

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality zemědělských produktů**



**Vliv genetických variant kaseinu na využitelnost mléka v  
potravinářství**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Helena Kavalcová**

**Obor studia: Kvalita produkce**

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

© 2018 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv genetických variant kaseinu na využitelnost mléka v potravinářství" 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 neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20.4.2018

---

### **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí Ing. Veronice Legarové, Ph.D. za odborné vedení, vstřícný a milý přístup a trpělivost. Také bych ráda poděkovala své rodině a partnerovi za podporu a vytvoření klidných podmínek umožňujících mi napsat tuto práci.

# Vliv genetických variant kaseinu na využitelnost mléka v potravinářství

## Souhrn

Tato bakalářská práce se věnuje vztahu mléčných bílkovin kaseinů a jejich genetickému polymorfismu k vlastnostem mléka. V první části práce je popsán význam mléka. Definovány jsou i jeho další charakteristiky jako složení, druhy a technologické vlastnosti. Detailně jsou charakterizovány i kaseiny a jejich základní frakce. Zbylé části jsou věnovány genetickému polymorfismu kaseinů a jeho vlivu na kvantitativní a kvalitativní parametry mléka, konkrétně vlivu na jeho složení, technologické vlastnosti a vlivu na lidské zdraví. Je popsán i výskyt genetických polymorfismů v rámci určitých plemen dojnic.

Celá práce se prioritně vztahuje ke kravskému mléku, objevují se ale i souvislosti s mlékem kozím.

V kravském mléce se vyskytuje zhruba 80 % kaseinu z celkového množství bílkovin. Zbytek tvoří syrovátkové bílkoviny. Kasein a jeho polymorfismus je rozhodujícím faktorem úspěšného procesu výroby mléčných výrobků.

Kasein tvoří základní frakce, kterými jsou  $\alpha$ s-kasein (který se dále dělí na  $\alpha$ s1-CN a  $\alpha$ s2-CN),  $\beta$ -kasein a  $\kappa$ -kasein. Všechny tyto frakce se vyskytují v kravském mléce. Existují i další frakce, ale ty se považují za deriváty kaseinu.

Alela C  $\alpha$ s1-kaseinu se projevuje lepšími sýrašskými vlastnostmi než alela A. Varianty  $\beta$ -kaseinu B a C mají vliv na vznik kvalitnější sýřeniny oproti alele A.  $\kappa$ -kasein je významný zejména při výrobě sýrů. Nejkratší doba koagulace je spojena s jeho genotypem BB. Naopak nejdelší doba koagulace připadá genotypu AA. Nejlepší jakost sýřeniny byla zaznamenána pro genotyp AA.

V rámci kaseinů je  $\alpha$ s1-kasein považován za hlavní alergen v kravském mléce. Alternativou kravského mléka v jídelníčku alergika může být kozí mléko, které obsahuje méně  $\alpha$ s1-kaseinu.  $\beta$ -kasein a jeho varianta A1 má negativní vliv na lidské zdraví. V trávicím traktu se rozkládá na  $\beta$ -kasomorfin-7, který se jeví jako možná příčina například syndromu náhlého úmrtí kojenců.

**Klíčová slova:** genetický polymorfismus, kasein, kravské mléko, lidské zdraví

# Influence of casein genetic variants on the use of milk in the food industry

## Summary

This bachelor thesis deals with the relationship of milk protein caseins and their genetic polymorphism to the properties of milk. The first part explains the importance of milk. Other characteristics, such as composition, types and technological properties, are described too. The caseins and their basic fractions are described in detail. The remaining parts are dedicated to the genetic polymorphism of caseins and its influence on the quantitative and qualitative parameters of milk, namely the influence on its composition, technological properties and influence on human health. The occurrence of genetic polymorphisms in certain breeds of dairy cows is also described.

All the work is primarily related to cow's milk, but there is also a connection with goat's milk.

In cow's milk, approximately 80 % of casein is present in total protein. The rest is whey protein. Casein and its polymorphism is a decisive factor in the successful process of dairy production.

Casein forms the basic fractions, which are  $\alpha$ s-casein (which is further divided into  $\alpha$ s1-CN and  $\alpha$ s2-CN),  $\beta$ -casein and  $\kappa$ -casein. All of these fractions are present in cow's milk. There are also other fractions, but they are considered as casein derivatives.

The C allele of  $\alpha$ s1-casein exhibits better cheeseing properties than allele A. Variants  $\beta$ -casein B and C have an effect on the appearance of a higher quality curd compared to the A allele.  $\kappa$ -casein is particularly important in the production of cheeses. The shortest coagulation time is associated with its genotype BB. Conversely, the longest coagulation time is associated with the AA genotype. The best quality curd was recorded for the genotype AA.

In caseins,  $\alpha$ s1-casein is considered to be the major allergen in cow's milk. An alternative to cow's milk in the allergic diet can be goat's milk which contains less  $\alpha$ s1-casein.  $\beta$ -casein and its variant A1 has a negative effect on human health. In the digestive tract, it is decomposed into  $\beta$ -casomorphine-7, which appears to be a possible cause of, for example, sudden infant death syndrome.

**Keywords:** bovine milk, casein, genetic polymorphism, human health

# Obsah

<b>1 Úvod.....</b>	<b>7</b>
<b>2 Cíl práce .....</b>	<b>8</b>
<b>3 Přehled literatury .....</b>	<b>9</b>
<b>3.1 Mléko .....</b>	<b>9</b>
3.1.1 Definice, funkce.....	9
3.1.2 Význam mléka pro člověka .....	9
3.1.3 Druhy mléka .....	10
3.1.4 Složení mléka.....	12
3.1.4.1 Kaseiny .....	14
3.1.5 Technologické vlastnosti mléka.....	20
<b>3.2 Genetický polymorfismus .....</b>	<b>22</b>
3.2.1 Genetický polymorfismus $\alpha$ 1-kaseinu.....	22
3.2.2 Genetický polymorfismus $\alpha$ 2-kaseinu.....	23
3.2.3 Genetický polymorfismus $\beta$ -kaseinu .....	23
3.2.4 Genetický polymorfismus $\kappa$ -kaseinu .....	24
<b>3.3 Vliv genetických variant kaseinu .....</b>	<b>24</b>
3.3.1 Kaseiny a mléko.....	24
3.3.2 Kaseiny a technologické vlastnosti mléka .....	26
3.3.3 Kaseiny a lidské zdraví .....	28
<b>4 Závěr.....</b>	<b>31</b>
<b>5 Seznam použité literatury.....</b>	<b>32</b>

# 1 Úvod

Kvalita všech potravin používaných k lidské spotřebě je v současné době z velké části posuzována podle jejich možného příspěvku k zachování či zlepšení zdraví spotřebitele. Mléko je nepostradatelnou potravinou pro mláďata savců a je zástupcem velice kvalitních živin i v potravě dospělých lidí. Jedná se o tzv. komplexní potravinu s příznivým vlivem na lidské zdraví, a to zejména díky zdroji dobře vstřebatelného vápníku a dalších minerálních látek.

Pro mlékařský průmysl znamená mléko základní surovinu pro výrobu veškerých mléčných výrobků, jako jsou například fermentované mléčné výrobky, máslo a různé druhy sýrů. Je tedy páteří celého mlékařského průmyslu. Zásadní roli hraje jeho kvalita a především složení. Ne všechny mléčné bílkoviny jsou totiž stejně vhodné například pro výrobu sýrů. Ukazatelem kvality a výtěžnosti finálního produktu je právě složení mléčných bílkovin. Pro mlékařský průmysl je významné zejména složení mléčných bílkovin kaseinů, které u nejpoužívanějších druhů mlék, jako je kravské, buvolí, kozí či ovčí, zauímají nejméně 75 % všech bílkovin. Kaseiny a jejich genetický polymorfismus totiž určují složení mléka, jeho technologické vlastnosti a částečně i jeho vliv na lidské zdraví. Výtěžnost mléčných výrobků, která též souvisí se složením kaseinů v mléce, pak přímo ovlivňuje i ekonomiku mlékařského průmyslu.

Vztah mezi genetickým polymorfismem kaseinů a kvantitativními a kvalitativními znaky mléčné užitkovosti byl zkoumán řadou autorů. První výskyt polymorfismu mléčných bílkovin popsali Aschaffenburg a Drewery v roce 1955. Postupně došlo k identifikaci různých variant i u dalších genů kódujících mléčné bílkoviny. K detekci polymorfismu mléčných bílkovin se v dnešní době využívají molekulárně-genetické analýzy.

## **2 Cíl práce**

Cílem bakalářské práce je vypracování kvalitní literární rešerše zaměřené na problematiku genetických variant kaseinu v kravském mléce. Vysvětlit význam kaseinů v mléce, popsat výskyt polymorfismu kaseinů v populacích dojnic, jejich vliv na technologické vlastnosti mléka a možný dopad na lidské zdraví. Posoudit využitelnost konkrétních typů mlék v potravinářství.



## **3 Přehled literatury**

### **3.1 Mléko**

#### **3.1.1 Definice, funkce**

Mléko je vylučováno všemi druhy savců. Je základním zdrojem výživy a imunologické ochrany mláďat (Wong, 1999). Je to komplexní potravina, protože se v něm nachází všechny tři základní živiny, jako jsou bílkoviny, tuky a sacharidy, dále široké spektrum vitaminů, dobře vstřebatelný vápník a další minerální látky. Nutriční funkce spočívá v poskytování esenciálních aminokyselin, které jsou důležité pro správný vývin svaloviny a dalších tkání (Fox a McSweeney, 1998). Imunitní funkce je upevňována protilátkami a vitaminy nacházejících se v mléce. Důležitá je i jeho fyziologická funkce, která slouží k přenosu minerálů a má význam i pro kardiovaskulární a nervový systém (Kopáček, 2009). Tyto funkce mléka jsou plněny na základě přítomnosti velkého množství charakteristických sloučenin, jako jsou například právě aminokyseliny či vitaminy. Mezi jednotlivými druhy savců jsou však rozdíly v kvantitativním složení mléka, které jsou pravděpodobně způsobeny rozdíly v metabolických procesech matek v laktaci a v nutričních požadavcích mláďat. Lidé kromě konzumace mateřského mléka po narození konzumují také mléko od jiných druhů savců, především od krav, buvolů, koz a ovcí, které každý rok dodají přes 200 bilionů litrů mléka pro lidskou spotřebu (Wong, 1999). Konzumují ho nejen v mládí, protože člověk je jediným živočichem, který je schopen mléko řádně trávit i v dospělém věku. U ostatních druhů je konzumace mléka vyhrazena pouze do té doby, dokud mláďata nedokážou samostatně přejít a trávit pevnou stravu (Kopáček a Ellmann, 2009).

#### **3.1.2 Význam mléka pro člověka**

Význam konzumace mléka spočívá především v přísunu kvalitních bílkovin, které jsou v mléku bohatě zastoupeny. Bílkoviny tvoří princip života. Jsou totiž základem veškerých buněčných struktur, mezibuněčných tkání, hormonů a enzymů (Babička a Kouřimská, 2006).

Velký význam pro člověka má také dobře využitelný vápník vyskytující se v mléce. Mléko a mléčné výrobky zajišťují zhruba 70 % přísunu vápníku, bez nich je tedy těžké zajistit denní potřebu vápníku člověka. Vápník v mléce je velice dobře stravitelný a jeho postavení je v podstatě nezastupitelné, jelikož je základním prvkem pro stavbu páteře a udržuje dobrý stav kostí během celého života. Zásadní význam má i pro spoustu životních funkcí, jako je například srážení krve, srdeční a svalová činnost nebo funkce enzymů (Kopáček, 2009). Kromě vápníku jsou z výživového hlediska velmi důležité i jiné minerální látky obsažené v mléce.

Je to především fosfor, který spolu s vápníkem plní nepostradatelnou funkci pro stabilitu kostry (Babička a Kouřimská, 2006).

V neposlední řadě má velký význam pro člověka také mléčný tuk, který je například bohatým zdrojem vitamínu A (Kopáček, 2009).

### **3.1.3 Druhy mléka**

Mezi základní rozdělení mléka patří dělení podle živočichů, kteří mléko produkují. Tímto dělením se rozlišuje zejména mléko kravské, kozí, ovčí a buvolí. Právě tato mléka jsou z hlediska světové produkce nejvýznamnější.

V České republice se v potravinářském průmyslu využívá nejvíce mléko kravské. Je základem pro široké spektrum mléčných výrobků, od fermentovaných mléčných výrobků přes máslo a sýry až po sušené mléko a mnohé další. Kozí a ovčí mléko je využíváno zpravidla k výrobě sýrů (Kopáček, 2014). Produkce buvolího mléka ve větším měřítku je v našich podmínkách vyloučena, ovšem celosvětově se jeho produkce řadí na druhé místo, hned za mlékem kravským (Krpálková, 2013; Kopáček, 2014).

Mléko kozí je svým základním složením velmi podobné výše zmíněnému kravskému mléku. Rozdílné jsou technologické vlastnosti při zpracování kozího mléka, kdy se kasein během sýření sráží rychleji a je méně citlivý k záhřevu než v případě zpracování mléka kravského (Konečná et al., 2014).

V případě ovčího mléka se základní složení od kravského liší, ovčí totiž obsahuje větší množství bílkovin (Kopřiva, 2011).

Veškerá druhová mléka lze rozdělit podle jejich chemického složení do různých kategorií. Podle podílu hlavních druhů bílkovin se mléka dělí na kaseinová a albuminová. Z hlediska zpracování v mlékárenském průmyslu mají větší význam mléka kaseinová. Kaseinové mléko produkují zpravidla přežvýkavci, jedná se tedy například o mléko kravské, kozí, ovčí či buvolí. V tomto případě kasein tvoří více než 75 % z celkového obsahu bílkovin. V případě, že se v mléce nachází z celkových bílkovin méně než zmíněných 75 % kaseinu, jedná se o mléko albuminové. Produkují ho masožravci, všežravci a býložravci s jednoduchým žaludkem. Příkladem je mléko kobyly, oslí či mateřské (Kovářová, 2011).

Během laktace lze zaznamenat typické rozdíly ve složení a vlastnostech mléka jednotlivých druhů. Dle stádia laktace se hovoří o mléku zralém a nezralém. Nezralá mléka se dále dělí na mlezivo, starodojné mléko a aberantní mléko (Kadeřábková, 2011).

Zralé mléko se vyznačuje vhodnými sensorickými vlastnostmi, hodí se tedy k dalšímu průmyslovému zpracování. V průběhu laktace dochází ke změnám obsahu hlavních složek,

ovšem například obsah vápníku či fosforu zůstává po celou dobu prakticky na stejné úrovni (Gajdůšek, 2003).

Mlezivo neboli kolostrum je produkováno mléčnou žlázou krátce před porodem. Jedná se o nažloutlou, hustou, lepkavou tekutinu s mírně slanou chutí díky obsahu minerálních látek, zejména hořčíku. Je typické vysokým obsahem sušiny, čímž se značně odlišuje od zralého mléka (Jelínek et al., 2003). Rozdíl složení zralého mléka a mleziva je znázorněn v tabulce 1. Funkcí mleziva je především imunologická ochrana a výživa (Kaas, 2001). Během prvních hodin po porodu je kolostrum bohaté na bílkoviny, především imunoglobuliny, jejichž obsah se během několika hodin rychle snižuje (Zachwieja et al., 2000). Bezprostředně po porodu tedy poskytuje ve velmi výhodném složení většinu látek zajišťujících životní funkce mláděte. To znamená, že je nutné co nejdříve po narození zajistit dostatečné množství mleziva, protože to přímo rozhoduje o zdraví a správném vývoji mláděte (Kráčmar et Zeman, 2003). Mléko do 5 dnů po porodu a mléko produkováno krátkou dobu před porodem je vyloučeno z dodávky do mlékárny. Převážná část složek mleziva dosáhne složení odpovídající zralému mléku během 5 dnů po porodu (Prümmer, 2007).

**Tabulka 1** Průměrné složení kravského mleziva a mléka v % (Jelínek et al., 2003)

<i>Složky (%)</i>	<i>Mlezivo</i>	<i>Mléko</i>
<i>Voda</i>	72,0	87,0
<i>Sušina</i>	28,0	13,0
<i>Bílkoviny celkem</i>	20,0	3,3
<i>Imunoglobuliny</i>	11,0	0,1
<i>Kasein</i>	5,0	2,7
<i>Laktóza</i>	2,5	5,0
<i>Mléčný tuk</i>	3,4	3,6
<i>Minerální látky</i>	1,8	0,7

Starodojné mléko je mléko vylučované vysokobřezími samicemi. V posledních týdnech před porodem dochází ke změnám složení i vlastností mléka. Složení je podobné mlezivu – klesá obsah kaseinů, a naopak se zvyšuje obsah sérových bílkovin, snižuje se obsah laktózy a tukových kuliček, v mléce se nachází větší množství somatických buněk a zároveň se mění i samotné vlastnosti produkovaného mléka. Stejně jako mlezivo je i toto mléko vyloučeno

z dodávky do mlékárny. Mléko aberantní se označuje jako nepravé mléko, jedná se totiž pouze o sekrety mléku podobné (Gajdůšek, 2003).

#### **3.1.4 Složení mléka**

Mléko je průměrně složeno z 87,5 % z vody, zbylých 12,5 % je sušina. Průměrné složení mléka u různých živočišných druhů znázorňuje tabulka 2.

Nejkomplexnější složkou mléka jsou dusíkaté látky v něm obsažené. Zároveň také stanovují základní fyzikální a chemické vlastnosti mléka a některé dusíkaté látky mají velmi důležité biologické funkce. Dusíkaté látky se dělí na kasein, syrovátkové bílkoviny, proteosomy a peptony, ostatní bílkoviny mléka a nebílkovinné dusíkaté látky (Babička a Kouřimská, 2006).

Bílkoviny obecně se v mléce nachází v množství okolo 3,2 %. Mléčné bílkoviny se pak dělí na kasein a syrovátkové bílkoviny. Kasein z celkového množství bílkovin v mléce zastává 2,6 %, syrovátkovým bílkovinám připadá 0,6 %. Mléčné bílkoviny spadají do kategorie plnohodnotných bílkovin, protože zahrnují všechny esenciální aminokyseliny v dostatečném množství. Řadí se hned na druhé místo nevhodnějších bílkovin. Zejména syrovátkové bílkoviny mají vysokou výživovou hodnotu díky velkému obsahu rozvětvených aminokyselin. Nejbohatším zdrojem mléčných bílkovin jsou v rámci potravin sýry (Kohout et al., 2016).

Vedle bílkovin je další živinou nacházející se v mléce mléčný tuk, který je obsažen průměrně v množství 3,7 %. Je významným zdrojem energie, nositelem vitaminů rozpustných v tucích a díky přítomnosti mastných kyselin v mléčném tuku s krátkým a se středně dlouhým uhlíkovým řetězcem je tuk z mléka dobře stravitelný. Mléčný tuk přispívá k dobrým sensorickým vlastnostem mléka a mléčných výrobků, jako je vůně, chuť, barva i textura (Kohout et al., 2016).

V mléce všech savců se nachází také sacharidy, jejichž hlavním představitelem je laktóza. Ta se vyskytuje výhradně jen v mléce, proto se jí říká mléčný cukr. Díky ní má mléko nasládlou chuť. Podílí se také na osmotickém tlaku v mléce. Kromě laktózy mléko obsahuje v malých množstvích i další cukry (Gajdůšek, 2003). V mléce se nachází průměrně 4,7 % sacharidů, z čehož laktóze připadá 90 % z celkového množství sacharidů. Laktóza je zdrojem energie a výrazně zvyšuje hladinu glukózy v krvi. Také má pozitivní vliv na optimální absorpci a využití velkého množství vápníku v mléce. Laktóza je výchozí látkou mléčného kvašení, které se uplatňuje při výrobě kysaných mléčných výrobků. Využívá se i v dalších odvětvích potravinářského průmyslu, dále také v průmyslu farmaceutickém a chemickém (Kohout et al., 2016).

**Tabulka 2** Průměrné složení mléka u různých živočišných druhů v % (STOBklub)

<i>Druh mléka</i> (l)	<i>Voda (%)</i>	<i>Bílkoviny (%)</i>	<i>Tuk (%)</i>	<i>Mléčný cukr (%)</i>	<i>Minerální látky (%)</i>
<i>Kravske</i>	87,5	3,3	3,8	4,7	0,7
<i>Kozí</i>	86,6	3,6	4,2	4,8	0,8
<i>Ovčí</i>	83,9	5,2	6,2	4,2	0,9
<i>Buvolí</i>	82,7	4,5	8,0	4,7	0,8

V různých formách jsou v mléce přítomny minerální látky. Mezi hlavní minerální látky obsažené v mléce patří vápník, fosfor, draslík, sodík, chlór, hořčík a síra. Do mléka se dostávají z krve. Mají význam například ve struktuře biomembrán či při regulaci činnosti nervového systému (Kopřiva, 2011). V mléce jsou spojeny mezi sebou a bílkovinami (Gaucheron, 2005). Také aktivují enzymy či jejich složky a mají hlavní význam pro stálost acidobazické rovnováhy v organismu. Tu regulují i v mléce, přesněji se jedná o udržení pH mléka (Gajdůšek, 2003). Obsah vybraných minerálních látek v mléce je zobrazen v tabulce 3.

**Tabulka 3** Průměrný obsah minerálních látek v rámci různých druhů mléka v mg/100 g (Drbohlav a Vodičková, 2002)

<i>Minerály (mg)</i>	<i>Kravske</i>	<i>Kozí</i>	<i>Ovčí</i>
<i>Vápník</i>	110	102 – 203	162 – 259
<i>Fosfor</i>	90	86 – 118	82 – 183
<i>Sodík</i>	58	35 – 65	41 – 132
<i>Hořčík</i>	11	13 – 19	14 – 19

Vápník v mléce je pro organismus využitelný asi ze 30 % oproti většině rostlinných zdrojů, ze kterých je využitelnost pouze 5 – 10 %. Využitelnost vápníku zlepšuje obsah mléčných bílkovin, laktózy a volných aminokyselin, zatímco látky snižující využitelnost vápníku se v mléčných výrobcích nevyskytují. Ve 100 g mléka je v průměru 120 mg vápníku. Mezi nejbohatší zdroje vápníku se řadí tvrdé sýry. Doporučený denní příjem vápníku je u dospělých 1000 mg, přičemž se doporučuje u těhotných a kojících žen zvýšení až na dvojnásobek. U dětí by se měl denní příjem vápníku pohybovat okolo 1200 – 1300 mg (Kohout et al., 2016). Množství vápníku v různých potravinách je znázorněno v tabulce 4.

**Tabulka 4** Množství Ca ve vybraných potravinách (Laktea, o.p.s.)

<i>Potravina (100 g)</i>	<i>Polotučné mléko</i>	<i>Polotučný tvaroh</i>	<i>Eidam (30 %)</i>	<i>Tofu</i>	<i>Špenát</i>
<i>Ca (mg)</i>	118	120	800	510	126

V mléce se nachází též významné množství stopových prvků. Jsou obsaženy v řadě organických sloučenin. Část z nich, například měď, zinek, hořčík nebo železo se váže na membrány tukových kuliček (Kopřiva, 2011).

Jelikož je mléko prvotní a jediný zdroj potravy mláďat, obsahuje veškeré vitaminy, i když některé jen v minimálním množství. Zvýšené množství vitaminů je obsaženo v mlezivu (Kopřiva, 2011). Vitaminy se řadí mezi esenciální biokatalyzátory a nemají energetický ani stavební význam (Navrátilová, 2012).

#### 3.1.4.1 Kaseiny

Kasein je hlavní mléčnou bílkovinou a z technologického pohledu se jedná o nejvýznamnější bílkovinu nacházející se v mléce. Významný je zejména pro sýrařský průmysl (Azevedo et al., 2008). Mléko s vyšším obsahem kaseinů znamená vyšší výtěžek sýra (Schopen et al., 2011). Vyšší obsah kaseinů totiž znamená kratší dobu srážení při výrobě sýra a větší pevnost sraženiny (Czerniawska-Piatkowska et al., 2004). Pevnost sýřeniny pak závisí na složení kaseinu (Heck et al., 2009). Mléko, které obsahuje malé kaseinové micely, při srážení lépe zachycuje kasein na rozdíl od mléka obsahující větší micely, a to znamená menší ztrátu kaseinu přechodem do syrovátky (Bonfatti et al., 2010).

Každá mléčná bílkovina, tedy i kasein, existuje ve dvou či více různých formách. Tomuto jevu říkáme genetický polymorfismus (viz. kapitola 3.2).

Kaseinu připadá 80 % ze všech bílkovin mléka. Zbýlých 20 % jsou syrovátkové bílkoviny (Kamiński et al., 2007). Rozdíl mezi nimi spočívá v jejich vlastnostech. Zastoupení těchto dvou skupin mléčných bílkovin je dáno geneticky, tj. u žádné z dojníc se nemůže změnit. Ovšem například celkové množství bílkovin a poměr kaseinu a syrovátkových bílkovin ovlivňuje velké množství jiných vlivů. Tyto vlivy mohou dokonce úplně přebít vliv genetického polymorfismu mléčných bílkovin. Nejvíce ovlivňujícími faktory jsou potrava a zdravotní stav dojnice (Gajdůšek, 2003).

Kaseiny tvoří nerozpustnou frakci mléčných bílkovin (Ulutas et al., 2009). Jsou syntetizovány buňkami mléčné žlázy. Z pohledu chemie patří mezi fosfoproteiny. Přesněji jde

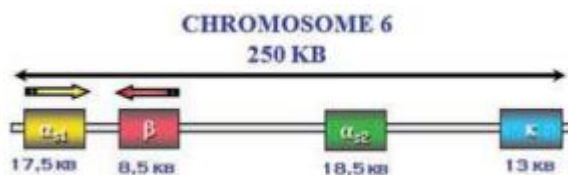
o komplex frakcí fosfoproteinů, u nichž je zjištěna aminokyselinová skladba i struktura. Do základních frakcí kaseinu patří  $\alpha_s$ ,  $\beta$  a  $\kappa$ -kasein, další kaseinové frakce jsou považovány za deriváty. Procentuální zastoupení jednotlivých kaseinových frakcí v kravském mléce je zaneseno v tabulce 5. Všechny tyto frakce mají hned několik genetických variant, které od sebe odlišuje chemická struktura a vlastnosti (Farrell et al., 2004). Zastoupení jednotlivých frakcí podstatně ovlivňuje plemenná příslušnost, která je dána geneticky (Kouřimská et al., 2007). Velkou variabilitou disponují hlavně  $\beta$  a  $\alpha$ -kaseinové frakce (Roncada et al., 2012). V mléku se nachází 4 základní frakce kaseinu, konkrétně jde o  $\alpha_s1$ ,  $\alpha_s2$ ,  $\beta$  a  $\kappa$ -kasein. Jejich procentuální zastoupení v kravském mléce je 45, 10, 34 a 11 % z celkového množství kaseinu obsaženého v mléce (Nentwich et al., 2004).

**Tabulka 5** Zastoupení základních kaseinových frakcí v kravském mléce v % (Velíšek, 2002)

<i>Kaseiny (g.l<sup>-1</sup>)</i>	<i>Podíl v %</i>
<i>Kaseiny celkem</i>	80,0
<i><math>\alpha_s</math>-kasein</i>	42,0
<i><math>\beta</math>-kasein</i>	25,0
<i><math>\kappa</math>-kasein</i>	9,0

Geny, které kódují jednotlivé kaseiny, se nacházejí na 6. bovinním chromozomu (Kučerová et al., 2006; Heck et al., 2009). To je názorně ukázáno na obrázku 1.

**Obrázek 1** Rozmístění genů na bovinním chromozomu 6 (Caroli et al., 2009)

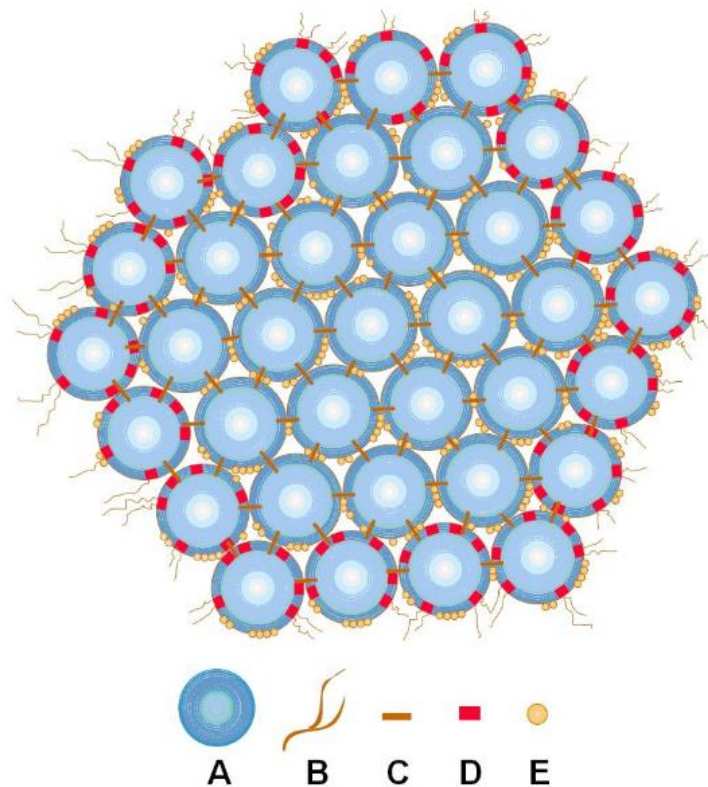


Kromě  $\kappa$ -kaseinu je u všech ostatních frakcí zjištěna velká citlivost na přítomnost vápníku v mléce, protože obsahují zbytky fosfoserinu, který se snadno váže na vápník (Pytel et Šustová, 2017). Tyto citlivé frakce jsou vůči vysrážení vápníkem chráněny na povrchu právě  $\kappa$ -kaseinem (Strzałkowska et al., 2013). Ten totiž obsahuje pouze malé množství fosfoserinových zbytků (Pytel et Šustová, 2017). Zároveň všechny frakce kaseinu mají schopnost vápník vázat, v mléce je tedy kasein přímo navázaný na vápník. Množství vápníku

vázaného ke kaseinu je dáno množstvím fosfoserinových zbytků v molekule (Navrátilová, 2012).

V mléce se kaseinové frakce vyskytují ve formě velkých koloidních útvarů, které jsou označovány jako kaseinové micely (Walstra, 1999). Model kaseinové micely je zobrazen na obrázku 2, kaseinová micela pod mikroskopem je pak na obrázku 3. Je v ní obsaženo asi 20 000 – 50 000 kaseinových molekul. Kaseinová micela je z 93 % tvořena kaseiny, 3 % připadají vápenatým iontům, 3 % jsou fosfáty, 2 % patří fosfátu vázanému jako fosfoserin, 0,4 % je citrát a 0,5 % koloidní fosforečnan vápenatý. Tyto micely dokážou vázat značné množství molekul vody, konkrétně až 2 g na 1 g proteinu (Navrátilová, 2012).

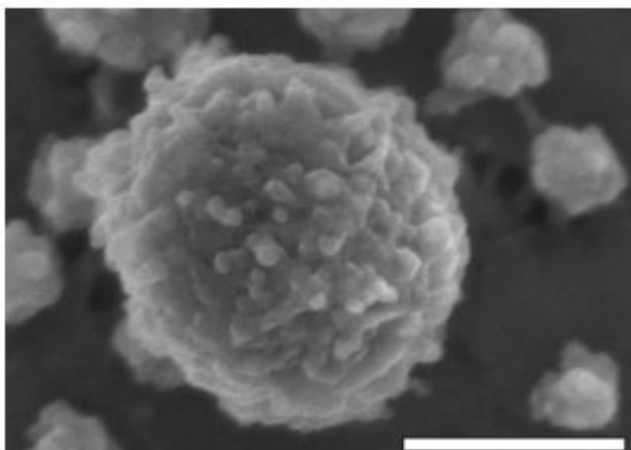
**Obrázek 2** Model kaseinové micely (Food-Info, 2014)



A: submicela; B: vyčnívající řetězec; C: kalcium fosfát; D:  $\kappa$ -kasein; E: fosfátová skupina



**Obrázek 3** Kaseinová micela pod elektronovým mikroskopem, 200nm (Dalglish et al., 2004)



Množství kaseinu v kravském mléce se pohybuje mezi 26 a 37 g.l<sup>-1</sup>. V kozím mléce je obsažen v menším množství, konkrétně v rozsahu 22 – 28 g.l<sup>-1</sup> (Greppi et al., 2008).

#### **$\alpha_S$ -kaseiny (CSN1)**

V rámci kaseinových frakcí jsou hlavní součástí  $\alpha_S$ -kaseiny (CSN1;  $\alpha_S$ -CN).  $\alpha_S$ -kasein zaujímá 40 % z celkových bílkovin mléka. CSN1 se skládá ze dvou nezávislých bílkovin  $\alpha_{S1}$ -kaseinu a  $\alpha_{S2}$ -kaseinu, které se vyskytují v kravském mléce, a to v poměru 4:1.

Celkově mají obě genetické varianty vyšší obsah fosfátových skupin, než jak je tomu u  $\kappa$ -kaseinu.

Obě varianty jsou nutričně důležité, protože mají schopnost vázat vápník (Treweek et al., 2011).

#### **$\alpha_{S1}$ -kasein (CSN1S1)**

$\alpha_{S1}$ -kasein (CSN1S1;  $\alpha_{S1}$ -CN) je složen ze dvou podjednotek, jedné velké a jedné malé (Buňka et al., 2009).

Molekula  $\alpha_{S1}$ -kaseinu kravského mléka obsahuje 8 fosfátových skupin (Treweek et al., 2011). Většina estericky vázané kyseliny fosforečné se nachází mezi 40. a 80. aminokyselinou, což je příčinou hydrofilní povahy  $\alpha_{S1}$ -kaseinu v této oblasti. Jeho ostatní části jsou naopak hydrofobní. Značný obsah estericky vázané kyseliny fosforečné je považován za příčinu vysoké citlivosti tohoto kaseinu k vápenatým iontům. V přítomnosti vápenatých iontů dochází následně k vysrážení  $\alpha_{S1}$ -kaseinu (Buňka et al., 2009).

V kozím mléce se  $\alpha_{S1}$ -kasein vyskytuje mnohem méně, než jak je tomu u mléka kravského (Fantová, 2012).

### **$\alpha$ <sub>S</sub>2-kasein (CSN1S2)**

$\alpha$ <sub>S</sub>2-kasein (CSN1S2;  $\alpha$ <sub>S</sub>2-CN) zaujímá 10 % z celkového kaseinu v kravském mléce. V kravském mléce gen CSN1S2 obsahuje 11 fosfátových skupin (Treweek et al., 2011). Má klíčovou roli při transportu fosforečnanu vápenatého. Tento protein se řadí mezi látky s obrannou funkcí, které podporují antibakteriální schopnosti imunitního systému (Nilsen et al., 2009; Kishore et al., 2013).

Primární struktura je určena 207 aminokyselinami (Gajdůšek, 2003).

Tato kaseinová frakce má dva hydrofilní a dva hydrofobní segmenty (Buňka et al., 2009).  $\alpha$ <sub>S</sub>2-kasein je složen z jedné větší složky, která se označuje jako  $\alpha$ <sub>S</sub>1-kasein a několika dalších menších složek. Tato frakce kaseinu má největší elektroforetickou pohyblivost a sráží se pomocí roztoku chloridu vápenatého, při teplotě přesahující 20 °C a obsahuje nejvyšší podíl fosforu ze všech kaseinových frakcí.

Je citlivější na přítomnost vápenatých iontů oproti ostatní kaseinovým frakcím (Strzałkowska et al., 2013).

$\alpha$ <sub>S</sub>2-kasein je spojován spíše s kozím mlékem, kde se vyskytuje ve značně větším množství, než jak je tomu v kravském mléce (Selvaggi et al., 2014).

### **$\beta$ -kasein (CSN2)**

$\beta$ -kasein (CSN2;  $\beta$ -CN) se v kravském mléce nachází v poměrně významném množství. Připadá mu až 45 % z celkového mléčného kaseinu (Miluchová et al., 2014). Jedná se však o silný alergen (Alexandros et al., 2011).

Polypeptidový řetězec  $\beta$ -kaseinu je složen z 209 aminokyselinových zbytků (Miluchová et al., 2014). Toto složení bylo zjištěno již roku 1972. Izoelektrický bod je situován okolo pH mezi 5,20 – 5,85 (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Stejně jako  $\alpha$ <sub>S</sub>-kaseiny patří mezi fosfoproteiny. Nicméně v porovnání s  $\alpha$ <sub>S</sub>-kaseinem obsahuje méně fosforu. Ve své molekule má pět zbytků kyseliny fosforečné, která se nachází mezi 1. a 40. aminokyselinou. Tato část je hydrofilní. Nepochybně postranní řetězce aminokyselin jsou poté rozmístěny v polohách 136 – 209.

Je velmi citlivý na vápenaté ionty při pokojové teplotě. S ionty vápníku poskytuje  $\beta$ -kasein sůl, která se rozpouští při teplotách 1 °C a nižších, při vyšších teplotách se tato sůl nerozpouští.

Spolu s micelárním kaseinem tvoří  $\beta$ -kasein prekurzor funkčních peptidů. Peptidy vzniknou z  $\beta$ -kaseinu a micelárního kaseinu díky hydrolyze a využití mají v potravinářství nebo

ve výrobě léčiv (Holder et al., 2009).

V kozím mléce je  $\beta$ -kasein považován za hlavní kasein (Marletta et al., 2007).

### **$\kappa$ -kasein (CSN3)**

V roce 1956 byl  $\kappa$ -kasein objeven jako stabilizující protein v kaseinové micelle (Fox a Brodkorb, 2008).

$\kappa$ -kasein (CSN3;  $\kappa$ -CN) tvoří zhruba 12 % z celkového kaseinu v kravském mléce. Jde tedy o minoritní složku mléka. Mají vliv zejména na technologické vlastnosti mléka, ale i na jeho množství a složení (Jandurová et al., 2002). CSN3 se od ostatních kaseinů značně liší, a to nejen svou strukturou, ale i dalšími svými vlastnostmi.

$\kappa$ -kasein je jedním z hlavních proteinů kaseinových micel a má klíčovou roli v otázce jejich stability (Azevedo et al., 2008; Ecroyd et al., 2010). Za pomoci enzymu chymozinu používaného v mlékárenském průmyslu je  $\kappa$ -kasein štěpen na nerozpustný para- $\kappa$ -kasein, který zůstává v sýrenině a na rozpustné kaseinové makropeptidy (Ecroyd et al., 2010). Ke štěpení dochází mezi 105. a 106. aminokyselinou (Walstra et al., 2006).

CSN3 je složen ze 169 aminokyselin a konkrétně se jedná o glykoprotein (Azevedo et al., 2008; Ecroyd et al., 2010). Izoelektrický bod  $\kappa$ -kaseinu je 5,37 pH (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Jedná se o jedinou frakci kaseinu, která je glykolyzována (Buňka et al., 2009) a jako jediná kaseinová frakce se nesráží působením vápených iontů. Proto je jeho funkcí chránit ostatní kaseiny v mléce před srážením.

Oproti již zmíněným kaseinům jsou v molekulách CSN3 přítomny sacharidy D-galaktopyranosa, N-acetyl-D-galaktosoamin a N-acetylneuraminová kyselina společně s galaktózou (Velíšek a Hajšlová, 2009). Hlavní složku  $\kappa$ -kaseinu, a to z 56 %, tvoří rozvětvený tetrasacharid. S vápenatými ionty tvoří  $\kappa$ -kaseiny rozpustné soli, které stabilizují  $\alpha$ <sub>1</sub>-kasein a  $\beta$ -kasein v mléce za přítomnosti iontu vápníku (Velíšek a Hajšlová, 2009).

$\kappa$ -kasein ve své molekule obsahuje dva zbytky cystinu (Walstra et al., 2006).

### **$\gamma$ -kasein**

V případě  $\gamma$ -kaseinu se mluví o derivátu kaseinu, ne přímo o jeho základní frakci (Gajdůšek, 2003).  $\gamma$ -kasein ( $\gamma$ -CN) je totiž výsledkem hydrolýzy  $\beta$ -kaseinu. Konkrétně je produkt jeho postupné hydrolýzy za účasti plazminu nebo bakteriálních proteáz (Walstra et al., 2006). Odštěpením zbytku polypeptidového řetězce s aminokyselinami 1 – 28 vznikne  $\gamma$ 1-kasein a proteosopepton značený jako PP8F. Odštěpením zbytku polypeptidového řetězce

s aminokyselinami 1 – 105 vznikne  $\gamma$ 2-kasein, při odštěpení zbytku aminokyselin 1 – 107 z polypeptidového řetězce vzniká následně  $\gamma$ 3-kasein (Velíšek a Hajšlová, 2009).

$\gamma$ -kaseiny zaujímají téměř nevýznamné procento celkových bílkovin obsažených v mléce, a to pouze 3 – 7 %.

Izoelektrický bod  $\gamma$ -kaseinu se nachází v rozmezí 5,8 – 6,0 pH. Je tedy vyšší než u ostatních frakcí kaseinu (Velíšek a Hajšlová, 2009).

$\gamma$ -kasein je poměrně dobře rozpustný v etanolu (Walstra et al., 2006).

### **3.1.5 Technologické vlastnosti mléka**

Aby se mléko mohlo dále zpracovávat na jednotlivé druhy mlékárenských výrobků, musí mít požadované technologické vlastnosti. Mezi nejvýznamnější z pohledu zpracovatelnosti v mlékárenském průmyslu se řadí kysací schopnost, syřitelnost a tepelná stabilita. V případě čerstvě nadojeného mléka jsou již tyto vlastnosti dány a jsou ovlivněny celou řadou faktorů. Nejvíce jsou technologické vlastnosti ovlivněny podmínkami výživy a krmení a aktuálním zdravotním stavem. Mezi další faktory se pak řadí například plemeno, dědičné založení, pořadí a stádium laktace, roční doba. Jinak je tomu u skladovaného mléka, kde mohou působit ještě další faktory, díky nimž se technologické vlastnosti mohou změnit buď pozitivně, nebo negativně. Při skladování mléka dochází k rozvoji a biochemickému působení kontaminující mikroflóry, čímž dochází ke změnám ve složení. Díky nízkým teplotám, které jsou nutné při skladování, dochází též k fyzikálně – chemickým změnám. V neposlední řadě mohou být technologické vlastnosti negativně ovlivněny i kontaminací mléka cizorodými látkami (Gajdůšek, 2003).

Za úspěšným průběhem všech potřebných mikrobiologických procesů stojí dobrý růst přidaných čistých mlékařských kultur. O tom, zda bude růst kultur úspěšný, rozhoduje kysací schopnost. Kysací schopnost negativně reaguje na přítomnost tzv. inhibičních látek. Její pokles může být také důsledkem celkové změny složení mléka při výskytu poruch sekrece. Horší kysací schopnost může mít příčinu i ve zvýšeném obsahu protilátek jako přirozených inhibitorů (Doležal, 2000). Nízké hodnoty kysací schopnosti poukazují také na výskyt zbytků sanitačních prostředků a reziduí inhibičních látek (Švejcarová et al., 2011).

K největším rizikům technologickým, ale i zdravotním, patří cizorodé, resp. kontaminující inhibiční látky. Z technologického hlediska je velké riziko skutečnost, že tyto látky přímo ovlivňují růst a kysací schopnost přidaných kultur, přestože se tak děje až při výrazně vyšších koncentracích (Gajdůšek, 2003).

Syřitelnost je jednou z nejvýznamnějších technologických vlastností mléka (Čejna, 2008). Je klíčovým kritériem pro výrobu sýrů. Je to schopnost mléka reagovat, resp. srážet se

s přidaným syřidlem a vytvářet gelovitou sraženinu s požadovanými vlastnostmi (Pytel et Šustová, 2017). Tento proces je dvoufázový. V první fázi dojde ke štěpení  $\kappa$ -kaseinu za vzniku para  $\kappa$ -kaseinu a makropeptidu (Ikonen, 2000). V části druhé dochází ke koagulaci, tj. srážení frakcí kaseinu v přítomnosti iontů vápníku. Koagulace je provázána následným vylučováním syrovátky, tzv. synerezi z koagulátu (Horne et Banks, 2005). Ve svém výzkumu Bittante et al. (2012) uvádí, že koagulační schopnost mléka je silně ovlivněna množstvím, poměrem a genetickými variantami (zejména  $\kappa$ -kaseinem) frakcí mléčných bílkovin.

Dle Pytle a Šustové (2017) má na syřitelnost vliv velké množství faktorů, které ovlivňují obě dvě fáze při výrobě sýrů. Složení mléka ovlivňuje syřitelnost nejvíce. V případě optimálního složení mléka je ovlivněna koagulace a celková výtěžnost sýrů. Velký význam má zejména obsah bílkovin, laktózy, tuku a solí. Na složení mléka má také vliv plemeno a zdravotní stav dojnice, v jehož důsledku dochází ke změně poměru vápníku a fosforu, a to může vést až k neschopnosti mléka srazit se.

Mezi další významné faktory patří obsah kaseinu a zastoupení jeho frakcí, velikost a stav kaseinových micel, obsah a formy fosforu v mléce a pH. Zásadní význam má také teplota syření, dávka syřidla, doba syření, použité syřidlo aj. (Pytel et Šustová, 2017). Významnou roli představuje také vápník (Tyrisevä et al., 2004). Pytel et Šustová (2017) uvádí, že vápník ovlivňuje tvorbu a konzistenci gelu. Nižší pH a vyšší obsah tuku a proteinů v mléce má za následek krátký srážecí čas (Ikonen, 2000). Také tepelné ošetření ovlivňuje dobu srážení. U tepelně ošetřeného mléka dochází k prodloužení času syřitelnosti. Stádium a pořadí laktace a sezóna mají také vliv na syřitelnost, a to kvůli změnám chemického složení mléka (Pytel et Šustová, 2017). Zhoršení syřitelnosti a tvorba málo kompaktní, křehké sraženiny nastává zejména při zánětech mléčné žlázy, při změnách složení mléka souvisejících se stádiem laktace, v důsledku nevhodné výživy nebo při metabolických poruchách (Tyrisevä et al., 2004).

Velice důležitým parametrem při hodnocení jakosti syrového mléka je termostabilita. Termostabilita je schopnost mléka odolávat vysokým teplotám bez viditelných známek koagulace či gelovatění (Chramostová et al., 2014). Je důležitou a rozhodující podmínkou zpracovatelnosti ve velkém množství technologických postupů, například při ošetření mléka pasterací či sterilací (Singh, 2004). Je vyjádřena jako čas, za který došlo ke srážení mléka při 140 °C (Chramostová et al., 2014).

Nejvýznamnějšími faktory ovlivňujícími tepelnou stabilitu mléka je pH mléka, obsah solí, močoviny, laktózy, obsah a složení proteinů, zdraví dojnice či roční období (Kailasapathy, 2008). Zároveň ji ovlivňuje i obsah koloidního kalcium fosfátu, který je velmi významný pro stabilitu kaseinových micel, tedy i pro termostabilitu mléka (Singh, 2004). Neméně

významný je i poměr celkového vápníku a fosforu – mléko s nižším poměrem je spojeno s vyšší termostabilitou (Raynal-Ljutovac et al., 2007). Dle Chromastové et al. (2014) dochází při zvýšení obsahu syrovátkových bílkovin ke zhoršení tepelné stability mléka.

Mlezivo, starodojné a mastitidní mléko je typické horší tepelnou stabilitou, jelikož bílkoviny obsažené v nich jsou citlivější vůči tepelnému záhřevu než frakce kaseinu, kterých je v tomto případě obsaženo méně, než je tomu u zralého mléka (Gajdůšek, 2003).

## 3.2 Genetický polymorfismus

Genetický polymorfismus se dá volně přeložit jako ‚genetická varianta‘. Vychází z kombinace řeckých slov *poly* = mnoho a *morfe* = tvar. Je to termín užívaný v genetice k popisu více forem jediného genu, který se vyskytuje u jedince nebo ve skupině jedinců.

Polymorfismus se vyznačuje přítomností dvou a více odlišných variant jediného znaku. Základní definicí genetického polymorfismu je, že na jednom lokusu se vyskytují dvě a více alel, které se od sebe liší. Vzácnější z alel se musí vyskytovat alespoň v 1 % případů (Singh, 2001).

V souvislosti s mléčnými bílkovinami je polymorfismem označen fakt, že každá bílkovina mléka existuje ve dvou či více formách, tzn. každá bílkovina nacházející se v mléce je polymorfní. Dodnes bylo zjištěno přes 30 genetických variant mléčných bílkovin, kdy hlavním rozdílem mezi nimi jsou odlišnosti v primární struktuře. Je dokázáno, že existuje úzká souvislost mezi genetickým polymorfismem a kvantitou i kvalitou mléka, jeho složkami i technologickými vlastnostmi. Díky genetickému polymorfismu bílkovin je možné tyto charakteristiky mléka detekovat. Již mnoho vědců studovalo souvislosti mezi kvantitativními i kvalitativními znaky mléčné užitkovosti a genotypem alel kódujících bílkoviny v mléce. Poprvé byl výskyt polymorfismu bílkovin popsán v 50. letech, a to u betalaktoglobulinu, což je hlavní bílkovina syrovátky. Aschaffengurg a Drewery v roce 1955 popsali výskyt dvou variant této bílkoviny. Rozdíl mezi těmito variantami je v pořadí aminokyselin v řetězci. Časem se podařilo identifikovat polymorfismus i u zbylých genů, které kódují mléčné bílkoviny (Jandurová, 2002).

Marletta et al. (2007) ve své práci uvádí, že kaseiny v kozím mléce vykazují neobvyklý a rozsáhlý polymorfismus, který ovlivňuje kvalitu a složení mléka.

### 3.2.1 Genetický polymorfismus *αs1*-kaseinu

Tato bílkovina má osm genetických variant. Jedná se o genetické varianty A, B, C, D, E, F a H (Shahlla et al., 2014). Caroli et al. (2009) našli ještě jednu variantu, variantu I.

Primární struktura alely B je složena ze 199 aminokyselin (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Alela A se dělí na varianty A1 a A2. Alela A1 je spojována s vyšším obsahem CSN1S1 v porovnání s alelou A2 (Heck et al., 2009).

V mléce je nejvíce zastoupena alela B, následuje alela C. Oproti tomu alela A se vyskytuje nejméně. Genetická varianta B je u skotu predominantní. Frekvence výskytu varianty B je u většiny plemen 90 – 95 % (Caroli et al., 2008; Shalla et al., 2014).

Alely A a D jsou vzácné a zjištěny byly například u holštýnsko-fríského plemene. Alely F, G a H byly nalezeny u plemene brown swiss (Caroli et al., 2008; Lühken et al., 2009). Alela C se pak vyskytuje například u plemene jersey, guernsey, normandského a švédské populace holštýnsko-fríského plemene (Lühken et al., 2009). Převaha alely B byla identifikována například u plemene jersey, guernsey, ayrshire a holštýnsko-fríského (Jann et al., 2002).

### **3.2.2 Genetický polymorfismus $\alpha_2$ -kaseinu**

Jsou identifikovány čtyři genetické varianty  $\alpha_2$ -kaseinu, a to A, B, C a D. Všechny genetické varianty byly prokázány v roce 1976 (Caroli et al., 2009; Shalla et al., 2014).

Alela B se vyskytuje například u pincgavského plemene (Gallinat et al., 2013).

V případě kozího mléka Marletta et al. (2007) uvádí, že všechny genetické varianty této kaseinové frakce mohou existovat ve dvou formách.

### **3.2.3 Genetický polymorfismus $\beta$ -kaseinu**

Pro  $\beta$ -kasein je známo celkem 12 genetických variant (Shalla et al., 2014).

In vitro štěpením alel A1 a B vzniká peptid  $\beta$ -kasomorfin-7 (BCM – 7) (Kamiński et al., 2007).

Podle Kučerové et al. (2006) se často vyskytují alely A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, B a C. Oproti tomu Farrell et al. (2004) ve svém výzkumu v rámci holštýnsko-fríského plemene tvrdí, že se nejčastěji vyskytují alely A<sub>1</sub> a A<sub>2</sub>, varianta B je méně častá a varianty A<sub>3</sub> a C jsou vzácné. Suková (2009) zase uvádí, že nejčastěji vyskytujícími se variantami v kravském mléce jsou alely A1 a A2.

Dle Kamińského et al. (2007) jsou alely A1 a A2 nejčastější u holštýnsko-fríského plemene.

Sharma et al. (2012) uvádí výskyt obou alel A1 a A2 u holštýnsko-fríského plemene, dále u plemene jersey, guernsey a u skotské populace ayrshirského plemene.

Truswell (2005) ve své studii považuje alelu A1 za hlavní alelu genu CSN2 u plemena holštýnsko-fríského, ayrshire a shorthorn. Alela A2 se častěji vyskytuje v mléce plemen guernsey, jersey, charolais a limousine.

### 3.2.4 Genetický polymorfismus $\kappa$ -kaseinu

Objevení polymorfismu trvalo značně delší dobu oproti jiným frakcím (Zadrazil, 2002). Jako první byly objeveny genetické varianty A a B, které se zároveň vyskytují nejčastěji. Dlouho se věřilo, že to jsou jediné varianty  $\kappa$ -kaseinu. Až do roku 1978, kdy byla zjištěna genetická varianta C. Do současnosti bylo u tohoto kaseinu popsáno 11 genetických variant (Caroli et al., 2009).

Molekula genetické varianty A i B je složena ze 169 aminokyselinových zbytků.

Molekula genetické varianty A obsahuje pouze jeden zbytek kyseliny fosforečné, která je estericky vázaná na aminokyselinu serin. Právě toto se považuje za hlavní příčinu toho, že se tato kaseinová frakce nesráží za přítomnosti vápenatých iontů (Buňka et al., 2009). Molekuly genetické varianty B se vyskytují jako trimery a vyšší oligomery, které jsou navzájem propojeny přes disulfidické vazby (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Varianta A je u většiny známých plemen predominantní a je nejčastěji se vyskytující alelou u mléčných plemen kromě plemene jersey (Farrell et al., 2004). Comin et al. (2008) a Schopen et al. (2011) se shodli, že nejčastějšími genotypy jsou AA a AB.

U kombinovaného českého strakatého plemene byla objevena Gazdovou et al. (2007) vyšší frekvence alely B genu CSN3 než u mléčného holštýnského plemene.

Farrell et al. (2004) zjistili variantu F u křížence černobílého skotu a variantu G u alpských plemen. Alelu J objevili u bos taurus.

## 3.3 Vliv genetických variant kaseinu

### 3.3.1 Kaseiny a mléko

#### $\alpha$ s-kasein

V případě CSN1S1 vykazují nejvyšší produkci mléka a obsah proteinů jedinci s alelou C (Lühken et al., 2009).

Kishore et al. (2013) ve svém výzkumu došli k závěru, že jedinci s genotypem CT vykazují vyšší obsah proteinu CSN1S2 a CSN2 než jedinci s genotypem CC.

Schopen et al. (2011) ve své studii o CSN1S1 tvrdí, že jedinci s genotypem BC mají oproti genotypu BB vyšší obsah mléčných bílkovin a tuku.

Ve své práci Nilsen et al. (2009) zjistili mnoho významných asociací mezi CSN1S2 a produkcí mléka a mléčných bílkovin. Zároveň uvádí, že přípravky obohacené o CSN1S2 se mohou využívat pro zlepšení kvality a zdravotní nezávadnosti mléčných výrobků.



Gallinat et al. (2013) ve svém výzkumu zjistili, že všechny čtyři genetické varianty genu CSN1S2 mají vliv na vlastnosti mléčných bílkovin.

Marková et al. (2008) uvádí, že v případě kozího mléka gen CSN1S1 ovlivňuje celkový obsah bílkovin, celkového kaseinu a obsahu tuku.

### **β-kasein**

Jak uvádí Dai et al. (2016), β-casein vzbudil v posledních letech zájem o jeho výzkum jak v mlékařském průmyslu, tak v chovu zvířat. A to díky obsahu vysoce kvalitních proteinů a bioaktivních peptidů, které mohou být spojeny se zdravotními účinky. Navíc má souvislost s produktivitou, složením a kvalitou mléka.

Tailford et al. (2003) tvrdí, že obsah genotypu A1 a A2 v mléce se značně liší v závislosti na plemenu krav.

Gazdová et al. (2007) ve svém výzkumu prováděného u českého strakatého plemene a holštýnského plemene uvádí, že není žádná asociace mezi CSN2 a znaky mléčné užitkovosti.

Oproti tomu Comin et al. (2008) zjistili, že CSN2 ovlivňuje obsah mléčného tuku a bílkovin.

Jedinci s variantou A1 prokázali nižší množství mléka a obsah proteinů než jedinci s alelou A2 (Heck et al., 2009).

Nejvyšší obsah bílkovin a tuku byl shledán u genotypu A2A3. Oproti tomu u genotypu A1A3 byla zjištěna nejvyšší produkce mléka, ovšem s nižším procentem výskytu mléčných bílkovin. Nejnižších plemenných hodnot dosahoval genotyp A2B (Kučerová et al., 2006).

Miluchová et al. (2009) uvádí, že genotyp A2A2 znatelně zvyšuje produkci mléka, obsah tuku i bílkovin. Dále uvádí asociaci alely A3 s vyšší mléčnou produkcí a asociaci alely B s vyšší produkcí proteinů, hlavně kaseinů a tuku.

### **κ-kasein**

U CSN3 byl objeven vliv na mléčnou produkci, proto je tento gen používán jako genový marker při šlechtění skotu. CSN3 a jeho varianta B částečně navyšuje podíl kappa kaseinu v celkových bílkovinách mléka. Především genotyp CSN3 BB je spojován s obsahem bílkovin a tuku v mléce. Naopak CSN3 AA má souvislost s vyšším výnosem mléka (Gazdová et al., 2007).

Dle Kučerové et al. (2004) podmiňuje alela A vyšší dojivost, ale zároveň nižší obsah bílkovin a tuku a horší kvalitu bílkovin mléka. Naproti tomu alela B zapříčiňuje vyšší obsah bílkovin a tuku a lepší kvalitu bílkovin při nižším denním nádoji.

Comin et al. (2008) zjistili vztah  $\kappa$ -kaseinu k celkovému obsahu kaseinu a jiných mléčných bílkovin.

Výsledky Tsiarase et al. (2005) ukázaly, že zvířata s genotypem AB produkovala průměrně o 21 kg více mléčného proteinu než zvířata s genotypem AA. Vazby mezi CSN3 a obsahem tuku a množstvím laktózy zjištěny nebyly.

Dle Kučerové et al., (2006) byl zjištěn u českého strakatého skotu významný vztah mezi CSN3 a obsahem a produkcí bílkovin. Nejvyšší průměrná plemenná hodnota z hlediska obsahu bílkovin v mléce byla přiřazena jedincům s genotypem BB. Zároveň u zvířat s genotypem BE byly zaznamenány nejvyšší hodnoty, co se týče produkce bílkovin a mléka. Oproti tomu Kamiński et al. (2002) zaznamenali nejvyšší plemennou hodnotu z hlediska produkce mléka a zároveň nejnižší hodnotu z hlediska produkce bílkovin u jedinců s genotypem AA.

Hristov et al. (2012) zjistili pozitivní vliv genotypu AA na množství podmásli.

Heck et al. (2009) uvádí vztah mezi variantou E a nižším množstvím bílkovin oproti variantě A.

Alipanah et Kalashnikova (2007) ve své studii došli k výsledku, že mléko s genotypem BB má výrazně lepší koagulační vlastnosti syřidla než mléka s AA a AB. Výsledky ukázaly, že varianta BB má významný vliv na výtěžnost tuků a bílkovin. Sýr vyrobený z mléka s genotypem BB vykazoval vyšší koncentraci bílkovin a nižší hladinu tuku než sýr vyrobený z mléka s CSN3 AA.

### **3.3.2 Kaseiny a technologické vlastnosti mléka**

#### **$\alpha$ s-kasein**

Poulsen et al. (2013) prokázali, že posttranslační modifikace CSN1 má vliv na srážení mléka a velikost kaseinových micel.

Pro alelu C u CSN1S1 byly zjištěny příznivé koagulační vlastnosti mléka, konkrétně byla zjištěna vyšší pevnost sýřeniny a kratší doba koagulace. Také alela G byla spojena s příznivější koagulací (Caroli et al., 2008; Lühken et al., 2009).

Trakovická et al. (2011) uvádí vyšší výtěžnost sýřeniny v případě genotypu BB u genu CSN1S1.

Dle Caroli et al. (2008) má nízký obsah CSN1S1 negativní vliv na první fázi zrání sýrů. CSN1S1 je totiž substrátem pro chymozin, který je obsažen v syřidlu.

Dle výsledků výzkumu, který prováděli Ketto et al. (2017), souvisí lepší koagulační vlastnosti s alelou C  $\alpha$ s1-kaseinu.

Bonfatti et al. (2011) dávají do souvislosti křehkost tvarohu se zvýšeným výskytem CSN1S1 a CSN1S2.

V případě kozího mléka Fantová et al. (2008) uvádí, že frakce CSN1S1 má vliv na technologické vlastnosti mléka, konkrétně má mít značný význam při výrobě kozích sýrů. Sýry z mléka s obsahem CSN1S1 mají tužší konzistenci v porovnání se sýry, které jsou vyrobeny z mléka, které obsahuje malý nebo neobsahuje žádný podíl této frakce.

O'Connell et Fox (2003) uvádí, že  $\alpha_2$ -kasein má významný vliv na stabilitu mléka.

O'Connell et Fox (2003) dále uvádí, že  $\alpha_1$ -kasein má méně významný vliv na stabilitu mléka.

Poulsen et al. (2017) zkoumali koagulační vlastnosti mléka švédských plemen. Vynikající koagulační vlastnosti se pojily s alelou B  $\alpha_1$ -kaseinu. Nekoagulační vlastnosti mléka byly spojeny s větším výskytem  $\alpha_2$ -kaseinu.

### **$\beta$ -kasein**

Comin et al. (2008) zjistili vliv CSN2 na pevnost sýřeniny. Společně s CSN1 ovlivňují průběh koagulace. Konkrétně pak alela B má vliv na zlepšení koagulačních vlastností mléka (Bonfatti et al., 2010).

O'Connell et Fox (2003) uvádí, že CSN2 má méně významný vliv na stabilitu mléka.

Poulsen et al. (2017) zkoumali koagulační vlastnosti mléka švédských plemen. Vynikající koagulační vlastnosti se pojily s alelou A1  $\beta$ -kaseinu. Nekoagulační vlastnosti mléka byly spojeny s alelou A2  $\beta$ -kaseinu.

Dle výsledků výzkumu, který prováděli Ketto et al. (2017), souvisí lepší koagulační vlastnosti s alelou A1  $\beta$ -kaseinu.

### **$\kappa$ -kasein**

Tyrisevä et al. (2004) se domnívají, že je to právě alela B  $\kappa$ -kaseinu, která má nejpříznivější vliv na syřitelnost mléka.

Dle Czerniawske-Piatkowske et al. (2004) právě na genotypu CSN3 významně závisí úspěšnost technologického procesu při výrobě sýrů.

Bonfatti et al. (2010) uvádí, že gen CSN3 při chymozinem navozené koagulaci ovlivňuje soudržnost sýřeniny.

O'Connell et Fox (2003) uvádí, že CSN3 má významný vliv na termostabilitu mléka.

Abeykoon et al. (2016) ve svém výzkumu uvádí vliv  $\kappa$ -kaseinu na větší výtěžnost sýru. Velké množství CSN3 znamená spoustu malých kaseinových micel, a to má za následek významné zlepšení koagulačních vlastností. Sýřenina je díky tomu pevnější a je schopna zadržovat větší množství látek, čímž se zvyšuje výtěžek.

Abeykoon et al. (2016) dále ve svém výzkumu uvádí vliv alely B na větší výtěžnost sýru.

Azevedo et al. (2008) a Caroli et al. (2009) se ve svých výzkumech shodli, že alela A způsobuje vyšší stabilitu a pomalejší hydrolyzu CSN3 mezi 105. a 106. aminokyselinou během enzymatického srážení mléka.

Kamiński (2004) poukazuje na významný vztah polymorfismu CSN3 k technologickým vlastnostem mléka, jako je doba koagulace, pevnost tvarohu a výtěžek sýrů.

Matějčková et al. (2010) ve svém výzkumu zjistili, že nejvýznamnější z hlediska mléčné užitkovosti je právě  $\kappa$ -kasein, který významně ovlivňuje zejména kvalitu mléka a syřitelnost. Výsledky udávají velký vliv na kvalitu a pevnost sýřeniny a dobu koagulace. U varianty B byly zjištěny nejlepší hodnoty pro pevnost sýřeniny, oproti tomu alely A a E.

Alipanah et Kalashnikova (2007) uvádí, že v jejich studii měl CSN3 významný vliv na proteolýzu. Dále tvrdí, že genotyp BB je spojen s nejkratší dobou koagulace v rámci všech genetických variant  $\kappa$ -kaseinu.

Poulsen et al. (2017) zkoumali koagulační vlastnosti mléka švédských plemen. Nekoagulační vlastnosti mléka byly spojeny s alelami A a E  $\kappa$ -kaseinu.

Amigo et al. (2001) zkoumali horský strakatý skot a došli k výsledkům, že  $\kappa$ -kasein ovlivňuje rychlost koagulace, konkrétně genotyp BB vykazoval rychlejší koagulaci a lepší pevnost sýřeniny než genotyp AB.

### **3.3.3 Kaseiny a lidské zdraví**

#### **$\alpha$ s-kasein**

Marková et al. (2008) tvrdí, že v případě kozího mléka a jeho genu CSN1S1 jsou vyhledávány tzv. slabé alely od tohoto genu, protože jsou díky nižšímu obsahu bílkovin dobře stravitelné pro lidský organismus.

Otani et al. (2000) došli ve své studii k výsledkům, které spojují  $\alpha$ s2-kasein se zlepšením imunity.

McCann et al. (2006) poukázali ve své práci na jisté antimikrobiální účinky spojené s  $\alpha$ s1-kaseinem.

Ruiter et al. (2007) považují  $\alpha$ s1-kasein v kravském mléce za silný alergen.

Marletta et al. (2007) ve své práci mluví o kaseinové frakci CSN1 jako o nejvíce pravděpodobném alergenu v rámci mléčných bílkovin.

Bevilacqua et al. (2001) došli k výsledku, že kozí mléko postrádající CSN1S1 je méně alergenní než obvyklé kozí mléko.

## **$\beta$ -kasein**

Podle Gazdové et al. (2007) existuje velké množství studií o vazbě mezi CSN2 a lidskými chorobami.

Varianta A1 je spojována s výskytem některých onemocnění – s autismem, sklerózou či ischemickou chorobou srdeční (McLachlan, 2001).

Kamiński et al. (2007) ve své studii tvrdí, že výzkumy z Nového Zélandu naznačují, že varianta A2 je pro lidské zdraví příznivější než varianta A1. Alela A1 má spojitost s diabetes mellitus typu 1 u dětí a má vliv na vznik neurologických, mentální a koronárních onemocnění, jako je například autismus, schizofrenie či ischemická choroba srdeční. Ovšem varianta A2 snižuje hladinu cholesterolu v krvi a hodí se jako prevence různých cévních onemocnění (Sodhi et al., 2012).

Sun et al. (2003) uvádí, že  $\beta$ -kasomorfin-7 se jeví jako možná příčina syndromu náhlého úmrtí kojenců.

V rámci pokusů na myších bylo prokázáno, že téměř u poloviny myší, kterým bylo podáváno mléko s alelou A1, se projevil diabetes mellitus. U myší konzumujících mléko s alelou A2 se onemocnění neprojevovalo (Sharma et al., 2012).

Laugesen et Elliott (2003) ve své studii ukázali vliv CSN2 a jeho varianty A1 na výskyt ischemické choroby srdeční.

V roce 2008 zkoumal úřad EFSA (European Food Safety Authority) nezávadnost bílkovin v mléčných výrobcích. Důvodem pro tuto studii byly publikované výsledky, které prokazovaly spojitost s autismem, schizofrenií, kardiovaskulárními chorobami, diabetem typu I a nesnášenlivostí mléka. Podle těchto zveřejněných studií měl být  $\beta$ -kasein A1, ze kterého následně jeho štěpením vzniká  $\beta$ -kasomorfin-7, zdraví nebezpečný, oproti tomu  $\beta$ -kasein A2 neměl způsobovat žádné zdravotní problémy. V únoru 2009 uzavřel úřad EFSA výzkum se závěrem, který zní "neexistuje vztah příčiny a důsledku mezi  $\beta$ -kasomorfinem-7, příbuznými peptidy a jejich bílkovinnými prekurzory a nepřenositelnými chorobami" (Suková, 2009).

Také Truswell (2005) ve svém výzkumu došel k závěru, že neexistují žádné přesvědčivé důkazy o tom, že alela A1  $\beta$ -kaseinu v kravském mléce má jakýkoliv nepříznivý účinek na lidské zdraví.

Johansson et Lif Holgerson (2011) popisují vztah  $\beta$ -kaseinu ke zdraví dutiny ústní.

Johansson (2002) ve svém výzkumu naznačil, že  $\beta$ -kasein hraje určitou roli v ochraně zubů proti zubnímu kazu.

Chin-Dusting et al. (2006) ve svém výzkumu v rámci jedinců s vysokým rizikem vzniku kardiovaskulárních onemocnění ukázali, že denní suplementace  $\beta$ -kaseinu A1 nebo A2 může významně snížit koncentraci cholesterolu v krvi.

Otani et al. (2000) došli ve své studii k výsledkům, které spojují  $\beta$ -kasein se zlepšením imunity.

Meisel et FitzGerald (2003) ve své práci zmiňují možný antikarcinogenní účinek  $\beta$ -kaseinu.

Tailford et al. (2003) ve svém výzkumu došli k závěru, že CSN2 a jeho varianta A1 má mnohem větší vliv na vývoj aterosklerózy oproti variantě A2.

### **$\kappa$ -kasein**

Johansson (2002) ve svém výzkumu naznačil, že  $\kappa$ -kasein hraje určitou roli v ochraně zubů proti zubnímu kazu.

### **Kozí mléko**

Polymorfismus kaseinů kozího mléka má dle Haenleina (2004) nesporný přínos pro lidské zdraví, a to především v případě lidí trpících alergií na bílkoviny kravského mléka či trpící gastrointestinální poruchou. Kozí mléko je totiž hypoalergenní alternativou kravského mléka v lidské výživě.

## 4 Závěr

Byla vypracována literární rešerše na základě rozsáhlého spektra nejrůznějších, především světových vědeckých článků. Cílem práce bylo objasnění úlohy kaseinů v kravském mléce, charakteristika jednotlivých kaseinových frakcí a jejich polymorfismů a popsání vztahu genetického polymorfismu kaseinů k využitelnosti mléka v potravinářství. Všechny cíle práce byly zpracovány a zapsány.

Na základě zjištěných poznatků lze říct, že ze všech základních genetických variant kaseinu má největší vliv na kvalitu mléka pro sýrařské účely  $\kappa$ -kasein. Je to konkrétně genotyp AA, který je spojován s nejlepší kvalitou sýřeniny. Naopak s genotypem BB je spojena nejvýhodnější doba koagulace. Z pohledu dopadu na lidské zdraví se jeví nejzávažněji polymorfismus  $\beta$ -kaseinu. Mohl by mít souvislost například se vznikem diabetu. Negativní vliv na lidské zdraví byl objeven i u  $\alpha$ s1-kaseinu, který se jeví jako silný alergen v kravském mléce.

Zjištěné poznatky zapsané v této bakalářské práci mohou posloužit jako zdroj informací o složení a funkci mléka, jeho technologických vlastnostech důležitých pro výrobu mléčných výrobků a jako zdroj informací o kaseinech, které hrají velice důležitou roli v otázce mléka samotného. Práce obsahuje souhrn výsledků výzkumů velkého množství autorů, proto může umožnit přístup k nejrůznějším odborným vědeckým studiím, které se zabývají touto problematikou.

## 5 Seznam použité literatury

- Abeykoon, C.D., Rathnayake, R.M.C., Johansson, M., Silva, G.L.L.P., Ranadheera, C.S., Lundh, Å., Vidanarachchi, J.K. 2016. Milk coagulation properties and milk protein genetic variants of three cattle breeds/types in Sri Lanka. *Procedia Food Science*. 6. 348-351.
- Alipanah, M., Kalashnikova, L.A. 2007. Influence of K-Casein Genetic Variant on Cheese Making Ability. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 6(7). 855-857.
- Alexandros, A., Guillaume, H., Clairé, A., Guillaume, Y., Gharbi, T. 2011. Simple method for detection of extremely diluted anti beta-casein antibodies from glass bead based receptors. *Talanta*. 8(5). 632-637.
- Amigo, L., Martin-Alvarez, P.J., Garcia-Muro, E., Zarazaga, I. 2001. Effect of milk protein haplotypes on the composition and technological properties of Fleckvieh bovine milk. *Milchwissenschaft – Milk Science International*. 56(9). 488-491.
- Azevedo, A.L.S., Nascimento, C.S., Steinberg, R.S., Carvalho, M.R.S., Peixoto, M.G.C.D., Teodoro, R.L., Verneque, R.S., Guimaraes, S.E.F., Machado, M.A. 2008. Genetic polymorphism of the kappa-casein gene in Brazilian cattle. *Genetics and Molecular Research*. 7(3). 623-630.
- Babička, L., Kouřimská, L. 2006. *Drůbež a mléko ve výživě člověka*. Česká zemědělská univerzita. 91 s. ISBN: 80-213-1548-2.
- Bevilacqua, C., Martin, P., Candalh, C., Fauquant, J., Piot, M., Roucayrol, A.M., Pilla, F., Heyman, M. 2001. Goats' milk of defective  $\alpha$ 1-casein genotype decreases intestinal and systemic sensitization to  $\beta$ -lactoglobulin in guinea pigs. *Journal of Dairy Research*. 68(2). 217–227.
- Bittante, G., Penasa, M., Cecchinato, A. 2012. Invited review: Genetics and modeling of milk coagulation properties. *Journal of Dairy Science*. 95(12). 6843-6870.



Bonfatti, V., Cecchinato, A., Gallo, L., Blasco, A., Carnier, P. 2011. Genetic analysis of detailed milk protein composition and coagulation properties in Simmental cattle. *Journal of Dairy Science*. 94(10). 5183-5193.

Bonfatti, V., Di Martino, G., Cecchinato, A., Degano, L., Carnier, P. 2010. Effects of  $\beta$ - $\kappa$ -casein (CSN2-CSN3) haplotypes,  $\beta$ -lactoglobulin (BLG) genotypes, and detailed protein composition on coagulation properties of individual milk of 45 Simmental cows. *Journal of Dairy Science*. 93(8). 3809-3817.

Buňka, F., Buňková, L., Kráčmar, S. 2009. Základní principy výroby tavených sýrů. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 70 s. ISBN: 978-80-7375-336-8.

Czerniawska-Piątkowska, E., Kamieniecki, H., Pilarczyk, R., Rzewucka, E. 2004. A comparison of protein polymorphisms in milk produced by two dairy farms in West Pomerania. *Archiv fur Tierzucht*. 47(2). 155-163.

Caroli, A.M., Chessa, S., Erhardt, G.J. 2009. Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*. 92(11). 5335-5352.

Caroli, A., Chessa, S., Chiatti, F., Rignanese, D., Meléndez, B., Rizzi, R., Ceriotti, G. 2008. Short Communication: Carora Cattle Show High Variability in  $\alpha$ s1-Casein. *Journal of Dairy Science*. 91(1). 354-359.

Comin, A., Cassandro, M., Chessa, S., Ojala, M., Dal Zotto, R., De Marchi, M., Carnier, P., Gallo, L., Pagnacco, G., Bittante, G. 2008. Effects of Composite  $\beta$ - and  $\kappa$ -Casein Genotypes on Milk Coagulation, Quality, and Yield Traits in Italian Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*. 91(10). 4022-4027.

Čejna, V. 2008. Zkušenosti z mlékárny se syřitelností mléka ve vazbě na dodavatele mléka. In: *Výrobní zemědělská praxe a potravinářské biotechnologické úpravy pro zvýraznění pozitivních zdravotních vlivů mléka a mléčných výrobků*. Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o. Rapotín. 91 s. ISBN: 978-80-87144-03-9.

Dai, R., Fang, Y., Zhao, W., Liu, S., Ding, J., Xu, K., Yang, L., He, Ch., Ding, F., Meng, H. 2016. Identification of alleles and genotypes of beta-casein with DNA sequencing analysis in Chinese Holstein cow. *Journal of Dairy Research*. 83(3). 312-316.

Dalgleish, D.S., Spangnuolo, P.A., Goff, H.D. 2004. A possible structure of casien micelle based on high-resolution field-emission scanning elektron microscopy. *International Dairy Journal*. 14(12). 1025-1031.

Demeter, R.M., Markiewicz, K., van Arendonk, J.A.M., Bovenhuis, H. 2010. Relationships between milk protein composition, milk protein variants, and cow fertility traits in Dutch Holstein-Friesian cattle. *Journal of Dairy Science*. 93(11). 5495-5502.

Doležal, O. 2000. Mléko, dojení, dojírny. Agrospoj. Praha. 241 s.

Drbohlav, J. Vodičková, M. 2002. Tabulky látkového složení mléka. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 84 s. ISBN 80-7271-005-2.

Ecroyd, H., Thorn, D.C., Liu, Y., Carver, J.A. 2010. The dissociated form of  $\kappa$ -casein is the precursor to its amyloid fibril formation. *Biochemical Journal*. 429(2). 251-260.

Fantová, M. 2012. Chov koz. Brázda. Praha. 231 s. ISBN: 978-80-209-0377-8.

Fox, P. F., Brodtkorb, A., 2008. The casein micelle: Historial aspects, current concepts and signigicance. *International Dairy Journal*. 18 (7). 677-684.

Farrell Jr., H.M., Jimenez-Flores, R., Bleck, G.T., Brown, E.M., Butler, J.E., Creamer, L.K., Hicks, C.L., Hollar, C.M., Ng-Kwai-Hang, K.F., Swaisgood, H.E. 2004. Nomenclature of the proteins of cows milk – sixth revision. *Journal of Dairy Science*. 87(6). 1641-1674.

Food-Info. Milk proteins [online]. 14. srpna 2014 [cit. 2018-04-14]. Dostupné z: <http://www.food-info.net/uk/protein/milk.htm>.

Fox, P., Mcsweeney, P. 1998. Dairy chemistry and biochemistry. Blackie Academic. New York. 478 p.

- Fuchs, M. 2005. Alergie číhá v jídle a pití: kuchařka pro alergiky. Adela. Plzeň. 189 s. ISBN: 80-902532-5-3.
- Gajdůšek, S. 2003. Laktologie. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 78 s. ISBN: 80-7157-657-3.
- Gallinat, J.L., Qanbari, S., Drögemüller, C., Pimentel, E.C.G., Thaller, G., Tetens, J. 2013. DNA-based identification of novel bovine casein gene variants. *Journal of Dairy Science*. 96(1). 699-709.
- Gaucheron, F. 2005. The minerals of milk. *Reproduction Nutrition Development*. 45(4). 473-483.
- Gazdová, V., Humpolíček, P., Déduchová, V., Filkuková, J., Dvořák, J. 2007. Effect of C-CSN and B-CSN genotypes on milk production traits in Czech Flekvieh and Holstein breed. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 55(1). 55–58
- Greppi, G.F., Rancada, P., Fortin, R. 2008. Protein components of goat's milk. In: Cannas, A., Pulina, G. (eds.). *Dairy goats feeding and nutrition*. University of Sassari. Sassari. 71-94. ISBN: 9781845933487.
- Haenlein, G.F.W. 2004. Goat milk in human nutrition. *Small Ruminant Research*. 51 (2). 155-163.
- Heck, J.M.L., Schennink, A., van Valenberg, H.J.F., Bovenhuis, H., Visker, M.H.P.W., van Arendonk, J.A.M., van Hooijdonk, A.C.M. 2009. Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. *Journal of Dairy Science*. 92(3). 1192-1202.
- Holder, A., Birke, A., Eisele, T., Klaiber, I., Fisher, L., Hinrichs, J. 2012. Selective isolation of angiotensin-I-converting enzyme-inhibitory peptides from micellar casein and  $\beta$ -casein hydrolysates via ultrafiltration. *International Dairy Journal*. 31(1). 34-40.

Horne, D.S., Banks, J.M. 2004. Rennet-induced coagulation of milk. In: Fox, P., McSweeney, P., Cogan, T., Guinee, T. (eds.). Cheese, chemistry, physics and mikrobiology. Academic Press. London. 417-429. ISBN: 978-0122636530.

Hristov, P., Teofanova, D., Radoslavov, G., Mehandzhyski, I., Zagorchev, L. 2012. Application of Milk Proteins Genetic Polymorphism for Selection and Breeding of Dairy Cows in Bulgaria. In: Chaiyabutr, N. (ed.). Milk Production - Advanced Genetic Traits, Cellular Mechanism, Animal Management and Health. InTech. 31-52. ISBN: 9789535107668.

Chin-Dusting, J., Shennan, J., Jones, E., Williams, C., Kingwell, B., Dart, A. 2006. Effect of dietary supplementation with beta-casein A1 or A2 on markers of disease development in individuals at high risk of cardiovascular disease. British Journal of Nutrition. 95(1). 136–144.

Chramostová, J., Vrzáková, Z., Němečková, I., Čurda, L. 2014. Termostabilita mléka a faktory, které ji ovlivňují. Mlékařské listy. 146. 14-17.

Ikonen, T. 2000. Possibilities of Genetic Improvement of Milk Coagulation Properties of Dairy Cows. Academic dissertation. University of Helsinki. Faculty of Agriculture and Forestry. Helsinki. 34 s.

Jandurová, O., Štípková, M., Kottová, B. 2002. Polymorfismus alel mléčných bílkovin u skotu a šlechtění na kvalitu mléčné bílkoviny. Náš chov. 8. 27-30.

Jann, O., Prinzenberg, E.M., Brandt, H., Williams, J.L., Ajmone-Marsan, P., Zaragoza, P., Özbeyaz, C., Erhardt, G. 2002. Intra-genic haplotypes at the bovine CSN1S1 locus. Archiv fur Tierzucht. 45(1). 13-21.

Jelínek, P., Koudela, K. 2003. Fyziologie hospodářských zvířat. MZLU v Brně. 414 s. ISBN: 80-7157-644-1.

Johansson, I. 2002. Milk and dairy products: possible effects on dental health. Scandinavian Journal of Nutrition. 46(3). 119–122.

Johansson, I, Lif Holgerson, P. 2011. Milk and oral health. Nestle Nutrition workshop series. Pediatric programme. 67. 55–66.

Kaas, M. 2001. Věnuje se dostatečná pozornost prvním hodinám života telete?. *Náš chov*. 9. 46-47.

Kadeřábková, I. 2011. Chov zvířat [online]. SOŠ a SOU Horky nad Jizerou. [cit. 2017-04-12]. Dostupné z: <<http://www.souhorky.cz/uploads/mediafiles/146/1345.pdf>>.

Kailasapathy, K. 2008. Chemical composition, physical and functional properties of milk and milk ingredients. In: Chandan, R.C., Kilara, A., Shah, N.P. (eds.). *Dairy Processing and Quality Assurance*. John Wiley & Sons. USA. 75-103. ISBN: 978-0-813-82756-8.

Kamiński, S., Cieślińska, A., Kostyra, E. 2007. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. *Journal of Apply Genetics*. 48(3). 189–198.

Kamiński, S., Rymkiewicz-Schymczyk, J., Wojcik, E., Rusc, A. 2002. Associations between bovine milk protein genotypes and haplotypes and the breeding value of Polish Black-and-White bulls. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 11(1). 205-221.

Ketto, I.A., Knutsen, T.M., Øyaas, J., Heringstad, B., Ådnøy, T., Devold, T.G., Skeie, S.B. 2017. Effects of milk protein polymorphism and composition, casein micelle size and salt distribution on the milk coagulation properties in Norwegian Red cattle. *International Dairy Journal*. 70. 55-64.

Kishore, A., Sodhi, M., Mukesh, M., Mishra, B.P., Sobti, R.C. 2013. Sequence analysis and identification of new variations in the 5'-flanking region of  $\alpha$ S2-casein gene in Indian zebu cattle. *Molecular Biology Reports*. 40(7). 4473-4481.

Kohout, P., Dostálová, J., Szitányi, P., Szitányi, N., Růžičková, L. 2016. *Mléko – přítel nebo nepřítel*. Forsapi. Praha. 53 s. ISBN: 978-80-87250-31-0.

Konečná, H., Strnadová, D., Šustová, K., Kuchtík, J. 2014. Vliv způsobu skladování koziho mléka na jeho syřitelnost. *Mlékařské listy*. 147. 34-38.

Kopáček, J. 2009. Oslava mléka [online]. Bezpečnost potravin. [cit. 2017-10-23]. Dostupné z: <[http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Kvasnickova/Kopacek\\_vyziva.pdf](http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/File/Kvasnickova/Kopacek_vyziva.pdf)>.

Kopáček, J. 2014. Jak poznáme kvalitu? Mléko a mléčné výrobky. Sdružení českých spotřebitelů a Potravinářská komora ČR. Praha. 31 s. ISBN: 978-80-87719-18-3.

Kopáček, J., Ellmann, M. 2009. Mléko a sója – dva zcela odlišné produkty. Mlékařské listy. 113/114. s. 2-4.

Kopřiva, V. 2011. Mléko a mlezivo – hlavní rozdíly a nutriční význam mléka ve výživě [online]. CIT VFU. [cit. 2017-04-12]. Dostupné z: <[https://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/VY\\_04\\_03.pdf](https://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/VY_04_03.pdf)>.

Kovářová, K. Zpeněžování mléka [online]. Unium.cz. 23.2.2011 [cit. 2018-04-10]. Dostupné z: <<http://www.unium.cz/materialy/czu/pef/mleko-m21941-p1.html>>.

Kráčmar, S., Zeman, L. 2004. Change in composition of cow's colostrum within the first 72 hours after parturition. Acta universitatis agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis. 52(2). 129-136.

Krpálková, L. 2013. Vývoj produkce a spotřeby mléka ve světě [online]. Svaz chovatelů českého strakatého skotu [cit. 2018-04-10]. Dostupné z: <<https://www.cestr.cz/files/zpravodaje/2013-03-zpravodaj.pdf>>.

Kučerová, J., Němcová, E., Štípková, M., Vrtková, L., Dvořák, J., Frelich, J., Bouška, J., Maršálek, M. 2004. Vliv markerů CSN3 a ETH10 na parametry mléčné užitkovosti u českého strakatého skotu. Journal of Central European Agriculture. 5(4). 303-308.

Kučerová, J., Matějčík, A., Jandurová, O.M., Sørensen, P., Němcová, E., Štípková, M., Kott, T., Bouška, J., Frelich, J. 2006a. Milk protein genes CSN1S1, CSN2, CSN3, LGB and their relation to genetic values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. Czech Journal of Animal Science. 51(6). 241-247.

Kučerová, J., Matějček, A., Němcová, E., Jandurová, O.M., Štípková, M. & Bouška, J. 2006b. Polymorfismus lokusů CSN3 a LGB a jejich vztah k parametrům mléčné užitkovosti u českého strakatého skotu. In: Den mléka. Česká zemědělská univerzita v Praze. 87-89. ISSN 80-213-1498-2.

Laktea, o.p.s. Potřeba a zdroje vápníku [online]. [cit. 2018-04-01]. Dostupné z: <<http://www.laktea.cz/index.php?page=zdrava-vyziva&article=potreba-a-zdroje-vapnikux>>.

Laugesen, M., Elliott, R. 2003. Ischaemic heart disease, Type 1 diabetes, and cow milk A1 beta-casein. The New Zealand medical journal. 116 (1168). U295.

Lühken, G., Caroli, A., Ibeagha-Awemu, E.M., Erhardt, G. 2009. Characterization and genetic analysis of bovine  $\alpha$ 1-casein I variant. Animal Genetics. 40(4). 479-485.

Marková, M., Pecháčková, M., Mátlová, V., Sztankóová, Z., Snášelová, J. 2008. Fermentovaný nápoj na bázi kefiru z kozího mléka dvou variant  $\alpha$ 1-kaseinu. Mlékařské listy. 109(8). 8-11.

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

Matějčková, J., Štípková, M., Kyselová, J., Rychtářová, J. & Bolečková, J. 2010. Geny mléčných bílkovin a kvalita mléka u českého strakatého skotu. Náš chov. 70(2). 72-74.

McCann, K., Shiell, B., Michalski, W., Lee, A., Wan, J., Roginski, H., Coventry, M. 2006. Isolation and characterisation of a novel antibacterial peptide from bovine  $\alpha$ S1-casein. International Dairy Journal. 16(4). 316-323

McLachlan, C.N.S. 2001. Beta-casein A1, ischaemic heart disease mortality, and other illnesses. Medical hypotheses. 56(2). 262-272.

Meisel, H., FitzGerald, R.J. 2003. Biofunctional peptides from milk proteins: mineral binding and cytomodulatory effects. Current Pharmaceutical Design. 9(16). 1289-1295

Miluchová, M., Gábor, M., Trakovická, A. 2014. Analysis of Beta-Casein Gene (CSN2) Polymorphism in Different Breeds of Cattle. *Journal of Animal Science and Biotechnologies*. 47(1). 82-85.

Miluchová, M., Trakovická, A., Gábor, M. 2009. Analysis of Polymorphism of alpha S1 casein of Slovak Pinzgau by PCR-RFLP. *Zootehnie si Biotechnologii*. 42(2). 284-287.

Navrátilová, P., Králová, M., Janštová, B., Přidalová, H., Cupáková, Š., Vorlová, L. 2012. *Hygiena produkce mléka*. Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně. 129 s.

Nilsen, H., Olsen, H., Hayes, B., Sehested E., Svendsen, M., Nome, T., Meuwissen, T., Lien, S. 2009. Casein haplotypes and their association with milk production traits in Norwegian Red cattle. *Genetics Selection Evolution*. 41(1). 24-36.

Nentwich, I., Szépfalusi, Z.S., Kunz, C., Spuergin, P., Urbánek, P. 2004. Antigenicity for Humans of Cow Milk Caseins, Casein Hydrolysate and Casein Hydrolysate Fractions. *Acta Veterinaria Brno*. 73. 291-298.

O'Connell, J.E., Fox, P.F. 2003. Heat-induced Coagulation of Milk. In: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (eds). *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1: Proteins*. Springer. Boston. 879-945. ISBN: 978-0-306-47271-8.

Otani, H., Kihara, Y., Park, M. 2000. The immunoenhancing property of a dietary casein phosphopeptide preparation in mice. *Food and Agricultural Immunology*. 12(2). 165–173.

Poulsen, N.A., Bertelsen, H.P., Jensen, H.B., Gustavsson, F., Glantz, M., Lindmark, M.H., Andrén, A., Paulsson, M., Bendixen, C., Buitenhuis, A.J., Larsen, L.B. 2013. The occurrence of noncoagulating milk and the association of bovine milk coagulation properties with genetic variants of the caseins in 3 Scandinavian dairy breeds. *Journal of Dairy Science*. 96(8). 4830-4842.

Poulsen, N.A., Glantz, M., Rosengard, A.K., Paulsson, M., Larsen, L.B. 2017. Comparison of milk protein composition and rennet coagulation properties in native Swedish dairy cow breeds and high-yielding Swedish Red cows. *Journal of Dairy Science*. 100(11). 8722-8734.



Prümmer, M. 2007. Colostrum dar života. Creative Consultants GmbH. Německo. 80 s. ISBN: 978-3-98800113-4-1.

Pytel, R., Šustová, K. 2012. Vliv chloridu vápenatého a chloridu sodného na syřitelnost mléka a následnou výtěžnost sýreniny. Mlékařské listy. 163. 1-5.

Raynal-Ljutovac, K., Park, Y.W., Gaucheron, F., Bouhallab, S. 2007. Heat stability and enzymatic modifications of goat milk and sheep milk. Small Ruminant Research. 68. 207-220.

Roncada, P., Piras, Ch., Soggiu, A., Turk, R., Urbani, A., Bonizzi, L. 2012. Farm animal milk proteomics. Journal of Proteomic, 75(14). 4259-4274.

Ruiter, B., Trégoat, V., M'rabet, L., Garssen, J., Bruijnzeel-Koomen, C.A., Knol, E.F., Hoffen, E. 2006. Characterization of T cell epitopes in alphas1-casein in cow's milk allergic, atopic and non-atopic children. Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology. 36(3). 303-310.

Selvaggi, M., Laudadio, V., Dario, C., Tufarelli, V. 2014. Major proteins in goat milk: an updated overview on genetic variability. Molecular biology reports. 41(2). 1035-1048.

Shahlla, N.M., Obaid, U., Riazuddin, S. 2014. Genetic polymorphism of milk protein variants and their association studies with milk yield in Sahiwal cattle. African Journal of Biotechnology. 13(4). 555-565.

Sharma, N., Sharma, V., Nautiyal, S.Ch., Singh, P.R., Kushwaha, R.S., Sailwal, S., Ghosh, S., Naushad, A., Singh, R.K. 2012. A1, A2 Beta casein variants in cows – its impact on modern human health. International Journal of Research in Social Sciences. 2(4). 705-718.

Schopen, G.C.B., Visker, M.H.P.W., Koks, P.D., Mullaart, E., van Arendonk, J.A.M., Bovenhuis, H. 2011. Whole-genome association study for milk protein composition in dairy cattle. Journal of Dairy Science. 94(6). 3148-3158.

- Singh, R.S. 2001. Polymorphism. In: Brenner, S., Miller, J.H. (eds.). Encyclopedia of Genetics. Academic Press. New York. 1507-1509. ISBN: 978-0-12-227080-2.
- Sodhi, M., Mukesh, M., Kataria, R.S., Mishra, B.P., Joshii, B.K. 2012. Milk proteins and human health: A1/A2 milk hypothesis. Indian Journal of Endocrinology and Metabolism. 16(5). 856.
- STOBklub. Mléko nejen kravské [online]. [cit. 2018-03-16]. Dostupné z: <<http://www.stobklub.cz/clanek/mleko-nejen-kravske/>>.
- Strzałkowska, N., Markiewicz-Kęszycka, M., Bagnicka, E., Poławska, E., Krzyzewski, J. 2013. Influence of polymorphism of casein proteins on chemical composition and technological properties of goat's milk. Medycyna Weterynaryjna. 69(11). 666-669.
- Suková, I. 2009. EFSA posoudil  $\beta$ -kasein A1-A2. Mlékařské listy. 117. s. 18.
- Sun, Z., Zhang, Z., Wang, X., Cade, R., Elmir, Z., Fregly, M. 2003. Relation of  $\beta$ -casomorphin to apnea in sudden infant death syndrome. Peptides. 24(6). 937-943.
- Švejcárová, M., Elich, O., Pechačová, M., Malá, G. 2011. Vliv způsobu dojení a fáze laktace na technologické parametry ovčího mléka a kvalitu výrobku. Mlékařské listy. 128. 1-4.
- Tailford, K.A., Berry, C.L., Thomas, A.C., Campbell, J.H. 2003. A casein variant in cow's milk is atherogenic. Atherosclerosis. 170(1). 13-19.
- Trakovická, A., Moravčíková, N., Gábor, M., Miluchová, M. 2014. Genetic polymorphism of Pit-1 gene associated with milk production traits in Holstein cattle. Acta Agraria Kaposváriensis. 18(1). 146-151.
- Treweek, T.M., Thorn, D.C., Price, W.E., Carver, J.A. 2011. The chaperone action of bovine milk  $\alpha$ S1- and  $\alpha$ S2-caseins and their associated form  $\alpha$ S-casein. Archives of Biochemistry and Biophysics. 510(1). 42-52.
- Truswell, A.S. 2005. The A2 milk case: a critical review. European Journal of Clinical Nutrition. 59(5). 623-631.

Tyrisevä, A.M., Vahlsten, T., Routtinen, O., Ojala, M. 2004. Noncoagulation of milk in finnish Ayrshire and Holstein-Friesian cows and effect of herds on milk coagulation ability. *Journal of Dairy Science*. 87(11). 3958-3966.

Ulutas, Z., Yildirim, M. 2009. Genetic Variants of  $\beta$ -Lactoglobulin,  $\alpha$ s1-Casein and  $\beta$ -Casein of Milk in East Anatolian Red Cattle Breed. *Asian Journal of Chemistry*. 21(1). 795-801.

Velíšek, J. 2002. *Chemie potravin I. Osis*. Tábor. 331 s. ISBN: 80-86659-03-8.

Velíšek, J., Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravin I. Osis*. Tábor. 602 s. ISBN: 978-80-86659-15-2.

Walstra, P. 1999. Casein sub-micelles: do they exist?. *International Dairy Journal*. 9(3-6). 189-192.

Walstra, P., Wouters, J.T.M., Geurts, T.J. 2006. *Dairy science and technology*. Taylor & Francis Group. New York. 782 s. ISBN: 9780824727635.

Wong, N.P. 1999. *Fundamentals of Dairy Chemistry*. Aspen Publishers. Gaithersburg. p. 779. ISBN: 8123906080.

Zachwieja, A., Knecht, D., Kučera, J. 2000. Mlezivo a jeho význam, faktory ovlivňující jeho kvalitu a absorpci. *Náš chov*. 4. 27-29.