléka se pohybuje od 6,4 do 7,6. Obsahuje průměrně 87,1 % vody, 4,5 % tuku, 1,1 % bílkovin, 7,1 % laktózy a 0,2 % minerálních látek. Jeho energetická hodnota je 72 kcal/100 g, při čemž mléčný tuk tvoří kolem 50 % celkové energie (Jennes, 1986).

Mateřské mléko je bohatší na lecitin než mléko kravské. Kravské mléko však obsahuje více fosforu z důvodu vyššího obsahu kaseinu. Proteiny představují 75 % z celkového dusíku mateřského mléka, což je nejnižší podíl z mléka veškerých savců, na druhou stranu mateřské mléko obsahuje ze všech savčích mlék největší obsah nebílkovinného dusíku. V mateřském mléce je 40 % kaseinů a 60 % syrovátkových bílkovin. Hlavními syrovátkovými bílkovinami jsou α -laktalbumin, laktoferin, imunoglobulin A, lysozym a albumin. Laktoferin je glykoprotein, který transportuje železo a podporuje jeho vstřebávání, vykazuje antibakteriální aktivitu. Imunoglobulin A je hlavním imunoglobulinem mateřského mléka, který dítě chrání před respiračními virovými infekcemi a před mnoha bakteriemi a parazity. Bifidus faktor mateřského mléka podporuje růst laktobacilů, což má pozitivní vliv na potlačení škodlivých střevních bakterií. Lysozym je enzym, který dítě chrání proti bakterii *Escherichia coli* a *Salmonella* spp. Mezi nebílkovinné dusíkaté látky mateřského mléka patří močovina, nukleotidy, peptidy a volné aminokyseliny. Tělo dítěte není schopno syntetizovat dostatečné množství taurinu, který je důležitým neurotransmiterem a neuromodulátorem v mozku a sítnici. Tato látka je však v mateřském mléce přítomna ve vysokých koncentracích. Z tohoto hlediska je příjem mateřského mléka v kojeneckém období obzvláště důležitý. Co se týče mléčného cukru, laktózy, v mateřském mléce se vyskytuje v nejvyšších koncentracích ze všech savčích mlék a tvoří přibližně 40 % celkové energie poskytované mateřským mlékem. Obsah minerální složky mateřského mléka je 0,19 – 0,34 % (Bernabucci et al., 2013).

3.7.2 Význam pro výživu kojenců

Kojení má ve výživě novorozence nezastupitelnou roli. Je známo, že děti, krmené náhradami mateřského mléka trpí častěji meningitidami, záněty středního ucha, dýchacího ústrojí a močových cest než děti kojené. Důvodem je mnoho způsobů, kterými pomáhá mateřské mléko novorozenci vyhnout se infekcím a dalším onemocněním. To je důležité zejména v

prvních měsících věku, kdy dítě nemá ještě plně vyvinutý imunitní systém. Během těhotenství přechází protilátky do plodu skrz placentu. Tyto protilátky kolují krví dítěte ještě několik týdnů až měsíců po narození. Ničí bakterie, viry a mrtvé buňky. Kojené děti však prostřednictvím mateřského mléka získávají další protilátky, bílkoviny a imunitní buňky. Tyto molekuly a buňky pomáhají zabránit mikroorganismům, aby vnikli do tkání. Některé působí v gastrointestinálním traktu tak, že blokují adhezi mikrobů na epitel střeva. Mateřským mlékem se do těla dítěte dostávají též fagocyty, které jsou schopny ničit mikroby přímo. Mateřské mléko také obsahuje chemické látky, které posilují vlastní imunitní odpověď.

Důležitou součástí mateřského mléka jsou protilátky neboli imunoglobuliny. Je známo pět různých forem – IgA, IgD, IgE, IgG a IgM. Všechny tyto typy protilátek se v mateřském mléce vyskytují, převládající protilátkou je však IgA, jejíž výskyt je nejčastější ve sliznici střeva a dýchacím systému. Tyto protilátky jsou složeny ze dvou molekul IgA a ze sekreční komponenty, která protilátky chrání před degradací kyselinou chlorovodíkovou v žaludku a před trávicími enzymy žaludku a střev. Nekožené děti získávají IgA až několik měsíců po narození prostřednictvím vlastního imunitního systému a do té doby jsou tedy mnohem náchylnější na infekce. Protilátky přijaté s mateřským mlékem mají mnoho výhod. Velkou výhodou je, že získané imunoglobuliny jsou cílené proti patogenům z bezprostředního okolí dítěte, matka totiž syntetizuje protilátky na základě patogenů vyskytujících se v jejím okolí a vytváří tak specifické protilátky specifické proti antigenům vyskytujícím se v její blízkosti, a tudíž i v blízkosti dítěte. Protilátky jsou specifické a váží se na specifický antigen, a tak tím, že dítě přijme imunoglobuliny mateřským mlékem, může se mnohem rychleji bránit vniklým patogenům. Díky tomu se v těle dítěte předejde zánětlivému procesu, který by mohl zničit kromě mikroorganismů i zdravou tkáň.

Druhou velmi významnou vlastností protilátek mateřského mléka je schopnost ignorovat potřebné bakterie, vyskytující se přirozeně ve střevech dítěte. Střevní mikroflóra potlačuje vznik škodlivých střevních bakterií a tím podporuje správnou funkci střev.

Kromě imunoglobulinů existují další molekuly, které zabraňují vniknutí patogenů do sliznic. Například oligosacharidy často obsahují vazebná místa pro bakterie, jejich navázáním oligosacharidy bakterie zachytí, vytvoří neškodné komplexy a jsou spolu s nimi z organismu dítěte vyloučeny. Obdobně působí muciny, obsahující velké množství bílkovin a sacharidů, přítomné rovněž v mateřském mléce. Významnou antimikrobní látkou je laktoferin. Většina bakterií, například *Staphylococcus aureus*, potřebuje k životu železo. Laktoferin je schopný se vázat na dvě molekuly železa, a tím způsobí nedostupnost železa pro bakterie. Podobně

působí B12 vázající protein. Neopomenutelný je také bifidus faktor, který naopak podporuje růst prospěšné bakterie *Lactobacillus bifidus*. Příznivě na dětskou imunitu působí také volné mastné kyseliny, které narušují membrány virů, například *Varicella Zoster*. V kolostru se hojně nachází též interferon, který pomáhá svou silnou antivirovou aktivitou. Dále pak fibronektin se svou schopností fagocytózy a možností minimalizovat zánět.

Významnou součástí mateřského mléka, a zejména mleziva, jsou leukocyty, které bojují proti infekci a aktivují obranné mechanismy. Neutrofilů cirkulují krevním oběhem a působí jako fagocyty ve střevech dítěte. Makrofágy tvoří 40 % leukocytů mleziva, mají fagocytární funkci a jsou schopny syntetizovat lysozym, který následně působí v trávicím traktu dítěte. Lysozym je enzym, který má schopnost ničit bakterie narušením jejich buněčné stěny.

10 % bílých krvinek mléka je tvořeno lymfocyty. Z toho 20 % jsou B-lymfocyty a 80 % T-lymfocyty. B-lymfocyty jsou základními buňkami specifické, humorální, protilátkové imunity. Dozrávají v lymfatických orgánech až po setkání s antigenem. T-lymfocyty jsou součástí specifické buněčné imunity a ničí napadené buňky nebo vysílají chemické signály, které mobilizují další buňky imunitního systému. Lymfocyty v mléce mají odlišné chování od lymfocytů krevních. Například v přítomnosti *Escherichia coli*, která může způsobit vážné onemocnění dětí, se lymfocyty mléka množí a zabezpečují tak menší riziko pro kojence. Lymfocyty mateřského mléka také syntetizují různé chemické látky, zodpovědné za posílení vlastní imunity kojence.

Je známo, že mateřské mléko má četné blahodárné účinky na imunitní systém novorozence, například rychlejší imunitní odpověď a produkci vyššího množství protilátek v porovnání s dětmi nekojenými, vyšší nepropustnost sliznic pro případné patogeny, vyšší odolnost proti infekcím močových cest. Kojení působí jednoznačně pozitivně na zdravý vývoj nejen dítěte, ale všech savčích mláďat (Newman, 1995).

4 Závěr

Práce podala literární přehled o složení kaseinových a syrovátkových bílkovin různých druhů hospodářských zvířat, jejich význam v humánní výživě i při výrobě mléčných výrobků a faktorech, které mohou obsah i složení bílkovin v mléce ovlivnit. Pozornost byla věnována i mléku mateřskému. Mléko obsahuje různorodou skupinu proteinů, z nichž každý má nezastupitelnou úlohu. Složení mléčné bílkoviny je následující. Hlavní část bílkoviny většiny

mlék tvoří kaseiny, které se dále dělí na α_1 -, α_2 -, β -, a κ -kaseiny. Další významnou bílkovinou mléka jsou syrovátkové bílkoviny. Jejimi hlavními složkami je α -laktalbumin a β -laktoglobulin. V menšině se v ní však vyskytují i další bílkoviny, např. sérový albumin, imunoglobuliny, laktoferin, glykomakropeptid, proteoso-peptony, laktoperoxidáza. Vedle kaseinů a syrovátkových bílkovin je možné v mléce nalézt i jiné bílkoviny a nebílkovinné dusíkaté látky.

Kaseiny i syrovátkové bílkoviny mají význam ve výživě mláďat i člověka a důležitou roli hrají ve výrobě potravin. Surovátka má pozitivní vliv na léčbu kardiovaskulárních poruch, regulaci BMI, na podporu imunitního systému, antioxidační aktivity, zvládnání stresu, zlepšení svalových funkcí, absorpce živin, má i protirakovinnou aktivitu. Surovátka má pozitivní složení svým obsahem mnoha vitaminů, minerálů a aminokyselin. Pozitivní vliv má na správnou funkci ledvin a střev, detoxikaci organismu, úpravu metabolismu. Má také probiotické a protizánětlivé účinky, snižuje krevní cholesterol a díky obsahu mléčných kyselin zlepšuje příjem vápníku. V potravinářství se využívá při výrobě syrovátkových sýrů, alkoholických i nealkoholických nápojů, proteinových doplňků stravy, syrovátkových permeátů. Slouží k výrobě biomasy v krmivářství, výrobě etanolu, mléčné kyseliny, propionové kyseliny a substrátů pro bakterie, plísně či kvasinky. Ze surovátky se také izoluje laktóza, vyrábějí se laktózové sirupy nebo sladidla.

Biologickou funkcí kaseinu je transport vápníku a fosforu. Vysoký obsah fosfátů jim umožňuje vázat velké množství vápníku, obsahují vysoký obsah aminokyseliny lysinu. Kromě vápníku mají schopnost vázat zinek a další kovy. V žaludku tvoří sraženinu, což napomáhá efektivnímu trávení mléka. Nezastupitelnou úlohu mají při výrobě tvarohů a sýrů. Při výrobě sýrů či tvarohů se využívá schopnost volného kaseinu srážet se v kyselém prostředí. Existují dva druhy srážení kaseinu: kyselé a sladké. Ke kyselému srážení dochází po okyselení a ke sladkému po přidání syřidla. Kyselé srážení se využívá při výrobě tvarohu a sladké srážení při výrobě sýrů.

Bakalářská práce mně poskytla přehled o bohatém složení mléčné bílkoviny a rozšířila přehled o veškerých možnostech využití mléka, o výjimečnosti jeho složení a důležitosti pro mláďata i novorozence.

5 Seznam literatury

Ahmad, S., Anjum, F. M., Huma, N., Sameen, A., Zahoor, T. 2013. Composition and physico-chemical characteristics of buffalo milk with particular emphasis on lipids, proteins, minerals, enzymes and vitamins. *J Anim Plant Sci*, 23 (1 Suppl). 62-74.

Ballard, K. D., Bruno, R. S. 2015. Protective role of dairy and its constituents on vascular function independent of blood pressure-lowering activities. *Nutrition reviews*, 73 (1). 36-50.

Barth, C. A., Behnke, U. 1997. Nutritional physiology of whey and whey components. *Die Nahrung*, 41 (1). 2-12.

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

Eriksen, E. K., Vegarud, G. E., Langsrud, T., Almaas, H., Lea, T. 2008. Effect of milk proteins and their hydrolysates on in vitro immune responses. *Small Ruminant Research*, 79 (1). 29-37.

Farah, Z. 1993. Composition and characteristics of camel milk. *Journal of Dairy Research*, 60 (04). 603-626.

Fox, P. F. 2003. Milk proteins: general and historical aspects. In *Advanced Dairy Chemistry—1 Proteins* (pp. 1-48). Springer US.

Gajdůšek, S. 2003. *Laktologie*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. Brno. 78 s. ISBN 80-7157-657-3.

Ginger, M. R., Grigor, M. R. 1999. Comparative aspects of milk caseins. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 124 (2). 133-145.

- Hejtmánková, A., Pivec, V., Trnková, E., Dragounová, H. 2012. Differences in the composition of total and whey proteins in goat and ewe milk and their changes throughout the lactation period. *Czech J. Anim. Sci*, 57 (7). 323-331.
- Holsinger, V. H., Posati, L. P., DeVilbiss, E. D. 1974. Whey beverages: A review. *Journal of Dairy Science*, 57 (8). 849-859.
- Hurley, W. L. 2012. Milk protein. InTech Prepress. Novi Sad. 352 s. ISBN 978-953-51-0743-9
- Jenness, R. 1986. Symposium: species variation in mammary gland function. *J Dairy Sci*, 69. 869-885.
- Kadlec, P., Melzoch, K., Voldřich, M. 2009. Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin. Key Publishing. Ostrava. 536 s. ISBN 978-80-7418-051-4.
- Kaminogawa, S., Yamauchi, K. 1974. Similarity between γ -casein and a product of β -casein hydrolysis by milk protease. *Agricultural and Biological Chemistry*, 38 (12). 2343-2348.
- Keri Marshall, N. D. 2004. Therapeutic applications of whey protein. *Alternative Medicine Review*, 9 (2). 136-156.
- Kontopidis, G., Holt, C., Sawyer, L. 2004. Invited review: β -lactoglobulin: binding properties, structure, and function. *Journal of dairy science*, 87 (4). 785-796.
- Kopřiva, V. 2011. Glutathion - aktuální biomolekula: Doplnkový studijní materiál [online]. s. 3 [cit. 2017-03-23]. Dostupné z: <http://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/glutathion.pdf>
- Kussendrager, K. D., Van Hooijdonk, A. C. M. 2000. Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. *British Journal of Nutrition*, 84 (S1). 19-25.

Larson, B. L., Kendall, K. A. 1957. Protein Production in the Bovine. Daily Production of the Specific Milk Proteins during the Lactation Period¹. *Journal of Dairy Science*, 40 (4). 377-386.

Mahmood, A., Usman, S. 2010. A comparative study on the physicochemical parameters of milk samples collected from buffalo, cow, goat and sheep of Gujrat, Pakistan. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9 (12). 1192-1197.

Malacarne, M., Martuzzi, F., Summer, A., Mariani, P. 2002. Protein and fat composition of mare's milk: some nutritional remarks with reference to human and cow's milk. *International Dairy Journal*, 12 (11). 869-877.

McKenzie, H. (Ed.). 2012. *Milk Proteins VI: Chemistry and molecular biology*. Elsevier.

Nečas, E. 2009. *Obecná patologická fyziologie*. Karolinum. Praha. 377 s. ISBN: 978-80-246-1688-9

Newman, J. 1995. How breast milk protects newborns. *Scientific American*, 273 (6). 76-79.

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

Pintado, M. E., Macedo, A. C., Malcata, F. X. 2001. Review: technology, chemistry and microbiology of whey cheeses. *Revista de Agaroquímica y Tecnología de Alimentos*, 7 (2). 105-116.

Potůčková, M. Úvod a složení mléka. 4th October 2016. pers. comm.

Siso, M. G. 1996. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. *Bioresource Technology*, 57 (1). 1-11.

Slavík, P., Hartlová, H., Vodková, Z. 2010. *Zoohygiena*. Katedra veterinárních disciplín. Praha p. 196. ISBN

Suková, I. 2006. Syrovátka v potravinářství. Ústav zemědělských a potravinářských informací.

Swaisgood, H. E. 1992. Chemistry of the caseins. Advanced dairy chemistry, 1. 63-110.

Velíšek, J. 2002. Chemie potravin. OSSIS. Tábor. 331 s. ISBN 80-86659-00-3.

Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. Chemie potravin. OSSIS. Tábor. 580 s. ISBN 978-80-86659-17-6.

Yateem, A., Balba, M. T., Al-Surrayai, T., Al-Mutairi, B., Al-Daher, R. 2008. Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. Int. J. Dairy Sci, 3 (4). 194-199.