

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Nepasterizované mléko: zdraví nebo risk?**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Barbora Koblížková**

**Obor studia: Výživa a potraviny**

**Vedoucí práce: prof. Ing. Eva Vlková, Ph.D.**

**Konzultant: Ing. Nikol Modráčková**



## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Nepasterizované mléko: zdraví nebo risk?" 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 15. 7. 2020

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala paní prof. Ing. Evě Vlkové, Ph.D., která mi dávala cenné rady a připomínky ke zpracování mé bakalářské práce a velmi ochotně mi pomohla s jejím výsledným zpracováním. Dále bych chtěla poděkovat svým rodičům za trpělivost, kterou se mnou během psaní práce měli.

# Nepasterizované mléko: zdraví nebo risk?

## Souhrn

Pro člověka je konzumace mléka a mléčných výrobků velmi důležitá, a to jak během dětství, pro ženy v těhotenství, během kojení a rovněž ve stáří, kdy se u seniorů zvyšuje riziko osteoporózy v důsledku nedostatku vápníku v kostech. Mléko je díky svému obsahu plnohodnotných bílkovin, minerálů a vitaminů důležitou součástí výživy.

V syrovém mléce se však mohou vyskytovat různé typy mikroorganismů. Ke kontaminaci mléka patogeny může dojít například při dojení, nesprávné hygieně nebo skladování mléka. Konzumace syrového mléka může představovat zdravotní riziko zejména pro starší jedince s oslabeným imunitním systémem.

Na druhou stranu bylo zveřejněno mnoho informací o přínosu konzumace syrového mléka. Kromě snížení výskytu alergického ekzému a průduškového astmatu však nemají moc vědeckých důkazů. Zpracování pasterizací není spojeno s významnými negativními účinky na nutriční kvalitu mléka, navíc zásadně redukuje potenciální riziko požití patogenních bakterií.

Z vědeckých studií lze shrnout, že konzumace syrového nepasterizovaného mléka není pro člověka zcela bezpečná. Lidé by proto měli preferovat mléko tepelně upravené.

**Klíčová slova:** Tepelné ošetření, syrové mléko, mikrobiální kontaminace, patogenní mikroorganismy, bezpečnost.

# Unpasteurized milk: health or risk?

## Summary

Milk and dairy products consumption is very important for humans, especially during childhood, during pregnancy, breastfeeding, and especially in old age, when the risk of osteoporosis increases due to a lack of calcium in the bones. Milk contains the necessary substances for the growth of the body by containing optimal intake of full-value proteins, minerals and vitamins.

Different types of microorganisms can be found in milk. The presence of harmful pathogens can occur, for example, during milking, improper hygiene or milk storage. Consumption of raw milk can pose a health risk, especially for young and older people and for individuals with a weakened immune system.

Much different information has been published about the benefits of raw milk consumption. However, apart from reducing the incidence of allergic eczema and bronchial asthma, they do not have much scientific evidence. Pasteurization has no significant negative effects on the nutritional quality of the milk, but mitigates the potential risk of ingesting pathogenic bacteria.

From scientific studies, it can be concluded that the unpasteurized milk consumption is dangerous for humans. People should give priority to heat-treated milk.

**Keywords:** Heat treatment, raw milk, microbial contamination, pathogenic microorganisms, safety.

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>9</b>
<b>2 Cíl práce</b> .....	<b>10</b>
<b>3 Literární rešerše</b> .....	<b>11</b>
<b>3.1 Definice mléka</b> .....	<b>11</b>
<b>3.2 Historie využívání mléka lidmi</b> .....	<b>11</b>
<b>3.3 Současnost využívání mléka</b> .....	<b>12</b>
<b>3.4 Složení mléka</b> .....	<b>12</b>
3.4.1 Lipidy .....	15
3.4.2 Sacharidy .....	16
3.4.3 Bílkoviny .....	17
3.4.4 Minerální látky .....	18
3.4.5 Vitaminy .....	19
3.4.6 Antimikrobiální látky .....	19
3.4.6.1 Laktoferin .....	19
3.4.6.2 Laktoperoxidáza .....	20
3.4.6.3 Lysozym .....	20
3.4.6.4 Imunoglobuliny .....	20
3.4.6.5 Oligosacharidy .....	21
<b>3.5 Mikrobiologie mléka</b> .....	<b>21</b>
3.5.1 Mikrobiologie syrového mléka .....	21
3.5.1.1 Mezofilní mikroorganismy .....	23
3.5.1.2 Psychrotrofní mikroorganismy .....	23
3.5.1.3 Koliformní mikroorganismy .....	24
3.5.1.4 Kvasinky a plísně.....	24
3.5.1.5 Patogenní organismy .....	25
3.5.2 Mikrobiologie tepelně upraveného mléka .....	28
<b>3.6 Pasterizace a její vliv na mléčné složky</b> .....	<b>28</b>
3.6.1 Pasterizace .....	28
3.6.2 Technologie pasterizace .....	31
3.6.3 Důsledky pasterizace na mléčné složky .....	33
3.6.3.1 Na proteiny .....	33
3.6.3.2 Na antimikrobiální látky .....	34
3.6.3.3 Na laktózu.....	34
3.6.3.4 Na lipidy .....	34
3.6.3.5 Na vitaminy .....	34

<b>3.7</b>	<b>Vliv mléka na lidské zdraví.....</b>	<b>35</b>
3.7.1	Srdeční onemocnění .....	35
3.7.2	Nádorová onemocnění.....	36
3.7.3	Obezita.....	36
3.7.4	Infekční onemocnění .....	37
3.7.5	Mléčná alergie .....	37
3.7.6	Laktózová intolerance .....	38
<b>3.8</b>	<b>Přínos konzumace syrového mléka .....</b>	<b>38</b>
<b>3.9</b>	<b>Zdravotní rizika spojená s konzumací syrového mléka.....</b>	<b>40</b>
<b>4</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>42</b>
<b>5</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>43</b>



# 1 Úvod

Mléko je fyziologickým produktem mléčných žláz samic savců a je základním zdrojem potravy především pro jejich mláďata. Mléko jim dodává všechny základní živiny. Každý savčí druh však produkuje pro svá mláďata mléko se specifickým složením.

Člověk konzumuje mléko jiných savčích druhů (nejčastěji krav) i v dospělosti. Optimální schopnost trávit mléko je patrná u mladších jedinců, později však může docházet k určité redukci tolerance kravského mléka způsobené nedostatečnou aktivitou laktázy, tedy ve střevě produkovaného enzymu štěpícího disacharid laktózu. Velmi malá část lidské populace trpí alergií na mléčnou bílkovinu (zejména na kasein).

Z celosvětového pohledu patří mléko mezi nejdůležitější součást lidské potravy, a to především kvůli svému obsahu plnohodnotných bílkovin, lehce stravitelnému tuku, důležitým minerálům a vitaminům. Mléko obsahuje také složky pro ně zcela specifické. Těmito složkami jsou mléčný tuk, kasein, laktoglobuliny a v neposlední řadě laktóza.

Moderní doba však přináší nové trendy i ve výživě. Zastánci průmyslově nezpracovaných potravinových produktů (tzv. raw stravy) preferují minimalizaci zásahů zpracovatelského průmyslu do úpravy potravin. Nejinak je tomu i v případě mléka a mléčných výrobků. V oblasti produkce mléka se projevuje určitá tendence upřednostňovat tepelně neupravené mléko před mlékem tepelně upraveným.

## **2 Cíl práce**

Mléko je obecně považováno spíše za zdravou složku lidské stravy, jeho konzumace však může představovat určité zdravotní riziko. Toto riziko spočívá v konzumaci tepelně neošetřeného mléka, které může obsahovat celou řadu různých patogenů. Některé studie však uvádějí, že zdravotní přínosy nepasterizovaného mléka jsou výraznější, než kterých může být dosaženo konzumací tepelně ošetřeného mléka. Cílem literární rešerše bylo, po nastudování dostupných vědeckých zdrojů, objektivní posouzení rizik a zdravotních přínosů konzumace tepelně neošetřeného mléka.

### **3 Literární rešerše**

Mléko je důležitá surovina potravinářského průmyslu. Po celém světě se vyrábí několik tisíc mléčných výrobků ve velké rozmanitosti chutí a forem, včetně asi 1400 druhů sýra. V globálním měřítku lze shrnout, že 40 % nadojeného mléka je spotřebováno na výrobu konzumního mléka, 35 %, respektive 32 % je využito na výrobu sýra nebo másla. V menším měřítku je pak 9 %, respektive 6 % objemu nadojeného mléka zdrojem sušeného odstředěného mléka, respektive sušeného plnotučného mléka. Shodně 2 % nadojeného mléka pak využíváme pro získání zahuštěných mléčných výrobků, fermentovaných mléčných výrobků a čistého kaseinu. Pro přípravu kojenecké výživy se pak využívá jen zlomku (0,3 %) celosvětové produkce mléka (Fox & Kelly 2012).

#### **3.1 Definice mléka**

Mléko je biologická tekutina produkovaná mléčnými žlázami samic savců během fyziologického procesu nazvaného laktace. Mléko představuje základní zdroj výživy zejména pro savčí mláďata. Savci mimo lidský druh konzumují druhově mléko většinou v době, kdy nejsou zcela schopni zabezpečit nároky na klasickou pevnou potravu (Fernandes 2009). Z pohledu lidské výživy, hovoříme-li o mléku, celosvětově tím myslíme kravské mléko, to je dáno legislativně. V případě mléka jiných savčích druhů konzumovaného lidmi uvádíme obvykle i druh savce ve formě přívlastku (například kozí mléko). Terminologie v oblasti mléka má v České republice svůj legislativní rámec ve formě Vyhlášky č.274/2019 Sb.

#### **3.2 Historie využívání mléka lidmi**

Důležité místo ve výživě lidské populace získalo mléko v důsledku rozvoje zemědělství a domestikace zvířat. K počáteční domestikaci skotu, ovcí a koz došlo nejspíše v letech 9000–7000 před naším letopočtem na Blízkém východě. Kolem roku 7000 před naším letopočtem se domestikace začala šířit do střední a východní Evropy. Později byla rozšířena rovněž ve Skandinávii a ve Velké Británii (Price 2000). Prvním zvířetem, u kterého proběhla domestikace za účelem produkce mléka, byla koza, následně potom ovce. V Evropě tak bylo konzumováno nejprve kozí a poté i ovčí mléko. Až později se začala více prosazovat konzumace mléka kravského (Rollinger 2007).

Ve středověku lidé stále neměli dostatek informací ani technických možností, jak je možno mléko dlouhodobě uchovávat. Konzumovalo se tedy pochopitelně čerstvé (obvykle několik hodin po nadojení). Důležité předpoklady pro průmyslové zpracování mléka však nastaly

až v 19. století, a to v době jeho zvýšené produkce v souvislosti s rozvojem dobytkařství (Gajdůšek 2003).

Nejzásadnějšími faktory, které přispěly k rozvoji mlékařství a ke zprůmyslnění výroby, byly nové vědecké a technické poznatky týkající se pasterizace a sterilace mléka. Velké zásluhy v oblasti technologie uchovávání mléka jsou tradičně připisovány francouzskému chemikovi a biologovi Louisi Pasteurovi, který roku 1863 zavedl postup zvaný pasterizace. Ten funguje na principu tepelného záhřevu, díky němuž v mléce dojde k usmrcení přítomných vegetativních forem mikroorganismů. Tyto objevy v 80. letech 19. století vedly k průmyslové výrobě prvních strojů pro pasterizaci, které se z Německa rozšířily do zbytku světa (Atkins 1978).

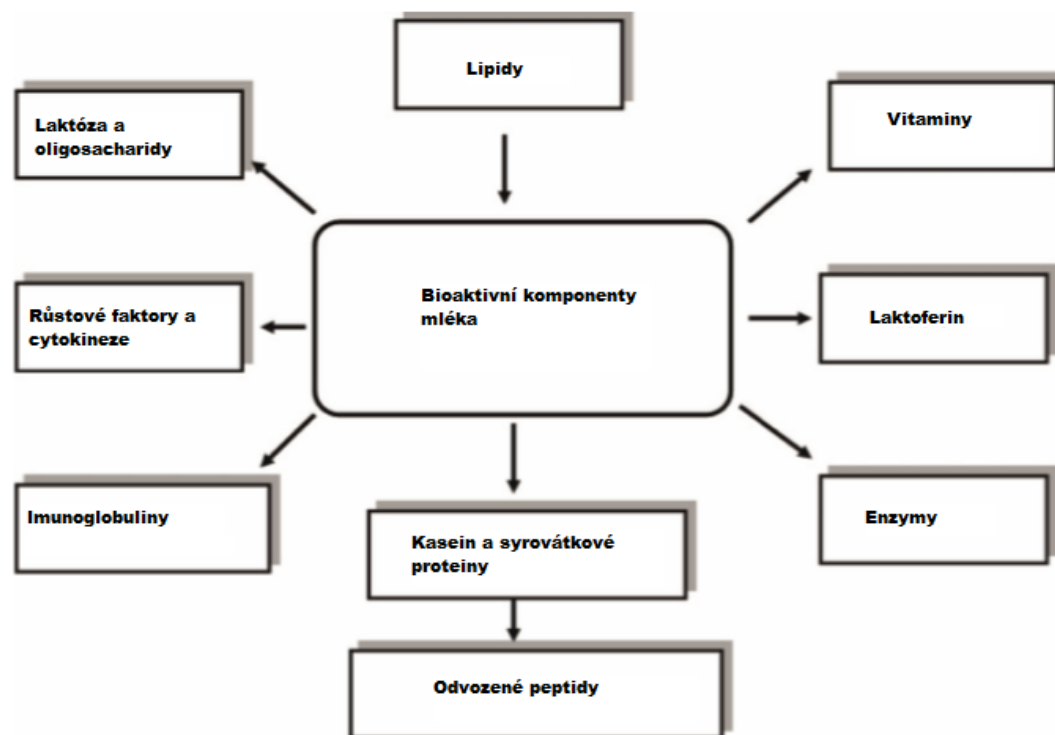
### **3.3 Současnost využívání mléka**

V současnosti představuje mléko nezbytnou surovinu potravinářského průmyslu. Po celém světě se z něj vyrábějí tisíce druhů mléčných produktů. Průměrná roční spotřeba mléka na každého obyvatele naší planety činí přibližně 113 kg (Kvapilík & Syrůček 2019).

Světová produkce mléka dosahuje asi 864 milionů tun ročně, z toho 83 % pochází od skotu, 13 % od buvolů, 2 % od koz, 1 % od ovcí a zbylé 1 % představuje mléko získávané od ostatních druhů zvířat. Velbloudi, klisny, sobi a jakové jsou důležitými mléčnými zvířaty pouze v některých oblastech světa se specifickými kulturními a klimatickými podmínkami (Fox & Kelly 2012; Kvapilík & Syrůček 2019).

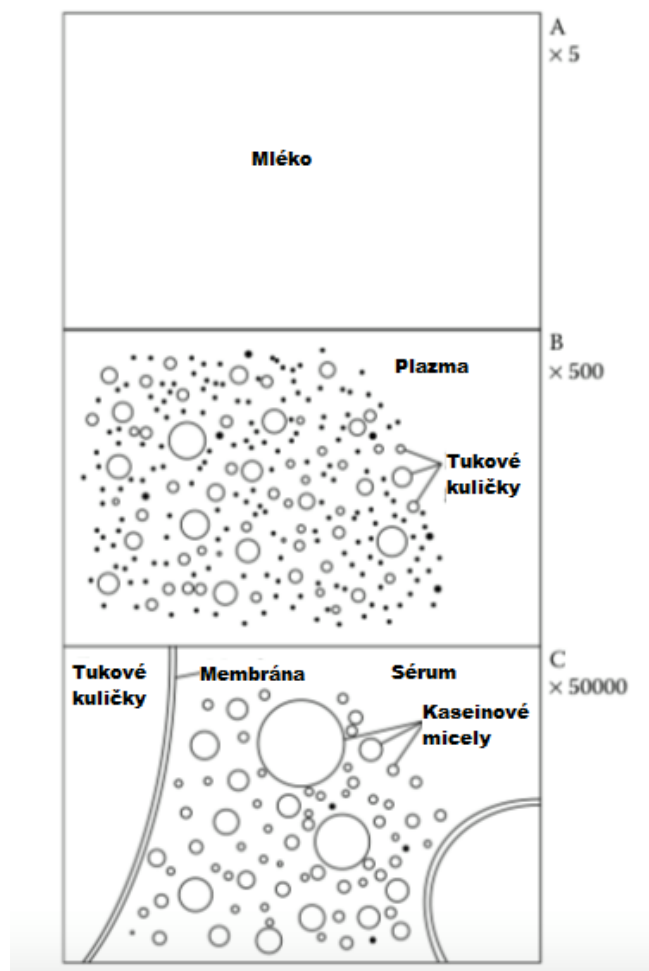
### **3.4 Složení mléka**

Mléko je tekutina vylučovaná mléčnou žlázou samic savců. Jelikož jsou nutriční a fyziologické požadavky druhově specifické, není překvapivé, že složení mléka vykazuje poměrně výrazné mezidruhové rozdíly. Například koncentrace tuku, bílkovin, respektive laktózy se pohybují v rozmezí 1 % - 50 %, 1 % - 20 %, respektive 0 % - 10 %. Ještě výraznější mezidruhové rozdíly v chemickém složení lze nalézt v obsahu mikroprvků. Složení savčího mléka (Obrázek číslo 1) se vyvíjí v čase během období laktace, a to odráží měnící se nutriční požadavky mláďat. K výraznějším změnám ve složení mléka dochází během zánětu mléčných žláz (tzv. mastitidy) nebo při stresu samice (Fox & Kelly 2012). Bioaktivní složky mléka jsou takové složky, které mají enzymatickou aktivitu, zvýšenou absorpci živin, stimulaci růstu, modulaci imunitního systému a obranu proti patogenům (Haug et al. 2007).



**Obrázek číslo 1** Schéma bioaktivních složek savčího mléka (převzato dle Park 2009).

Hlavní složkou mléka je voda. Její množství v mléce se mírně liší druh od druhu. Zbytek obsahu mléka tvoří sušina (Kadlec et al. 2009). Voda slouží jako rozpouštědlo pro mléčné soli, laktózu, bílkoviny a ovlivňuje jejich vlastnosti a stabilitu v mléku. Modifikuje rychlost mnoha biochemických reakcí, např. Maillardovu reakci, oxidaci lipidů, enzymatickou aktivitu a mikrobiální růst, což působí na stabilitu mléka a mléčných výrobků (Kadlec et al. 2009; Thompson et al. 2009). Mléko je z fyzikálně-chemického hlediska řazeno mezi polydisperzní systémy, kde disperzní prostředí představuje voda (Obrázek číslo 2). Ve vodě jsou pak dispergovány malé částice, jež jsou zastoupeny především bílkovinami, tuky a mléčným cukrem, laktózou. Mléčný tuk se ve vodě nachází ve formě mléčné emulze, bílkoviny tvoří koloidní fázi a laktóza s chloridy a fosforečnany pak vytvářejí fázi molekulární (Kadlec et al. 2009).



**Obrázek číslo 2** Polydisperzní prostředí savčího mléka (Walstra et al. 2006).

Procentuální zastoupení všech prvků obsažených v savčím mléce (Tabulka číslo 1) je ovlivněno celou řadou faktorů. Vliv má například genetická predispozice, zdravotní stav samic, stadium laktace a kvalita krmiva (Fox & Kelly 2012; Pereira 2014).

**Tabulka číslo 1** Složení základních živin v kozím, ovčím, kravském a mateřském mléce (Park et al. 2007).

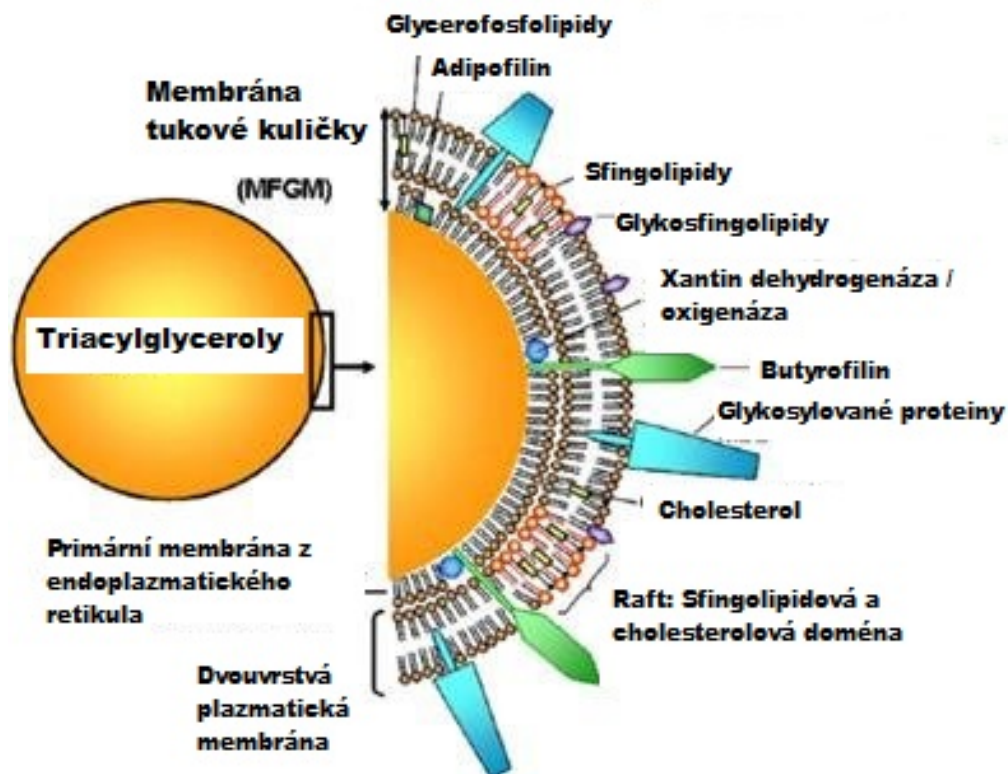
Složka	Kozí mléko	Ovčí mléko	Kravské mléko	Mateřské mléko
Sušina (%)	12,7	19,9	12,6	12,9
Tuk (%)	3,8	7,9	3,6	4,0
Laktóza (%)	4,1	4,9	4,7	6,9
Bílkoviny (%)	3,4	6,2	3,2	1,2
Kasein (%)	2,4	4,2	2,6	0,4
Albumin, globulin (%)	0,6	1,0	0,6	0,7
Popeloviny (%)	0,8	0,9	0,7	0,3
Kalorie na 100 ml	70	105	69	68

### 3.4.1 Lipidy

Lipidy, které se vyskytují v mléku, jako emulze tuku ve vodě, mají podobu mléčných tukových kuliček, jež jsou obaleny fosfolipidy (Obrázek číslo 3). Kuličky mají průměr 0,1–20  $\mu\text{m}$  a každá z nich je obklopena membránou mléčných tuků (MFGM z anglického originálu milk fat globule membrane), která slouží jako emulgátor (Fox & McSweeney 2006; Fox & Kelly 2012; Pereira 2014).

Fosfolipidový ochranný obal, který snižuje povrchové napětí a umožňuje samotnou existenci tukové emulze lipidových kuliček, je tvořen hydrofobní částí směřující do tukové kuličky a hydrofilní částí orientovanou směrem k vodě. Na vnější, tedy hydrofilní, straně fosfolipidové vrstvy jsou adsorbovány mléčné bílkoviny. Uvnitř fosfolipidové (hydrofobní) vrstvy jsou pak obsaženy triacylglyceroly (ve zkratce TAG), cholesterol, karoteny a lipofilní vitaminy (Gajdůšek 2003; Fox & Kelly 2012).

Kravský mléčný tuk se skládá z více než 400 mastných kyselin s různým chemickým složením. Většina z těchto mastných kyselin je esterifikována na glycerolu a tvoří se nejčastěji jako TAG (Park 2009). V průměru tvoří přibližně 70 % tukové frakce nasycené mastné kyseliny a zbývajících 30 % nenasycené mastné kyseliny. V rámci nasycených mastných kyselin jsou z kvantitativního hlediska nejdůležitější kyseliny palmitová (30 %), myristová (11 %) a stearová (12 %) (Pereira 2014).



**Obrázek číslo 3** Membrána tukové kuličky (Lopez et al. 2010).

Primárním účelem těchto lipidů je poskytnout zdroj energie mláděti. Jak obsah tuku v mléce, tak složení mastných kyselin v lipidech se může značně lišit v důsledku změn faktorů, jako je plemeno krav, strava a stadium laktace. Obsah tuku v kravském mléce (viz Tabulka číslo 1) se může pohybovat od 3,0 % do 6,0 %, obvykle je však v rozmezí 3,5-4,7 % (Fox & McSweeney 2006; Pereira 2014).

### 3.4.2 Sacharidy

Laktóza, hlavní cukr v mléce savců, je syntetizována v mléčné žláze. Významně přispívá k nutričním požadavkům mláďat. Z chemického hlediska je laktóza redukující disacharid obsahující glukózu a galaktózu, spojený vazbou  $\beta$ 1-4-O-glykosidickou. Trávení tohoto disacharidu na zmíněné monosacharidy, glukózu a galaktózu, vyžaduje dostatečnou aktivitu střevního enzymu –  $\beta$ -galaktosidázy neboli laktázy (vznikajícího v buňkách tenkého střeva tzv. enterocytech) (Lee & Szilagyí 2012; Kopáček 2017). Vznikající glukóza následně přímo vstupuje do procesu glykolýzy a je tak z velké části využívána pro vznik energie. Galaktóza přispívá k vývojové organizaci neurologických struktur a k rozvoji imunity (Coehlo et al. 2015; Szilagyí 2019).



Zbytkovou laktózu (většina je enzymaticky rozložena) využívají střevní mikroorganismy (Drbohlav & Vodičková 2001).

Koncentrace laktózy v mléce klesá s postupující laktací nebo v důsledku mastitidy (zánětu mléčné žlázy savčích samic). Koncentrace laktózy v mléce se pohybuje od nulových hodnot u některých druhů tuleňů či 2,5 % u sobího mléka až k 10 % v mléce opic. Zastoupení laktózy v mléce většiny savčích druhů (viz Tabulka číslo 1) je srovnatelné: kráva, 4,7 %, buvol, 4,3 %, ovce, 4,9 %, koza, 4,1 %, velbloud 5,1 %. Lidské mléko je sladší, neboť obsahuje 7 % laktózy, čímž se podobá mléku koňskému (6,1 %) a oslímu (6,9 %) (Park et al. 2007; Fox & Kelly 2012).

### 3.4.3 Bílkoviny

Bílkoviny jsou z nutričního hlediska důležitou složkou mléka. Jedná se o vysokohodnotné bílkoviny, neboť obsahují esenciální aminokyseliny a dodávají mléku významnou biologickou hodnotu. Mléčné bílkoviny podmiňují technologické vlastnosti mléka, například syřitelnost (Fox & Kelly 2012).

Mléko se zřetelem k závislosti na chování proteinů při jeho okyselení na pH 4,6 se dělí na dvě velké skupiny, a to 1. rozpustné frakce, které jsou tvořeny syrovátkovými proteiny neboli sérovými proteiny, albuminy ( $\alpha$ -laktoalbumin) a globuliny ( $\beta$ -laktoglobulin, imunoglobuliny); 2. nerozpustné frakce, které tvoří frakce kaseinu (Ebringer et al. 2008; Fox & Kelly 2012; Anděl 2017).

Syrovátkový protein je bohatý na větvené aminokyseliny (leucin, izoleucin, valin), jež jsou důležité pro syntézu bílkovin v kosterních svalech, rovněž obsahuje laktoferin vázající železo. Syrovátkové proteiny jsou rychle tráveny a vstřebávány v tenkém střevě (Anděl 2017).

Kaseiny se z chemického hlediska rozdělují na  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$  a  $\kappa$ -kasein. Jejich zastoupení v kravském mléce činí: 45 %, 10 %, 34 % a 11 %. Až na posledně jmenovaný, který je glykoproteinem, patří ostatní tři typy kaseinu mezi fosfoproteiny (Anděl 2017).

V mléce se kasein vyskytuje ve formě micel, kdy hydrofobní molekuly ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ) jsou orientovány do středu micely a kdy hydrofilní ( $\kappa$ -kasein) směřuje k micelárnímu povrchu. Molekuly kaseinu jsou termostabilní (při záhřevu se nesrážejí) (Anděl 2017).

Průměrný obsah proteinu v kravském mléce činí 32 gramů na 1 litr, tedy je přibližně dvojnásobný v porovnání s mlékem mateřským (16 g/l). Poměr kaseinu k syrovátkovým proteinům se pohybuje v rozmezí od přibližně 80:20 v kravském, buvolím, ovčím a kozím mléku. Tento poměr je obrácený (30:70) v případě lidského mléka (Meisel 1998; Thompson et al. 2009; Anděl 2017).

Na základě složení hlavní bílkovinné frakce rozeznáváme mléka kaseinová a albuminová. Mléko kaseinové obsahuje více než 75 % kaseinu z celkového obsahu bílkovin. Hlavním producentem tohoto typu mléka jsou přežvýkavci, především krávy (Gajdůšek 2003; Fox & Kelly 2012). Albuminová mléka obsahují méně než 75 % kaseinu z celkového obsahu bílkovin. Hlavní obsaženou bílkovinou je  $\alpha$ -laktoalbumin. Albuminová mléka produkuje kobyly, oslice či prasnice. Mezi tento typ mléka řadíme i mléko mateřské (Park 2009).

#### 3.4.4 Minerální látky

Ačkoli jsou minerální látky v kravském mléce obsaženy v relativně malém množství, mají zásadní vliv na jeho technologické a biologické vlastnosti (Fox & Kelly 2012).

Mléko obsahuje šest anorganických prvků: Ca, Mg, Na, K, Cl a P, a to ve vyšších koncentracích (tzv. makroprvky), a přibližně dvacet dalších prvků ve velmi malém (tzv. stopovém) množství (tzv. mikroprvky) (Fox & Kelly 2012).

Mléko je považováno za přirozený zdroj vápníku (Gaucheron 2011). Průměrná koncentrace je 1200 mg vápníku na litr mléka a toto množství je rozděleno mezi micelární a vodné fáze. V micelární fázi je spojen s fosfátovými zbytky kaseinů, zatímco ve vodné fázi se může vápník vázat na syrovátkové proteiny nebo na anorganické formy fosfátu tvořících solí (McGann et al. 1983; Gaucheron 2011).

Kromě vápníku je mléko považováno za dobrý zdroj fosforu, který je přítomen jak v organických, tak v anorganických formách. Organický fosfát se váže na organické molekuly, jako jsou proteiny, fosfolipidy, organické kyseliny a nukleotidy, které jsou přítomny hlavně v micelární fázi, zatímco anorganická forma odpovídá ionizovanému fosfátu, jehož stav závisí na hodnotě pH a je umístěn ve vodné fázi. Obdobně jako vápník jsou obě formy v rovnováze a jejich distribuce může záviset na okolních podmínkách, jako je pH. Průměrná koncentrace fosforu v mléce je asi 950 mg/l (Gaucheron 2011).

V minerální frakci lze rozlišit několik dalších mikroprvků. Ty jsou z hlediska výživy velmi důležité. Některé jsou silnými prooxidanty lipidů (Fe a Cu) a kofaktory enzymů (Fe, Mo, Zn) (Singh et al. 1989; Gaucheron 2011; Fox & Kelly 2012).

Objem jednoho litru mléka dodává 3 až 4 mg zinku, který je většinou přítomen v micelární fázi spojené s kaseinem (Singh et al. 1989; Gaucheron 2011). V jednom litru kravského mléka je též obsaženo 120 mg hořčíku, což odpovídá 29 % dietního referenčního příjmu tohoto minerálu (Insel et al. 2003).

### 3.4.5 Vitaminy

Kravske mléko je v lidské stravě také velmi významným zdrojem vitaminů. Vitaminová frakce je složena z vitaminů A, D a E rozpustných v tucích, ale také z některých vitaminů skupiny B rozpustných ve vodě, jako je thiamin (B1), riboflavin (B2) a kobalamin (B12) a vitaminu C (Fox & Kelly 2012; Pereira 2014).

Koncentrace vitaminů rozpustných v tucích v mléce logicky závisí na obsahu mléčného tuku. V některých zemích je mléko obohacováno o vitaminy A a D, aby se zlepšil jeho nutriční profil (Pereira 2014). Vitamin A (retinol) a zejména karotenoidy způsobují žlutooranžovou barvu produktů obsahujících tuk z kravského mléka. Vitamin A je obzvláště důležitý pro růst, vývoj, imunitu a zdraví očí a jeho obsah v mléce závisí hlavně na množství tuku, ale také na faktorech, jako je krmivo a sezona (Gaucheron 2011; Fox & Kelly 2012).

Vitamin E ( tokoferol) je silným antioxidantem. Vitamin C (kyselina askorbová) může působit jako antioxidant nebo oxidační činidlo, a sice v závislosti na jeho koncentraci (Fox & Kelly 2012).

### 3.4.6 Antimikrobiální látky

Mléko obsahuje řadu antimikrobiálních látek, které vykazují bakteriostatickou a bakteriocidní aktivitu. Kdy nežádoucí mikroorganismy pouze zastaví při jejich růstu (bakteriostatická aktivita) nebo je přímo usmrtí (bakteriocidní aktivita). Odolnost čersvě nadojeného mléka je, vůči nežádoucím činnostem mikroorganismů, dána přirozeným obsahem těchto antimikrobiálních látek. Mezi nejdůležitější antimikrobiální složky čersvě nadojeného mléka, které se významně podílejí na omezení rozvoje mikroorganismů, se řadí laktoferin, laktoperoxidáza, lysozym, imunoglobuliny a oligosacharidy. Během tepelného ošetření mléka se však může narušit aktivita těchto antimikrobiálních proteinů. Bakteriostatická aktivita může být ukazatelem pro ztrátu funkce antibakteriálních proteinů, a proto může sloužit jako indikátor rozsahu tepelného zpracování mléčných výrobků (Van Hooijdonk et al. 2000; Xiong et al. 2020).

#### 3.4.6.1 Laktoferin

Laktoferin (ve zkratce LF) je glykoprotein, který váže železo a vyskytuje se v mléce a dalších sekrečních tekutinách savců. Kravský LF se skládá z 689 aminokyselin a je ho přibližně 20-200 mg v litru mléka (Van Hooijdonk et al. 2000; Xiong et al. 2020). Vykazuje mnoho biologických aktivit jak antibakteriálních, antivirových, tak i imunomodulačních

(Lönnerdal & Iyer 1995; Xiong et al. 2020). Laktoferin inhibuje růst mikroorganismů snížením dostupnosti železa (*E. coli*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp., *Listeria* spp., *Bacillus* spp., kvasinky) (Xiong et al. 2020).

#### 3.4.6.2 Laktoperoxidáza

Laktoperoxidáza (ve zkratce LPO) je glykoprotein obsahující jednu hemovou skupinu a jeden atom železa. Patří k nejvýznamnějším enzymům v mléce. LPO obsahuje 612 aminokyselin a v syrovém mléce je její koncentrace 10-30 µg na ml mléka. Laktoperoxidáza katalyzuje peroxidaci thiokyanátu a některých halogenidů za vzniku složek, které inhibují růst řady bakterií (Wolfson & Sumner 1993; Xiong et al. 2020). Spolu s thiokyanátem a peroxidem vodíku tvoří laktoperoxidázový systém (LPS), který je součástí přirozeného obranného systému mléčné žlázy krav. LPS je silnou bakteriocidní složkou čersvě nadojeného mléka a je jedním z tepelně nejstabilnějších enzymů. Jeho tepelná inaktivace slouží jako důkaz vysoké pasterizace. Nejlépe jsou tímto systémem inhibovány gram negativní psychrofilní bakterie (*Salmonella*, *Pseudomonas*). Díky opožděnému růstu psychrotrofů se LPS využívá k prodloužení doby skladování syrového mléka (Lönnerdal & Iyer 1995; Xiong et al. 2020).

#### 3.4.6.3 Lysozym

Lysozym je silným antimikrobiálním enzymem, ale na rozdíl od lidského mléka je koncentrace v mléce kravském příliš nízká (přibližně 3000 krát nižší), aby významně přispěla k celkové bakteriostatické a baktericidní aktivitě. Antimikrobiálního působení lysozymu se využívá v sýrařství k zabránění rozvoji sportujících anaerobních mikroorganismů. Vyšší obsah lysozymu je v kolostru, ale také se jeho obsah zvyšuje při infekcích (Van Hooijdonk et al. 2000; Lönnerdal 2013). Kolostrum neboli mlezivo je produktem mléčné žlázy savců. Jedná se o hustou lepkavou tekutinu, která má nažloutlou až nahnědlou barvu, specifický pach a mírně slanou chuť. Má vysoký obsah sušiny, z níž největší podíl tvoří bílkoviny, především imunoglobuliny. Vykazuje zvýšenou enzymatickou aktivitu, zejména katalázy, amylázy a lipázy (Gajdůšek 2003).

#### 3.4.6.4 Imunoglobuliny

Imunoglobuliny (ve zkratce Ig), zejména kravské IgG, byly studovány od 70. let minulého století z hlediska jejich potenciálních kladných účinků na imunitu a infekce u lidí. Kravský IgG se může vázat nejen na širokou škálu patogenních bakterií a virů, ale také na mnoho alergenů. Kromě toho lze specifčnost imunoglobulinů v mléce nebo mlezivu zvýšit očkováním krav před

odebráním jejich mléka nebo mleziva (Rump et al. 1992; Ulfman et al. 2018). Nejvíce se v kravském mléce vyskytují IgG1, IgG2, IgA a IgM. Ve zralém mléce je IgG1 dominantním izotypem, zatímco IgA a IgM jsou přítomny v přibližně 5–10krát nižších hladinách (Stelwagen et al. 2009). Koncentrace IgG1 ve zralém mléce je kolem 200–500 µg/ml (Ulfman et al. 2018).

V poslední době se můžeme setkat s trendem využívat i kolostra k tvorbě mléčných výrobků a doplňků stravy. Tyto produkty však mívají ne zcela příjemnou chuť a rychleji se kazí. Předpokládá se však, že v budoucnu budou biomolekuly z mleziva použity k vývoji funkčních mléčných potravin (Korhonen & Pihlanto 2007). Mnohé studie zjistily, že orální podání kravského kolostra by mohlo poskytnout pasivní imunitní ochranu člověka prostřednictvím právě imunoglobulinů (Hurley & Theil 2011). Aby bylo možné imunoglobuliny použít jako aktivní profylaktickou složku v lidských potravinách, musí být značné množství hovězího imunoglobulinu schopno přežít průchod žaludkem do tenkého střeva nebo dokonce v celém gastrointestinálním traktu (GI). První studie o použití perorálních bovinních imunoglobulinů k prevenci a léčbě gastrointestinálních infekcí se zaměřily na použití kolostra obsahujícího imunoglobuliny specifické pro rotavirus (Ebina et al. 1983). Od těchto raných studií bylo provedeno mnoho dalších studií s využitím různých systémů *in vitro*, zvířecích modelů a studií na lidech, aby se určily mechanismy účinku a jejich použitelnost pro lidské zdraví (Ulfman et al. 2018).

#### 3.4.6.5 Oligosacharidy

Oligosacharidy obsažené v mléce jsou sekundárními produkty syntézy glykoproteinů a glykolipidů. Podílejí se na ochraně proti infekcím. Vyskytují se v mléce jako volné molekuly, nebo spojené s jinými látkami (konjugované lipidy). Představují rozpuštěné receptory, které na sebe mohou vázat patogeny a tím zabránit infekci v gastrointestinálním traktu. Podporují růst bifidobakterií (Ebringer et al. 2008).

### 3.5 Mikrobiologie mléka

#### 3.5.1 Mikrobiologie syrového mléka

Jak již bylo zmíněno, mléko je velmi bohaté na živiny (bílkoviny, esenciální aminokyseliny, tuky, cukry, vitaminy, minerály), při téměř neutrálním pH a při vysoké vodní aktivitě. Tyto podmínky poskytují ideální prostředí pro růst mnoha mikroorganismů (Doyle et al. 1997; Peutherer et al. 1999; Walstra et al. 2006; Clayes et al. 2013).

Mikrobiota syrového mléka je velmi různorodá a může být složena z patogenních mikroorganismů a dokonce i z bakterií, které mají důležitý technologický význam (Perin et al. 2019). Některé mikroorganismy přítomné v mléce mohou hrát důležitou technologickou roli při produkci žádoucích metabolitů. Tyto mikroorganismy se používají v mlékárenském průmyslu jako startovací kultury, neboť podporují žádoucí změny v mléce a vytvářejí diferencované produkty, jako jsou kvašená mléka a sýry (Hugenholtz & Starrenburg 1992; Perin et al. 2019). Bakterie mléčného kvašení (BMK - z anglického originálu lactic acid bacteria LAB) jsou skupinou bakterií, které fermentují laktózu na laktát. Jsou před pasterizací dominantní populací v kravském, kozím, ovčím a buvolím mléce (Drbohlav & Vodičková 2001; Wouters et al. 2002). Jedná se například o *Lactococcus lactis* a *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* a *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* a *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus* (Hugenholtz & Starrenburg 1992; Ott et al. 2000; Herve-Jimenez et al. 2009; Broadbent et al. 2011; Quigley et al. 2013). Mají různé účinky na smyslové, aromatické a organoleptické vlastnosti a i na texturu výsledných produktů (Wouters et al. 2002). Některé BMK mají schopnost produkovat bakteriociny. Bakteriociny jsou antimikrobiální peptidy syntetizované v ribozomech. Byla popsána velká rozmanitost bakteriocinů, které se však liší složením aminokyselin, biosyntézou, transportem a způsobem působení. V potravinách lze bakteriociny přirozeně nalézt jako produkty mikrobioty nebo zaváděné ze startovacích kultur (Cotter et al. 2005)

Standardně, pokud nedochází k infekci nebo pokud zvíře nemá nějaké onemocnění, mléko v mléčné žláze neobsahuje téměř žádné bakterie (LeJeune & Rajala-Schultz 2009; Lucey 2015). Avšak jakmile se mléko vylučuje, může být kontaminováno bakteriemi, které žijí jako komenzální mikroflóra na strukové kůži nebo na epiteliální výstelce strukového kanálu, což je kanál, který odvádí mléko z mléčné žlázy do strukového otvoru. U skotu nezřídka kolonizují toto místo bakterie rodů *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Micrococcus* a *Corynebacterium*. Proto i u zdravého zvířete může mléko po nadojení obsahovat řadu bakteriálních kontaminantů (LeJeune & Rajala-Schultz 2009).

Existují přinejmenším čtyři různé mechanismy, kterými se syrové mléko může kontaminovat: 1. přímým průchodem patogenního mikroorganismu krví krávy do mléka (během systémové infekce), 2. přímým průchodem, avšak během lokalizované infekce vemene (neboli mastitidou), 3. fekální kontaminací (vnější kontaminací mléka z prostředí konečníku krav během dojení nebo po něm, 4. kontaminací z lidské kůže. Téměř vše, co přijde s mlékem do styku, může být zdrojem kontaminace – dojíací zařízení, mléčné potrubí, tanky (Lucey 2015).

Chlazení syrového mléka bezprostředně po dojení je hlavním nástrojem konzervace produktu. Chlazení mléka musí však být provedeno okamžitě po dojení a teplota musí rychle dosáhnout 4 °C, aby bylo možné kontrolovat množení přítomné mikrobioty až do termického ošetření. Hygienické podmínky dojení a chlazení při teplotě 4 °C nebo nižší jsou proto způsoby, jak je možno zabránit nežádoucím změnám v důsledku přítomnosti patogenních mikroorganismů v syrovém mléce (Perin et al. 2019).

Růst mikroorganismů lze vyjádřit růstovou křivkou. Buňky v kontaktu se substrátem, který mohou využít pro svůj růst, se začnou rozmnožovat. Buňky se rozmnožují, dokud přetrvávají příznivé podmínky (pH, teplota, koncentrace živin, přítomnost kyslíku). Růstová křivka se skládá ze 4 fází: lag fáze, exponenciální fáze, stacionární fáze a fáze odumírání. Každá z těchto fází představuje zřetelné období růstu, které je spojeno s typickými fyziologickými změnami v buněčné kultuře (Maier & Pepper 2015).

#### 3.5.1.1 Mezofilní mikroorganismy

Pro mezofilní mikroorganismy je typické, že nejlépe rostou při mírných teplotách s optimální růstovou teplotou v rozmezí od 25 °C do 40 °C. Hlavními rody mezofilních bakterií, které mohou být přítomny v mléce, jsou mikrokoky, stafylokoky, enterokoky, *Escherichia*, *serratia*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*. Mezofilní bakterie jsou považovány za univerzální indikátory hygienické čistoty. Většina těchto patogenů je přítomna na vemeni zvířete, na rukou dojičů, na povrchu zařízení, ve vodě a i ve vzduchu (Perin et al. 2019). Patogenem, který se často vyskytuje ve velkoobjemovém mléce a který je významnou příčinou mastitidy u dojnic po celém světě, je *Staphylococcus aureus*. Bovinní mléčná žláza může být významným rezervoárem enterotoxických kmenů *S. aureus*, kdy konzumace syrového mléka vede k riziku škodlivosti pro zdraví (Oliver et al. 2005).

#### 3.5.1.2 Psychrotrofní mikroorganismy

Psychrotrofní mikroorganismy jsou schopny růstu a metabolických projevů při teplotě okolo 3 - 7 °C a jedná se například o *Pseudomonas* a *Bacillus* (Perin et al. 2019). Mezi hlavní zdroje psychrotrofní kontaminace patří chybně dezinfikované dojicí zařízení a voda. Za vhodných podmínek dojení a konzervace mléka tato skupina obecně představuje 10 % mikrobioty syrového mléka, ale pokud se mléko získává za špatných hygienických podmínek, může představovat až 75 % celkové mikrobioty syrového mléka. Přítomnost psychrotrofních

látek v mléce je důležitá vzhledem k jejich kazivosti a v důsledku toho je jedním z hlavních omezení trvanlivosti mléka. Většina v mléku přítomných psychrotrofních mikroorganismů pro konzumenta nepředstavuje zdravotní riziko. Avšak přítomnost např. *Bacillus cereus* a *Yersinia enterocolitica* může mít za příčinu infekce trávicího traktu a alimentární otravy (Perin et al. 2019).

Některé z psychrotrofních mikroorganismů mohou vylučovat hydrolytické enzymy, které jsou odolné vůči teplu při pasterizaci nebo i po ošetření UHT technologií a v důsledku toho si zachovávají část své aktivity. Na jednu stranu mohou být tyto hydrolytické enzymy důležitým nástrojem pro mléčný průmysl, protože tyto enzymy mohou během zrání přispívat k vývoji chuti a textury sýrů (Hasan et al. 2006; Tavano 2013). Ale na druhou stranu, hydrolytické enzymy produkované psychrotrofními bakteriemi jsou také široce spojeny s technologickými problémy v mléce a mléčných výrobcích. *Pseudomonas* (hlavně skupina *P. fluorescens*), *Bacillus*, *Serratia* a *Hafnia* mají silný proteolytický potenciál, zatímco ostatní druhy *Pseudomonas* (hlavně ne fluorescenční *Pseudomonas*), *Bacillus*, *Enterobacter* a *Acinetobacter* jsou silně lipolytické (Hantsis-Zacharov & Halpern 2007). Proteolytická aktivita způsobuje v mléku a mléčných výrobcích ireverzibilní změny. Vytváří se nepříjemné chutě: ovocné, zatuchlé a hořké. Lipolytická aktivita vytváří nežádoucí příchutě produktu, jako jsou žluklé, nečisté, mýdlové nebo hořké, což činí produkt pro spotřebitele méně přijatelným (Deeth 2011).

### 3.5.1.3 Koliformní mikroorganismy

Koliformní mikroorganismy jsou gramnegativní, mezofilní mikroorganismy, které mají schopnost fermentovat plyn produkující laktózu. Jsou přítomny v půdě, neupravené vodě, na povrchu zařízení a ve výkalech. Mezi jejich zástupce se řadí *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* (Perin et al. 2019).

### 3.5.1.4 Kvasinky a plísně

V syrovém mléce mohou být také v určitém množství zastoupeny kvasinky a plísně. Mohou být důležitou mikrobiální populací v syrovém mléce. Plísňové složení syrového mléka je do jisté míry ovlivněno fyziologickým stavem zvířete, počasím, krmením a ročním obdobím (Quigley et al. 2013).

Druhy kvasinek, které byly detekovány v syrovém mléce: *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Debaryomyces hansenii*, *Geotrichum candidum*, *Geotrichum catenulate*, *Candida sake*, *Candida parapsilosis*, *Candida inconspicua*,



*Trichosporon cutaneum*, *Trichosporon lactis*, *Cryptococcus curvatus*, *Cryptococcus carnescens* a *Cryptococcus victoriae* (Delavenne et al. 2011). *Kluyveromyces marxianus* je zvláště zajímavý díky jeho rychlé rychlosti růstu, termotoleranci, schopnosti asimilovat širokou škálu cukrů, sekreci lytických enzymů a produkci ethanolu vznikajícího fermentací (Lane & Morrissey 2010). Kvasinky mohou hrát významnou roli ve fermentacích mléčných výrobků kvůli řadě jejich fyziologických a biochemických charakteristik, včetně schopnosti využívat laktózu nebo galaktózu (Van den Tempel & Jakobsen 2000).

Plísně mají schopnost zvýšit chuť, aroma a modifikovat strukturu mléčných výrobků v důsledku rozsáhlé proteolýzy a lipolýzy. Rody plísní, které jsou nejčastěji detekovány v syrovém mléce, zahrnují *Penicillium*, *Geotrichum*, *Aspergillus*, *Mucor* a *Fusarium* (Lavoie et al. 2012).

#### 3.5.1.5 Patogenní organismy

Prevalence (výskyt) patogenů v mléce je ovlivněna řadou faktorů, a to velikostí farmy, počtem zvířat, úrovní hygieny, organizací práce na farmě, čistotou dojíčích zařízení nebo sezonou. Jak již bylo uvedeno, syrové mléko může být kontaminováno různými patogeny, a to i v případě, že je mléko získáváno od klinicky zdravých zvířat. I v mléce, které se na první pohled jeví jako kvalitní, to znamená, že obsahuje celkově nízký počet bakterií, se však mohou vyskytovat patogeny (v malém množství). Pokud patogenní bakterie patří mezi kontaminanty, může mléko představovat ohrožení bezpečnosti potravin. Pro minimalizaci možnosti, že se mléko kontaminované patogenními organismy dostane ke spotřebiteli, je používáno několik postupů. Mezi tyto postupy patří vysoká veterinární péče o zdraví zvířat, zlepšená hygiena dojení a v neposlední řadě i pasterizace mléka (LeJeune & Rajala-Schultz 2009).

Zajištění bezpečnosti syrového mléka příležitostným testováním je obtížné z následujících důvodů: Problémy s nedostatečným vzorkováním, jelikož kontaminace mléka může být ojedinělá a bakteriální zátěž se může každý den lišit (tj. odběr vzorků a testování každý den poskytuje větší jistotu požadavku na bezpečnost). Příležitostné (jen někdy) testování syrového mléka tak nezaručuje, že ve zdrojích mléka nejsou přítomny žádné patogeny ve dnech, kdy se toto testování neprovádí (Lucey 2015). Navíc není vyloučeno, že počet přítomných organismů (patogenů) je příliš nízký na to, aby byl analytickou metodou detekován. Nicméně i malý počet bakterií a virů v mléce může člověku způsobit onemocnění (Lucey 2015).

Za hlavní mikrobiologická nebezpečí spojená s konzumací syrového mléka od krav, koz a ovcí se považují tyto patogenní mikroorganismy: *Bacillus cereus*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, enterotoxin produkující *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*,

*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Clostridium botulinum*, *Brucella* spp., *Mycobacterium bovis*, *Cryptosporidium parvum* a *Toxoplasma gondii*. Některá mikrobiologická nebezpečí jsou označena jako hypotetická, jelikož stále ještě nejsou potvrzena, ale mají hypotetický potenciál být patogenní pro člověka (*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*; ve zkratce MAP) (Verraes et al. 2015).

#### 3.5.1.5.1 *Salmonella*

*Salmonella* žije ve střevním traktu různých živočišných druhů, včetně skotu. Salmonelové postižení může být vážným zdrojem zdravotních problémů vznikajících po požití kontaminovaných potravin. Lidé jsou salmonelou obvykle infikováni především fekální kontaminací potravin nebo vody. Přímý kontakt s nemocnými zvířaty nebo lidmi může být dalším zdrojem kontaminace, zejména pro rodiny zemědělců (Oliver et al. 2005).

#### 3.5.1.5.2 *Campylobacter*

*Campylobacter jejuni* je nejčastěji identifikovanou příčinou akutního infekčního průjmu ve vyspělých zemích. Nemoc způsobená patogenem *Campylobacter* se vyznačuje sporadickými případy chronické gastritidy a enterokolitidy. Infekce vyvolané potravou kontaminovanou *Campylobacter* mohou vést k velmi závažným následkům, jako je syndrom Guillian-Barré (akutní zánětlivé postižení periferních nervů). Lidé se mohou nakazit požitím kontaminovaného nepasterizovaného mléka, mléka, které není správně pasterované. *Campylobacter jejuni* se vylučuje výkaly a zvířecími sekrety a mléčný skot je infikován požitím vody a krmiv kontaminovaných hnojem. *Campylobacter jejuni* je také vzácnou příčinou subklinické mastitidy u dojnic a může se vyskytovat i v mléce asymptomatických krav (Oliver et al. 2005). K vysokému podílu lidských infekcí způsobených *Campylobacter jejuni* došlo při požití neupravené vody, nepasterovaného mléka a nedostatečně pasterovaného mléka kontaminovaného tímto potravinářským patogenem (Oliver et al. 2005).

#### 3.5.1.5.3 Mastitida

Jedním z nejčastějších onemocnění skotu, které výrazně ovlivňuje kvalitu mléka, je zánět mléčné žlázy neboli mastitida (LeJeune & Rajala-Schultz 2009). Jedná se o onemocnění, kdy patogenní bakterie vstoupí do mléčné žlázy, a proto dochází k závažnému zánětu. Tento zánět může způsobit významné snížení výtěžnosti mléka a jeho složení (Walstra et al. 2006). Mikroorganismy vstupují do vemene skrz kanál na špičce struku. Je známo, že poškození konce

struku v důsledku zranění narušuje ochrannou bariéru. Tímto způsobem mikroorganismy obvykle během dojení proniknou koncem struků a poté do tkáně struku (Perin et al. 2019).

Mastitida může probíhat na první pohled zjevně (tzv. klinicky či příznakově), případně bez viditelných příznaků (tzv. subklinicky či bezpříznakově). Mléko produkované skotem trpícím subklinickou (tzn. bezpříznakovou) mastitidou se výrazně neliší od mléka produkovaného neinfikovanými zvířaty. Někdy se tedy může dostat do sběrné nebo skladovací nádrže na farmě (dojde tedy k jeho smíšení s mlékem od zdravých dojnic). Mléko od krav s klinickou (tzn. příznakovou) mastitidou má obvykle už na pohled jiné organoleptické vlastnosti v porovnání s mlékem od zdravé dojnice (tj. může obsahovat vločky, sraženiny, krev nebo může mít změněnou barvu) a je ihned vyloučeno ze zpracování v rámci mlékárenského průmyslu (LeJeune & Rajala-Schultz 2009). Počet somatických buněk v mléce se často používá pro kvantitativní odhad míry závažnosti mastitidy a změny složení mléka. Za zvíře zdravé se považuje kráva s počtem somatických buněk (PSB) do 400 000 na mililitr mléka. A počet mikroorganismů by měl být v mililitru mléka při teplotě 30 °C menší nebo rovno 100 000. Korelace však zdaleka nejsou dokonalé. Je to hlavně proto, že počet buněk je ovlivněn řadou dalších faktorů. U zdravých krav roste riziko mastitidy s věkem a se stadiem laktace. Navíc se mezi jednotlivci významně liší – tzv. interindividuální variabilita (Walstra et al. 2006).

Na základě analýzy vzorků kravského mléka z New Yorku, Pensylvánie (1991–1995) a Wisconsinu (1994–2001) byl zjištěn výskyt vemenních (neboli intra-mamárních) infekcí až u 50 % testovaných vzorků. V této studii byly v kravském mléce nalezeny zejména dva druhy grampozitivních bakterií *Staphylococcus* nebo *Streptococcus*. Přibližně 20 % vzorků obsahovalo současně organismy obou těchto bakteriálních skupin (LeJeune & Rajala-Schultz 2009).

#### 3.5.1.5.4 Tuberkulóza a brucelóza

Systemová onemocnění skotu mohou být rovněž spojena s usídlením patogenů v mléčné žláze nebo ve spádových lymfatických uzlinách a s následným vylučováním patogenů do mléka. Kravská tuberkulóza a brucelóza jsou klasickými příklady zvířecích (zoonotických) onemocnění přenášených mlékem. Příspěvek skotu k epidemiologii těchto dvou chorob u lidí byl tak významný, že bylo nutno vynaložit značné úsilí k vymýcení (tzv. eradikaci) těchto infekcí u skotu. Eradikační programy byly do značné míry úspěšné. V důsledku toho se *Mycobacterium bovis* (původce tuberkulózy) a *Brucella abortus* (původce brucelózy) u domácího skotu vyskytují v současnosti již jen zřídka (Theon et al. 2006; LeJeune & Rajala-Schultz 2009).

*Mycobacterium bovis* je bakterie, která způsobuje u zvířat bovinní tuberkulózu, a to se symptomy horečky, slabosti, nechutenství a respiračních potíží a každoročně vede k závažným ekonomickým ztrátám. Tento patogen se může rozšířit i na člověka požitím syrového mléka, které způsobuje zootomickou tuberkulózu, jež je nerozeznatelná od lidské tuberkulózy (Thoen et al. 2006).

Tato onemocnění se ovšem v České republice již delší dobu nevyskytují (brucelóza od roku 1964 a tuberkulóza od roku 1968) (Státní veterinární správa 2/2019).

### **3.5.2 Mikrobiologie tepelně upraveného mléka**

V mléce se mohou vyskytovat kontaminanty i po provedení pasterizace (zejména sporulující mikroorganismy), jelikož spory nejsou pasteračními teplotami ovlivněny. Mezi kontaminanty mléka tvořící spory zahrnujeme například *Bacillus cereus*, *Bacillus sporothermodurans* a *Geobacillus stearothermophilus*. *Bacillus cereus* představuje hlavní kazící mikroorganismus pasterizovaného mléka a mléčných výrobků skladovaných při teplotě chlazení. Způsobuje nepříjemnou chuť a srážení mléka. O tuto bakterii se také zajímáme z hlediska bezpečnosti potravin, jelikož může produkovat různé typy toxinů, a tím způsobovat následnou otravu jídlem (Driehuis 2013).

Zpracování mléka podléhá přísným hygienickým předpisům z hlediska lidského zdraví, kvality produktů z mléka a vhodnosti mléka pro následné zpracování. Složky, které jsou pro mléko cizí, jsou často negativní pro jeho kvalitu (Walstra et al. 2006; Lucey 2015). Všechny tyto záležitosti jsou předmětem hygieny mléka. Lze rozlišit mikrobiální, chemickou a fyzikální hygienu. Mikroorganismy mohou představovat zdravotní riziko (potravinová infekce nebo otrava potravinami) nebo mohou mléko znehodnotit, během skladování jej zakysají. Světlem indukované aromatické látky, oxidace tuků a hydrolýza tuků jsou výsledkem chemických nebo enzymatických přeměn. Dále mohou do mléka vstoupit sloučeniny, které jsou pro spotřebitele potenciálně škodlivé, jako jsou antibiotika, dezinfekční prostředky, pesticidy a těžké kovy (Walstra et al. 2006).

## **3.6 Pasterizace a její vliv na mléčné složky**

### **3.6.1 Pasterizace**

Pasterizace je proces zahřívání syrového mléka po stanovenou dobu při určené teplotě. Je používána s cílem zničit veškeré patogeny v něm obsažené, deaktivovat přítomné enzymy a snížit celkový počet mikroorganismů (LeJeune & Rajala-Schultz 2009). Tepelné zpracování

na jedné straně indukuje degradaci, denaturaci a inaktivaci tepelně labilních složek a na druhé straně tvorbu „nových“ látek, které nejsou přítomny v nezpracovaném produktu. Přítomnost enzymů v pasterizovaném mléce slouží jako indikace správnosti tepelného ošetření. Zkoumá se přítomnost alkalické fosfatázy (pro šetrnou pasterizaci) a laktoperoxidázy (pro vysokou pasterizaci) (Ebringer et al. 2008).

Současné pokyny platné pro optimální nastavení teploty a času pasterizace jsou stanoveny dle limitů likvidace *Coxiella burnetii*, jelikož způsobuje G horečku (akutní infekční onemocnění s plicní, chřipkovou nebo gastrointestinální formou) a může přispět k rozvoji Crohnovy choroby. Proces tepelné destrukce je logaritmický. Bakterie jsou totiž ničeny rychlostí, která je úměrná počtu přítomných bakterií. Pasterizace zvyšuje bezpečnost a prodlužuje trvanlivost produktu eliminací patogenních mikroorganismů (LeJeune & Rajala-Schultz 2009). Avšak rostoucí počet zpráv o detekci patogenů v nesprávně pasterovaném mléce a mléčných výrobcích určených k přímé spotřebě zřetelně ukazuje, že samotná pasterace nemusí být vždy konečným řešením pro kontrolu mléčných patogenů. Je možná i následná postpasterační kontaminace (Oliver et al. 2005).

Podmínky tepelného zpracování proto musí být zvoleny tak, aby bylo možné dosáhnout požadovaných výsledků pro hygienickou bezpečnost (Ebringer et al. 2008). Pasterizace není synonymem sterilizace (zničení všech forem mikroorganismů včetně sporulujících, obvykle při teplotě nad 100 °C) (LeJeune & Rajala-Schultz 2009).

Jak již bylo uvedeno výše, tepelné ošetření mléka se používá především ke snížení počtu mikroorganismů, nejlépe k úplnému odstranění všech vegetativních forem, včetně patogenů. Způsobuje rovněž chemické a organoleptické změny, jejichž rozsah závisí na teplotě a délce zahřívání. Tzv. nízká pasterizace (například po dobu 15 sekund při 74 °C) je poměrně mírné ošetření, které ničí většinu mikroorganismů a inaktivuje některé enzymy, ale nezpůsobuje příliš mnoho dalších změn (Walstra et al. 2006).

Tzv. vysoká pasterizace (například po dobu 15 sekund při 90 °C) je intenzivnější. Při ní jsou všechny vegetativní mikroorganismy usmrceny, většina enzymů je deaktivována (Walstra et al. 2006).

Sterilizace (například po dobu 20 minut při 118 °C) je určena k usmrcení všech mikroorganismů, včetně spor (jak bylo zmíněno výše). Všechny enzymy jsou inaktivovány, dochází k četným chemickým změnám, jako jsou reakce zhnědnutí. Zahřívání UHT (ultra high temperature) probíhá např. při 145 °C po dobu několika sekund (Walstra et al. 2006).

Biologicky aktivní látky si zachovávají svou původní aktivitu pouze v syrovém mléce. Jedná se o látky, které mají enzymatickou aktivitu, zvýšenou absorpci živin, stimulaci růstu, modulaci

imunitního systému a obranu proti patogenům. Mezi bioaktivní látky přítomné v mléce patří například imunoglobuliny (Haug et al. 2007). Vyšší teplota je deaktivuje, nepříznivě ovlivňuje vstřebávání některých minerálů, včetně vápníku, železa a zinku prostřednictvím denaturací proteinů, které je přenášejí, například laktoferin. Avšak tyto změny nemají významný vliv na nutriční hodnotu mléka (Forssén et al. 2000; Ebringer et al. 2008).

Tepelné změny mléčného výrobku závisí na délce a intenzitě ohřevu. Pasterizace nenarušuje aktivitu vitaminů rozpuštěných v tucích (vitaminy A, E a D) a riboflavinu. V případě nejjemnější pasterizace (72–75 °C po dobu několika s) zůstává většina vitaminů skupiny B rozpustných ve vodě téměř neporušená, jejich aktivita klesá jen mezi 1 a 10 %. Jedinou výjimkou je vitamin C, jehož obsah je snížen o 30–50 %. Vyšší teploty ovlivňují bílkovinné sloučeniny zejména enzymy, hormony a růstové faktory (IGF-1) (Ebringer et al. 2008). Hormony kravského mléka jsou peptidové povahy (například bST, též nazývaný jako hovězí somatotropin). V mléku je minimální koncentrace těchto hormonů. Při pasterizaci se jich zhruba 90 % denaturuje vlivem vysoké teploty. Trávením jsou štěpeny trávicími enzymy na jednotlivé aminokyseliny, tím ztratí svou biologickou aktivitu. Studie ukazují, že konzumace kravského mléka, které obsahuje IGF-1 (inzulínový růstový faktor 1), nemá žádnou biologickou aktivitu jako růstový hormon (Collier & Bauman 2014).

Vyšší teplota také poškozuje vazbu mezi proteinem a kyselinou listovou, a to snižuje její resorpci. Kyselina listová je důležitým vitaminem z hlediska hematopoézy (tvorby krve) a u těhotných žen jako prevence poškození nervového systému plodu (projevující se jako vrozený rozštěp páteře neboli spondyloschisis novorozenců). Přestože mléko obsahuje relativně malé množství kyseliny listové (50 µg/l), jeho další zpracování na sýr a fermentované mléčné výrobky prostřednictvím mléčných bakterií podstatně zvyšuje obsah tohoto vitaminu (Forssén et al. 2000).

Tepelné zpracování mléka při vysokých teplotách, například při sterilizaci, může způsobit rovněž zásadní změny ve struktuře kaseinu a bioaktivních peptidů. Například defosforylace kaseinu teplem nevede pouze ke strukturálním změnám, ale současně snižuje obsah fosfoproteinů, čímž minimalizuje nebo zcela eliminuje jeho schopnost přenášet minerály.

V důsledku změn způsobených vysokou teplotou trávicí enzymy reagují se strukturálně změněnými proteiny, jako by šlo o zcela odlišné a nepřírodní substráty. Extrémní tepelné a alkalické zpracování mléka vytváří intermolekulární a intramolekulární kovalentní vazby, které jsou odolné vůči působení hydrolytických enzymů. To zase může podpořit racemickou přeměnu L-aminokyselin na D-aminokyseliny, což vede ke vzniku nestravitelných peptidových vazeb (Ebringer et al. 2008).

Chuť mléčných výrobků je výrazně ovlivněna těkavými sloučeninami síry. Tepelně upravené mléko, například sterilizací, produkuje nové těkavé sloučeniny, včetně sloučenin síry, které mění chuť mléka a silně ovlivňují přijatelnost mléka UHT pro spotřebitele. Vliv látek s obsahem síry se na chuti u mléčných výrobků může lišit. Na druhou stranu těkavé sloučeniny síry mohou být z pohledu spotřebitele i pozitivní, neboť přispívají k typické chuti například u sýrů Cheddar (Al-Attabi et al. 2008).

V případě ošetření mléka technologií UHT dojde k vytvoření zřetelné vařivé chuti, která však po několika dnech skladování zmizí. Ovšem při skladování se mohou vyvíjet i další chutě, jako je zahřátá (nazývaná také bohatá a sterilizovaná), oxidovaná nebo zatuchlá. Kromě toho se mohou také vyvinout žluklé chutě způsobené lipolýzou tuku a hořká chuť způsobená proteolýzou. Jemná a příjemná chuť syrového mléka se při jeho tepelném zpracování mění na různé druhy chutí. Tyto nové chutě souvisejí s rozvinutím těkavých sloučenin. Vařivá chuť se vyvíjí se zvyšováním teploty při tepelném ošetření. Velmi slabá vařivá chuť vzniká v nízko pasterizovaném mléce (72 °C, 15 s) a stává se výraznější se zvýšeným tepelným zpracováním v různých typech zpracovaného mléka (Al-Attabi et al. 2008).

Celkově pasterizace zajišťuje inaktivaci vegetativních patogenních mikroorganismů, a to zvyšuje bezpečnost produktů z nich vyrobených ve srovnání s mléčnými výrobky zhotovenými z mléka syrového. Je však třeba poznamenat, že mléčné výrobky produkované z pasterizovaného mléka by mohly být náchylné k následné kontaminaci. Proto je při jejich výrobě nezbytná aplikace dobrého systému analýzy rizik a kritických kontrolních bodů (Hazard Analysis and Critical Control Points ve zkratce HACCP) (Verraes et al. 2015).

HACCP je metoda, která v rámci výrobního procesu stanoví kontrolní opatření, která jsou nezbytná pro zajištění bezpečnosti výrobku. Stejnou metodu lze použít pro jiné kvalitativní charakteristiky, ale důraz je obecně kladen na bezpečnost. Hlavními rysy metody jsou: provedení analýzy potenciálních rizik, identifikace kritických bodů v procesu a stanovení kritérií pro kontrolu. Jako kritický bod je definován bod, který musí být kontrolován, aby byla zajištěna bezpečnost nebo požadovaná kvalita (Walstra et al. 2006).

### **3.6.2 Technologie pasterizace**

Potravinářský průmysl obecně patří mezi energeticky náročnější odvětví. Mléčný průmysl patří ve spotřebě energie mezi ty vůbec nejnáročnější segmenty potravinářského průmyslu (Yildirim & Genc 2015).

Pasterizace mléka zahrnuje z technologického hlediska zahřátí na dostatečnou teplotu a časové období pro inaktivaci a ničení kontaminujících patogenních mikroorganismů (Tabulka

číslo 2). Je navržena tak, aby se mléko stalo bezpečným produktem pro lidskou spotřebu a byla prodloužena jeho trvanlivost. Dva nejčastěji používané technologické procesy pasterizace dnes jsou: HTST a UHT. V procesu HTST (nízká pasterizace) se mléko zahřívá na minimálně 72 °C po dobu 15 sekund, zatímco pasterizace UHT udržuje mléko při teplotách v rozmezí 135 až 140 °C po dobu minimálního udržovacího období 2 sekund (Tabulka číslo 3). Účinek tepelné pasterizace na mléko, včetně kvality bílkovin, tuků, minerálů, vitaminů, vzhledu a chuti, byl v posledních několika desetiletích předmětem intenzivního výzkumu (Qi et al. 2015).

**Tabulka číslo 2** Kombinace teploty a času pro správnou pasterizaci (Lucey 2015).

<b>Teplota</b>	<b>Čas</b>
63 °C (145 F)	30 minut
72 °C (161 F)	15 sekund
89 °C (191 F)	1,0 sekund
90 °C (194 F)	0,5 sekund
94 °C (201 F)	0,1 sekund
96 °C (204 F)	0,05 sekund
100 °C (212 F)	0,01 sekund

V případě mléka UHT, kde se používají dvě hlavní zpracovací metody: 1. při nízkém stupni přímého ohřevu se produkuje málo vařivá chuť; 2. výraznější vařivá chuť vyplývá z vyššího stupně nepřímého zahřívání. Přímé zahřívání zahrnuje smíchání nasycené páry pod tlakem s mlékem, ať už se pára zavádí do mléka (vstřikování), nebo se mléko rozprašuje do atmosféry páry (infuze). Zde se mléko zředí a přebytek vody se odstraní pomocí vakuové komory. Pro nepřímé zpracování se mléko zahřívá pomocí deskového tepelného výměníku nebo trubkového tepelného výměníku, kde mléko není v přímém kontaktu s topným médiem, tj. vodou (Al-Attabi et al. 2008).



**Tabulka číslo 3** Tepelná ošetření mléka (Fox & Kelly 2012).

Tepelná úprava	Teplota	Čas	Výsledek
Termizace	63 °C	15 sekund	redukce počtu psychrotrofních bakterií, pozitivní fosfatázový test
Pasterace	72-74 °C	15-30 sekund	usmrcení vegetativních forem mikroorganismů, pozitivní laktoperoxidázový test
UHT	135-140 °C	1-2 sekund	trvanlivé mléko
Sterilizace	118 °C	12 minut	trvanlivé mléko

### 3.6.3 Důsledky pasterizace na mléčné složky

#### 3.6.3.1 Na proteiny

##### 3.6.3.1.1 Na kaseiny

Kaseiny jsou velmi odolné vůči teplotám používaným při mlékárenském ošetření a nepodléhají výrazným chemicko-fyzikálním změnám (ani při teplotě kolem 140 °C trvající déle než hodinu) (Fox & Kelly 2012).

Avšak během záhřevu dochází ke změně velikosti kaseinových micel, který nemá vliv na nutriční hodnotu mléka. Rozsah změn velikosti je závislý na délce působení záhřevu, teplotě a hodnotě pH. Při nízkém pH (6,5 - 6,55) se velikost kaseinových micel při zahřívání výrazně zvyšuje. Maximální zvětšení velikosti dosahuje 30-35 nm. Naopak při vyšším pH (6,7) byly během zahřívání pozorovány menší změny velikosti. Došlo ke zvětšení kaseinových částic pouze o 5 nm a při pH vyšším než 6,7 se dokonce micely během mírné tepelné úpravy zmenšovaly (Anema & Li 2003).

##### 3.6.3.1.2 Na globulární proteiny

Globulární proteiny mohou být během pasterizace denaturovány. Při teplotě nad 70 °C vykazují rozvinutí svých peptidových řetězců. Většina těchto proteinů ztrácí svou biologickou aktivitu, například přestávají fungovat jako enzymy nebo jako protilátky díky obsahu imunoglobulinů, které preventivně působí proti alergiím a astmatu. Obecně se také stávají méně rozpustnými. Jinak mohou být změny mírné a nutriční hodnota bývá jen zřídka narušena. Ke změnám dochází u globulárních sérových proteinů mléka, konkrétně u  $\beta$ -laktoglobulinu,  $\alpha$ -laktalbuminu, sérového albuminu a imunoglobulinů. Bylo zjištěno, že pasterizace

(63 °C/30 min) denaturovala 33% IgM, ale neměla žádný negativní účinek na další dva hlavní imunoglobuliny (IgG, IgA) (Walstra et al. 2006).

### 3.6.3.2 Na antimikrobiální látky

Dle studie Xiong et al. (2020) tepelné zpracování snižuje schopnost laktoferinu vázat železo. Dále bylo zjištěno, že pasterizace při kombinaci teploty a času (72 °C/15 s) vedla 40-50% denuraci, ačkoli LF stále vykazuje podobné bakteriostatické vlastosti jako LF, který pasterizací neprošel.

Po tepelném záhřevu, při kombinaci teploty a času 62 °C/20 min nebo 72 °C/6 min, se aktivita laktoperoxidázy snížila a při 78 °C/15 s vykazovala úplnou inaktivaci (Sharma & Rajput 2014; Xiong et al. 2020).

### 3.6.3.3 Na laktózu

Zahřívání laktózy způsobuje mnoho chemických změn. Ty se týkají především degradace laktózy na organické kyseliny doprovázené poklesem pH zahřívání mléka. Laktóza je redukující cukr, a proto dochází k její izomerizaci (Maillardově reakci). Během této reakce laktóza reaguje s aminoskupinou, nejčastěji volnou aminoskupinou lyzinových zbytků, a to ve složité řadě reakcí, které nakonec způsobují nežádoucí změny v organoleptických vlastnostech mléka, jako je atypická (vařivá) chuť a vůně a snížení nutriční hodnoty mléka. Z laktózy při pasterizaci vznikají i oligosacharidy, které mohou mít projímavý účinek. Maillardova reakce také přispívá ke zhnědnutí mléka v důsledku tvorby pigmentů zvaných melanoidiny (Fox & Kelly 2012).

### 3.6.3.4 Na lipidy

Při tepelné úpravě jsou lipidy nejméně ovlivněny a nedochází u nich k výrazným fyzikálním a nutričním změnám. Změny jsou pouze minimální, a to takové, že během záhřevu mléka u nich dochází k přerušení některých chemických vazeb a v důsledku rozdílné hustoty vody a tuku k migraci tukových kapének a k vyvstávání tukové vrstvy na povrchu mléka (Fox & Kelly 2012).

### 3.6.3.5 Na vitaminy

Účinek tepelného ošetření (zejména pasterizace a UHT) na využití vitaminů z mléka, zejména vitamínu B2 (riboflavin) a vitamínu B12 (kobalamin), je velmi nízký, ba dokonce nulový. Byly zaznamenány pouze nepatrné či téměř žádné ztráty pro B6 (pyridoxin), niacin

(vitamin B3, kyselina nikotinová, nikotinamid), pro kyselinu panthothenovou (vitamin B5), biotin (vitamin B7) a i pro vitaminy A, D a E rozpustné v tucích (Claeys et al. 2013). Pasterizace však negativně působí na vitamin C, kdy je jeho obsah snížen o 30–50 %. Mléko ale není důležitým zdrojem vitaminu C (Ebringer et al. 2008).

### **3.7 Vliv mléka na lidské zdraví**

Konzumace mléka je důležitou součástí zdravé a vyvážené stravy mláďat (včetně dětí). Je to první potrava pro savčí mláďata a poskytuje veškerou potřebnou energii a živiny, které zajišťují správný růst, vývoj, a je tudíž nepostradatelná pro tvorbu kostní hmoty. Poskytuje živiny a bioaktivní složky, které usnadňují úspěšnou postnatální adaptaci mláďete stimulací buněčného růstu (Ebringer et al. 2008; Suchy 2010).

Mléko by mělo být nedílnou součástí jídelníčku i pro lidi v dospělosti. Někteří lidé však mléko ze zdravotních důvodů konzumovat nemohou. Některé epidemiologické studie potvrzují nutriční význam mléka v lidské stravě i v dospělém věku a podporují tak vyšší spotřebu mléka s ohledem na jeho preventivní účinek u chronických civilizačních onemocnění, například obezity, diabetu, kardiovaskulárních onemocnění (KVO), ischemické choroby srdeční (ICHS), mozkové mrtvice či některých typů rakoviny (Pereira 2014; Jeyaraman et al. 2019). Dále také díky konzumaci mléka může docházet k určité redukci rizika vzniku tak závažných onemocnění, jako jsou osteoporóza komplikovaná rozvojem zlomenin, kolorektální karcinom a nespecifické střevní záněty (Ebringer et al. 2008; Suchy 2010).

#### **3.7.1 Srdeční onemocnění**

KVO je jedním z nejčastějších civilizačních onemocnění na celém světě. Odhaduje se, že v roce 2015 bylo diagnostikováno 422,7 milionů případů KVO a v důsledku toho došlo k 17,92 milionům úmrtí na toto onemocnění (Fontecha et al. 2019).

Dle metaanalýzy Fontecha et al. (2019), která je v rozporu s Pereira et al. (2014) a Jeyaraman et al. (2019), tvořené přehledem dvanácti vědeckých prací nebyly zjištěny významné změny rizikových biomarkerů, jako je systolický a diastolický krevní tlak, celkový cholesterol a LDL (low density lipoprotein) cholesterol při konzumaci mléka a mléčných výrobků. Tato práce uvádí, že spotřeba mléčných výrobků se standardním i s nízkým obsahem tuku nijak neovlivňuje riziko vzniku KVO. Na základě výsledků získaných v tomto přehledu lze konstatovat, že spotřeba všech mléčných výrobků se standardním či nízkým obsahem tuku neprokázala žádnou souvislost s KVO nebo srdečním selháním.

U ischemické a hemoragické mrtvice byly nalezeny stejné výsledky nebo se dokonce projevilo nižší riziko výskytu či úmrtnosti při konzumaci mléčných výrobků se standardním či nízkým obsahem tuku (Fontecha et al. 2019).

### 3.7.2 Nádorová onemocnění

Několik epidemiologických studií zkoumalo souvislost mezi konzumací mléka a rizikem různých druhů rakoviny, ale důkazy z primárního výzkumu jsou stále neprůkazné a kontroverzní. Studie Jeyaraman et al. (2019) naznačuje, že vyšší spotřeba mléčných výrobků může být spojena se sníženým rizikem výskytu rakoviny gastrointestinálního traktu.

Dle Davoodi et al. (2013) jsou důkazy o zdravotních účincích konzumace mléka a mléčných výrobků na prevenci rakoviny výrazně větší než u těch, které představují škodlivé účinky.

Četná vědecká literatura poukazuje na to, že pravděpodobný škodlivý účinek konzumace mléka a mléčných výrobků v souvislosti se vznikem rakoviny závisí na jejich množství. Riziko pro lidi by proto mohlo nastat pouze při naprosto nadměrné a nevyvážené konzumaci, spíše než při pravidelném průměrném denním příjmu (Davoodi et al. 2013).

Výzkumy na zvířatech ukázaly, že galaktóza může mít toxický účinek na vaječníky, kam se dostane z krve. Může narušit normální gonadotropní sekreci, a tím podporovat karcinogenezi pokusných zvířat (Pereira 2014).

Byl zkoumán i vliv vápníku, kdy jeho nadměrný příjem narušuje syntézu vitamínu D a teoreticky může mít negativní roli při vzniku nádorových buněk v prostatě (Pereira 2014).

### 3.7.3 Obezita

Mléčné proteiny, kyselina mléčná, vápník a další minerály mohou významně snížit krevní tlak. Rovněž mléčný tuk obsahuje řadu složek majících příznivé funkční vlastnosti, například sfingolipidy (a jejich aktivní metabolity) mohou mít antimikrobiální účinky v průběhu trávení (Ebringer et al. 2008). Syrovátkové proteiny, jmenovitě  $\alpha$ -laktoalbumin,  $\beta$ -laktoglobulin, laktoferin, laktoperoxidáza a sérový albumin, mají důležité nutriční a biologické vlastnosti, zejména v oblasti prevence. Syrovátka totiž přispívá k regulaci tělesné hmotnosti tím, že vede k pocitu sytosti. Syrovátkové proteiny tak nacházejí místo v mléčných výrobcích u osob s obezitou a metabolickým syndromem (tedy stavem, kdy obezita je spojena s dalšími chorobami negativně ovlivňujícími kardiovaskulární systém). Mléčné výrobky s vysokým obsahem bílkovin a zejména ty, které obsahují syrovátkové proteiny, navíc mohou snižovat ukládání tuků a zlepšit citlivost na inzulín – tedy kompenzovat diabetes. Avšak během pasterizace se většina těchto proeinů denaturuje (Ebringer et al. 2008).

V dnešní době mezi lidmi vzniká debata, zda naopak mléko obezitu nepodporuje, i když pouze devět z devadesáti čtyř studií zjistilo pozitivní spojitost mezi mlékem a jinými mléčnými výrobky a tělesným tukem, kdy konzumace mléka a mléčných výrobků vedla k obezitě (Louie et al. 2011).

Douglas et al. (2019) shrnuje, že neexistují důkazy, které by podpořily snahu omezit konzumaci mléka a jiných mléčných výrobků dětmi z důvodu, že mohou podporovat obezitu. Stávající důkazy dále ukazují, že neexistuje žádný akceptovatelný důvod pro podporu hypotézy, že mléko a jiné mléčné výrobky podporují nadměrný přírůstek hmotnosti nebo zvyšují chuť k jídlu.

#### **3.7.4 Infekční onemocnění**

Jak již bylo zmíněno, po konzumaci mléka, které nebylo tepelně ošetřené, a proto obsahuje patogenní mikroorganismy, může docházet k různým infekčním onemocněním. Příznaky se liší dle původce. Jedná se například o horečku, nevolnost, zvracení, průjem a bolest břicha. V extrémních případech může dojít ke smrti. Jako hlavní příčina těchto infekčních onemocnění byla popsána konzumace syrových mléčných výrobků kontaminovaných viry a patogenními bakteriemi (*Salmonella* spp., *Listeria* spp., *E. coli*, *Campylobacter* spp., *Brucella* spp. nebo *Shigella* spp.) (Langer et al. 2012; Quigley et al. 2013).

#### **3.7.5 Mléčná alergie**

Alergie na mléko je nepříznivá hypersenzitivní imunologická reakce organismu na mléčné bílkoviny (Monaci et al. 2006). Kravské mléko je jedním z nejrozšířenějších alergenů v dětském věku. Ve většině případů přetrvává pouze do jednoho roku života, poté mizí. U přibližně 15 % dětí však tato alergie zůstává (Haug et al. 2007). Alergie na bílkoviny kravského mléka může vyvolat různé klinické obtíže, a to respirační (kašel, rýma, astma), kožní (dermatitida, kopřivka) nebo gastrointestinální (průjem, zvracení) (Monaci et al. 2006).

Mléčná alergie se může projevit pomalým nebo rychlým nástupem alergické reakce. Při pomalém nástupu se alergická reakce projeví pozvolna, po několika hodinách, případně po několika dnech od konzumace mléka. Tato reakce je zprostředkována T-lymfocyty a kvůli nespécifickým symptomům je obtížné tento typ mléčné alergie diagnostikovat. Naopak akutní alergická reakce, která je zprostředkována protilátkami, se projeví téměř ihned po požití mléka (Haug et al. 2007).

### 3.7.6 Laktózová intolerance

Často bývá za alergii na mléko mylně považována prostá laktózová intolerance, která je však méně závažným onemocněním (Bahna 2002; Haug et al. 2007). Laktózová intolerance nebo také laktózová nesnášenlivost či nedostatečnost je neschopnost organismu trávit a vstřebávat mléčný cukr, tedy laktózu. Tato neimunologická reakce se projevuje poruchami trávení a metabolismu laktózy, která je způsobena nedostatkem enzymu galaktosidáza (laktáza). Enzym galaktosidáza je fyziologicky produkován v tenkém střevě a je potřebný k hydrolýze laktózy na glukózu a galaktózu. Symptomy laktózové intolerance jsou velmi podobné mléčné alergii. Patří mezi ně ekzém, průjem, zvracení a žaludeční křeče (Haug et al. 2007). Poruchou trávení laktózy celosvětově trpí až 75 % populace. Neznamena to však, že se tato porucha projevuje u všech lidí v plné míře. K symptomatice intolerance je zapotřebí řada dalších genetických a nutričních faktorů (Insel et al. 2004). Je prokázáno, že laktózová intolerance je závislá na lidské rase. Nejvíce tímto onemocněním trpí populace tmavší pleti – Afričané, kdežto například u Dánů se intolerance vyskytuje přibližně u 10 % obyvatel podobně jako u Čechů (Bahna 2002).

### 3.8 Přínos konzumace syrového mléka

Syrové nepasterizované mléko bylo lidmi konzumováno tisíce let před zavedením pasterizace. Diskuse zahrnující výhody a nevýhody spojené se spotřebou syrového mléka oproti pasterizovanému nebo zahřátému mléku trvají již několik desetiletí (Lucey 2015).

Jedním z tradičně uváděných přínosů konzumace syrového mléka je snížený výskyt nesnášenlivosti laktózy a příjem probiotik. Tato tvrzení však nemají vědecký základ. Konzumace mléka je možná, když je dojené zvíře zdravé a jsou-li přísně dodržována všechna hygienická opatření, aby nedošlo ke kontaminaci mléka (Lucey 2015). V minulosti obhájci syrového mléka předložili několik argumentů, z nichž hlavní je, že syrové mléko je z hlediska výživy lepší než mléko tepelně zpracovaného v důsledku denaturace prospěšných tepelně labilních složek, především antimikrobiálních látek, které mají bakteriocidní a bakteriostatické vlastnosti (Lucey 2015).

Existují důkazy, že tepelné zpracování syrového mléka negativně ovlivňuje jeho imunomodulační účinek na základě studií *in vitro* (McCarthy et al. 2015). Dále existují epidemiologické důkazy naznačující zdravotní přínosy spojené se spotřebou syrového mléka. „GABRIELA“ byla celoevropská epidemiologická studie, která uváděla inverzní vztah mezi konzumací syrového mléka a výskytem astmatu (Loss et al. 2011).

Děti konzumující syrové mléko z farem mají během dětství menší pravděpodobnost propuknutí astmatu, vzniku alergií a ekzémů, jelikož syrové mléko má lepší imunomodulační efekt (Waser et al. 2007; Brick et al. 2020).

Výsledky dalších epidemiologických studií již před několika lety ukázaly, že kojenci, kteří dostávají syrové kravské mléko, po odstavení kojení mateřským mlékem, v prvním roce života, měli nižší šanci propuknutí infekcí dýchacích cest a zánětu středního ucha, ve srovnání s kojenci, kteří dostávali mléko ošetřené technologií UHT (Loss et al. 2011). V syrovém mléce se vyskutují IgG, kdežto při zpracování mléka UHT dochází k jejich denaturaci a tvorbě komplexů IgG s dalšími syrovátkovými proteiny (Bogahawaththa et al. 2017).

Studie Mléko proti infekcím dýchacích cest a astmatu, v originálním znění Milk Against Respiratory Tract Infections and Asthma (MARTHA), v současné době testuje ochranný účinek mikrobiologicky bezpečného, minimálně zpracovaného kravského mléka proti standardnímu, teplem ošetřenému mléku u dětí od 6 měsíců do 3 let s primárním výsledkem diagnostiky astmatu do 5 let věku (Brick et al. 2020).

Obliba syrového mléka je výrazně spojena se současným trendem konzumace přírodních produktů z lokálních zdrojů (Jay-Russell 2010; Claeys et al. 2013). Jeho zastánci propagují syrové mléko pro jeho lepší chuť a domnělé přínosy pro zdraví. Také se opírají o podporu malých mlékáren a místního zemědělství (Jay-Russell 2010).

V tomto ohledu bývá zdůrazňováno mnoho zdravotních výhod plynoucích ze spotřeby syrového mléka, které se týkají jeho zlepšené nutriční kvality, od mléka, které nebylo podrobeno tepelnému zpracování. Pravdou je, že tepelné zpracování mléka pasterizačními teplotami nemá významný vliv na jeho nutriční kvalitu (Lucey 2015). I tak je nemalá část veřejnosti přesvědčena, že proces zahřívání zásadně redukuje nutriční složky, snižuje zdravotní přínosy mléka a může dokonce vyvolat škodlivé účinky (Claeys et al. 2013).

Jiné studie uvádějí, že syrové mléko je zdravé díky přítomnosti probiotik, tedy tělu prospěšných střevních bakterií. Probiotika jsou definována jako živé mikroorganismy, které, pokud jsou podávány v dostatečném množství, přinášejí hostiteli zdravotní užitek (Hill et al. 2014). Některé BMK jsou považovány za probiotika. Klíčové probiotické bakterie jako *Bifidobacteria* nebo *Lactobacillus acidophilus* jsou však v syrovém mléku přítomny pouze v nízkém množství. Aby bylo dosaženo příznivého účinku, musí být probiotika požitá ve velkém množství, aby přežila střevní tranzit. Ve skutečnosti musí být přijaté množství, pokud má být účinné, 1000 až 10 000 krát vyšší než množství skutečně přítomné v syrovém mléce (Griffiths 2010).

Naopak bifidobakterie semohou vyskytovat ve velkém počtu v gastrointestinálním traktu krav a lidí a jejich přítomnost v syrovém mléce byla použita jako možný indikátor fekální kontaminace (Beerens et al. 2000).

### **3.9 Zdravotní rizika spojená s konzumací syrového mléka**

Mikrobiální složení mléka může mít negativní důsledky na lidské zdraví. Konzumace syrového mléka kontaminovaného patogeny může vést v některých případech k vážným infekčním onemocněním (Peutherer et al. 1999; Oliver et al. 2009; Hou et al. 2015). Vývoj nemoci po konzumaci kontaminovaných mléčných výrobků ze syrového mléka závisí na několika faktorech: 1. na patogenitě kmene, 2. na počtu požitých mikroorganismů, 3. na fyziologickém stavu mikroorganismů, 4. na zdravotním stavu spotřebitele v okamžiku požití (Verraes et al. 2015). Kontaminaci mléka spojují následující faktory: 1. spotřeba kontaminovaného syrového mléka, 2. nedostatečná pasterizace mléka, 3. spotřeba mléčných výrobků smíšených s kontaminovaným syrovým mlékem (Oliver et al. 2005; Perin et al. 2019).

Odborníci tvrdí téměř jednomyslně, aby varovali spotřebitele, zemědělce a maloobchody, kteří prodávají syrové nepasterované produkty, že jejich konzumace přináší významná zdravotní rizika. Tato rizika jsou dobře zdokumentována a zahrnují četná propuknutí nemocí z potravin a nemocí spojených se spotřebou kontaminovaného syrového mléka nebo výrobků z mléka, které neprošlo pasterizací (Jay-Russell 2010).

Z odborného pohledu však bylo jasně prokázáno, že syrové mléko, díky své vysoké nutriční hodnotě spolu s neutrálním pH a vysokou vodní aktivitou, slouží jako vynikající růstové médium pro různé mikroorganismy. K zajištění mikrobiální bezpečnosti a prodloužení doby skladování se proto mléko tepelně upravuje. Mléko je i po tepelné úpravě vhodné růstové médium, je proto nutné zabránit jeho možné rekontaminaci (Claeys et al. 2013). Proces tepelné úpravy představuje nejúčinnější způsob zvyšování mikrobiologické bezpečnosti mléka. Naopak nadměrná konzumace mléka, které není pasterizováno, zvyšuje riziko nakažení chorobami z potravin (LeJeune & Rajala-Schultz 2009; Langer et al. 2012; Quigley et al. 2013).

Ze syrového kravského mléka lze izolovat mnoho mikroorganismů, které jsou nebo mohou být pro člověka patogenní. Kultivační stanovení patogenů v mléce tak může trvat několik dnů. Proto bývá obtížné určit bezpečnost syrového mléka předtím, než se dostane ke spotřebiteli (Lucey 2015).

Prevalence potravinářských patogenů se v syrovém kravském mléce liší, ale jejich přítomnost byla prokázána v mnoha průzkumech a infekce způsobené potravinami byly opakovaně hlášeny u patogenů *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp.



a *Escherichia coli* (Mead et al. 1999; Langer et al. 2012; Claeys et al. 2013). Tyto bakterie mohou pocházet i z klinicky zdravých zvířat, od nichž se mléko získává, nebo z kontaminace životního prostředí, ke které dochází při odběru či během skladování mléka (LeJeune & Rajala-Schultz 2009; Lucey 2015). Snížená četnost přepravy některých zoonotických patogenů (způsobující infekce přenosné mezi zvířaty) u skotu a zlepšená hygiena dojení sice významně přispěly ke snížené kontaminaci mléka, nicméně i tak není zcela vyloučena (LeJeune & Rajala-Schultz 2009).

Jsou zaznamenány epidemiologické zprávy o ohniscích nákazy vyvolaných potravinami v důsledku konzumace syrového mléka infikovaného potenciálními patogeny (Oliver et al. 2009). *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* způsobuje Johnovu chorobu u přežvýkavců a může přispět k Crohnově chorobě u lidí (Lund et al. 2002). Její identifikace ve vysoké koncentraci v mléce naznačuje, že požití syrového mléka představuje potenciální zdravotní riziko (Favila-Humara et al. 2010). Infekce *Campylobacter*, která byla zaznamenána u dospělých lidí v Maďarsku a u dětí v Nizozemsku, vzniká v důsledku konzumace fekálně kontaminovaného mléka, o čemž svědčí přítomnost *C. jejuni* v rektálních výtěrech krav (Kálmán et al. 2000; Heuvelink et al. 2009).

Pokroky v živočišné výrobě, zpracování potravin, hygieně a chlazení vedly k odstranění několika nemocí přenášených potravinami. V posledních třiceti letech se však jako významné příčiny morbidity a úmrtnosti lidí objevilo několik bakteriálních infekcí způsobených potravinami, včetně infekce *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes* a kmene *Escherichia coli*. Odhaduje se, že každý rok onemocní v důsledku konzumace kontaminovaných potravin 76 milionů Američanů (Mead et al. 1999).

Kromě přítomnosti patogenních bakterií v syrovém mléku byl zvýšen zájem o studie vazeb mezi syrovým mlékem a virem bovinní leukémie (BLV). Jedná se o retrovirus, jehož výskyt je u krav běžný, avšak u přibližně 5 % infikovaných krav vyvolá rakovinné bujení. Existují důkazy, že BLV se může také přenášet na člověka, kdy konzumace syrového mléka může být hlavní cestou přenosu. BLV u člověka má potenciální souvislost se vznikem karcinomu prsu u žen (Buehring et al. 2015; Lu & Wang 2017).

Navzdory množství publikovaných vědecky doložitelných faktů podporujících účinnost pasterizace existuje sice malá, ale hlasitá část populace, která si nadále přeje konzumovat syrové mléčné výrobky. Namísto zákazů mohou být lepšími přístupy k ochraně veřejnosti před konzumací kontaminovaného syrového mléka racionální regulační normy a opakované vzdělávání spotřebitelů (Jay-Russell 2010).

## 4 Závěr

Mléko, syrové nebo pasterizované, je vysoce výživnou potravinou a dobrým zdrojem bílkovin, minerálů a lipidů, zvláště důležitých pro dětskou populaci.

Bez ohledu na vědecká fakta uvedená v této rešerši, je obliba a konzumace lokálních potravin a podpora čerstvých, tepelně neupravených produktů včetně nepasterizovaného mléka trvajícím trendem u části veřejnosti. Zastánci tzv. “raw stravy“ tvrdí, že absence tepelné úpravy mléka je spojena s větším obsahem živin, především bílkovin a vitaminů v porovnání s mlékem, které prošlo tepelnou úpravou.

Odborníci na výživu naopak preferují konzumaci pasterizovaného mléka. Z pohledu ověřitelných faktů totiž ztráta živin v pasterizovaném mléce nezpůsobuje výraznější rozdíly v porovnání s nepasterizovaným mlékem. Zcela minimální je ztráta vitaminů rozpustných v tucích a minerálních látek. Větší rozdíl byl zaznamenán pouze u vitamínu C, mléko však není jeho bohatým zdrojem.

Nepasterizované mléko obsahuje řadu patogenních mikroorganismů, které se v důsledku absence tepelného ošetření mohou v mléce vyskytovat. Mezi tyto patogeny patří: *Bacillus cereus*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, enterotoxin produkující *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Clostridium botulinum*, *Brucella* spp., *Mycobacterium bovis*, *Cryptosporidium parvum*, *Toxoplasma gondii* a mnohé další. Konzumace syrového, tepelně neupraveného mléka kontaminovaného těmito patogeny může vést v některých případech k zažívacím obtížím, průjmům, zvracení, ale i k vážným onemocněním s nutností hospitalizace.

Další vědecká zkoumání v této oblasti budou nepochybně pokračovat. V současné době však zůstává tepelné zpracování nejčastěji používaným a účinným způsobem zvýšení mikrobiologické bezpečnosti mléka, aniž by se podstatně změnila jeho nutriční hodnota. Podle aktuálních vědeckých poznatků je možné zodpovědně konstatovat, že konzumace syrového mléka představuje zbytečné zdravotní riziko, zejména pro starší osoby a pro jedince s oslabeným imunitním systémem.

Závěrem je možné shrnout, že rizika konzumace nepasterizovaného mléka převažují nad jeho potenciálními přínosy.

## 5 Literatura

Al-Attabi Z, D'Arcy BR, Deeth HC. 2008. Volatile Sulphur Compounds in UHT Milk. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **49**(1):28-47.

Anděl M. 2017. Vysokoproteinové mléčné výrobky. Pages 4-7 in Krejsek J, editor. *Mléko a mléčné výrobky ve výživě II*. Potravinářská komora ČR a Česká technologická platforma pro potraviny. Praha.

Anema SG, Li Y. 2003. Effect of pH on the Association of Denatured Whey Proteins with Casein Micelles in Heated Reconstituted Skim Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **51**(6):1640-1646.

Atkins NP. 1978. Principles of Curriculum Development Applied to Health Education. *Journal of School Health*. **48**(4):209-212.

Bahna SL. 2002. Cow's milk allergy versus cow milk intolerance. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. **89**(6):56-60.

Beerens H, Hass Brac De La Perriere B, Gavini F. 2000. Evaluation of the hygienic quality of raw milk based on the presence of bifidobacteria: the cow as a source of faecal contamination. *International Journal of Food Microbiology*. **54**(3):163-169.

Bogahawaththa D, Chandrapala J, Vasiljevic T. 2017. Thermal denaturation of bovine immunoglobulin G and its association with other whey proteins. *Food Hydrocolloids*. **72**:350-357.

Brick T, Hettinga K, Kirchner B, Pfaffl MW, Ege MJ. 2020. The Beneficial Effect of Farm Milk Consumption on Asthma, Allergies, and Infections: From Meta-Analysis of Evidence to Clinical Trial. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*. **8**(3):878-889.e3.

Broadbent JR, Cai H, Larsen RL, et al. 2011. Genetic diversity in proteolytic enzymes and amino acid metabolism among *Lactobacillus helveticus* strains. *Journal of Dairy Science*. **94**(9):4313-432.

Buehring GC, Shen HM, Jensen HM, Jin DL, Hudes M, Block G, Meyers C. 2015. Exposure to Bovine Leukemia Virus Is Associated with Breast Cancer: A Case-Control Study. *PLOS ONE*. **10**(9). DOI: 10.1371/journal.pone.0134304.

Claeys WL, Cardoen S, Daube G, et al. 2013. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food Control*. **31**(1):251-262.

Coelho AI, Berry GT, Rubio-Gozalbo ME. 2015. Galactose metabolism and health. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. **18**(4):422-427.

Collier RJ, Bauman DE. 2014. Update on human health concerns of recombinant bovine somatotropin use in dairy cows. *Journal of Animal Science*. **92**(4):1800-1807.

Cotter PD, Hill C, Ross RP. 2005. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*. **3**(10):777-788.

Davoodi H, Esmaeili S, Mortazavian AM. 2013. Effects of Milk and Milk Products Consumption on Cancer: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. **12**(3):249-264.

Deeth HC. 2011. Milk Lipids | Lipolysis and Hydrolytic Rancidity. Pages 721-726 in Fuquay JW, editor. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Mississippi State University, Mississippi State, USA.

Delavenne E, Mounier J, Asmani K, Jany JL, Barbier G, Le Blay G. 2011. Fungal diversity in cow, goat and ewe milk. *International Journal of Food Microbiology*. **151**(2):247-251.

Dougkas A, Barr S, Reddy S, Summerbell CD. 2019. A critical review of the role of milk and other dairy products in the development of obesity in children and adolescents. *Nutrition Research Reviews*. **32**(1):106-127.

Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. 1997. Food microbiology: fundamentals and frontiers. Amer Society for Microbiology, Washington, DC.

Drbohlav J, Vodičková M. 2001. Tabulky látkového složení mléka a mléčných výrobků. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha.

Driehuis F. 2013. Silage and the safety and quality of dairy foods: a review. *Agricultural and Food Science*. **22**(1):16-34.

Ebina T, Umezu K, Ohyama S, et al. 1983. Prevention of rotavirus infection by cow colostrum containing antibody against human rotavirus. *The Lancet*. **322**(8357):1029-1030.

Ebringer L, Ferenčík M, Krajčovič J. 2008. Beneficial health effects of milk and fermented dairy products — Review. *Folia Microbiologica*. **53**(5):378-394.

Favila-Humara LC, Chávez-Gris GG, Carrillo-Casas EM, Hernández-Castro R, 2010. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Detection in Individual and Bulk Tank Milk Samples from Bovine Herds and Caprine Flocks. *Foodborne Pathogens and Disease*. **7**(4):351-355.

Fernandes R. 2009. *Microbiology Handbook*. Royal Society of Chemistry, Cambridge

Fontecha J, Calvo MV, Juarez M, Gil A, Martínez-Vizcaino V. 2019. Milk and Dairy Product Consumption and Cardiovascular Diseases: An Overview of Systematic Reviews and Meta-Analyses. *Advances in Nutrition*. **10**(suppl\_2):164-189.

Forssén KM, Jägerstad MI, Wigertz K, Withhöft CM. 2000. Foliates and Dairy Products: A Critical Update. *Journal of the American College of Nutrition*. **19**(sup2):100-110.

Fox PF, Kelly AL. 2012. Chemistry and Biochemistry of Milk Constituents. Pages 442-464 in Simpson BK, editor. *Food Biochemistry and Food Processing*. Wiley-Blackwell, Oxford UK.

Fox PF, McSweeney PLH. 2006. *Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids*. Springer US, Boston.

Gajdůšek S. 2003. *Laktologie*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno.

Gaucheron F. 2011. Milk and Dairy Products: A Unique Micronutrient Combination. *Journal of the American College of Nutrition*. **30**(sup5):400-409.

Griffiths M. 2010. *Improving the safety and quality of milk*. Woodhead Publishing Limited, Boca Raton.

Hantsis-Zacharov E, Halpern M. 2007. Culturable Psychrotrophic Bacterial Communities in Raw Milk and Their Proteolytic and Lipolytic Traits. *Applied and Environmental Microbiology*. **73**(22):7162-7168.

Hasan F, Shah AA, Hameed A. 2006. Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*. **39**(2):235-251.

Haug A, Høstmark AT, Harstad OM. 2007. Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids in Health and Disease*. **6**(1). DOI: 10.1186/1476-511X-6-25.

Herve-Jimenez L, Guillouard I, Guedon E, Boudebbouze S, Hols P, Monnet V, Maguin E, Rul F. 2009. Postgenomic Analysis of *Streptococcus thermophilus* Cocultivated in Milk with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgarius*: Involvement of Nitrogen, Purine, and Iron Metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*. **75**(7):2062-2073.

Heuvelink AE, Van Heerwaarden C, Zwartkruis-Nahuis A, et al. 2009. Two outbreaks of campylobacteriosis associated with the consumption of raw cows' milk. *International Journal of Food Microbiology*. **134**(1-2):70-74.

Hill C, Guarner F, Reid G, et al. 2014. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. **11**(8):506-514.

Hou Q, Xu H, Zheng Y, Xi X, Kwok LY, Sun Z, Zhang H, Zhang W. 2015. Evaluation of bacterial contamination in raw milk, ultra-high temperature milk and infant formula using single molecule, real-time sequencing technology. *Journal of Dairy Science*. **98**(12):8464-8472.

Hugenholtz J, Starrenburg MJC. 1992. Diacetyl production by different strains of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* and *Leuconostoc* spp. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **38**(1). DOI: 10.1007/BF00169412.

Hurley WL, Theil PK. 2011. Perspectives on Immunoglobulins in Colostrum and Milk. *Nutrients*. **3**(4):442-474.

Insel PM, Turner RE, Ross D. 2003. *Discovering nutrition*. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury.

Insel PM, Turner RE, Ross D. 2004. *Nutrition* (2nd ed). American dietetic association. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury.

Jay-Russell MT. 2010. Raw (Unpasteurized) Milk: Are Health-Conscious Consumers Making an Unhealthy Choice? *Clinical Infectious Diseases*. **51**(12):1418-1419.

Jeyaraman MM, Abou-Setta AM, Grant L, et al. 2019. Dairy product consumption and development of cancer: an overview of reviews. *BMJ Open*. **9**(1). DOI: 10.1136/bmjopen-2018-023625.

Kadlec P, Melzoch K, Voldřich M. 2009. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin*. Key Publishing, Ostrava.

Kálmán M, Szöllösi E, Czermann B, Zimányi M, Szekeres S. 2000. Milkborne *Campylobacter* Infection in Hungary. *Journal of Food Protection*. **63**(10):1426-1429.

Kopáček J. 2017. Laktózová intolerance, její příčiny, příznaky a nutriční řešení. Pages 34-43 in Krejsek J, editor. *Mléko a mléčné výrobky ve výživě II*. Potravinářská komora ČR a Česká technologická platforma pro potraviny, Praha.

Korhonen H, Pihlanto A. 2007. Technological Options for the Production of Health-Promoting Proteins and Peptides Derived from Milk and Colostrum. *Current Pharmaceutical Design*. **13**(8):829-843.

Kvapilík J, Syruček J. 2019. Vývoj a perspektivy výroby mlékave světě. Pages 90-94 in *Náš chov*, roč. 79, č. 2.

Lane MM, Morrissey JP. 2010. *Kluyveromyces marxianus*: A yeast emerging from its sister's shadow. *Fungal Biology Reviews*. **24**(1-2):17-26.

Langer AJ, Ayers T, Grass J, Lynch M, Angulo FJ, Mahon BE. 2012. Nonpasteurized Dairy Products, Disease Outbreaks, and State Laws—United States, 1993–2006. *Emerging Infectious Diseases*. **18**(3):385-391.

Lavoie K, Touchette M, St-Gelais D, Labrie S. 2012. Characterization of the fungal microflora in raw milk and specialty cheeses of the province of Quebec. *Dairy Science & Technology*. **92**(5):455-468.

Lee B, Szilagyí A. 2012. Lactose: Uses in Industry and Biomedical Importance Lactose a Functional Disaccharide. Pages 806-820 in Preedy VR, editor. *Dietary Sugars*. Royal Society of Chemistry, Cambridge.

Lejeune JT, Rajala-Schultz PJ. 2009. Unpasteurized Milk: A Continued Public Health Threat. *Clinical Infectious Diseases*. **48**(1):93-100.

Lönnerdal B, Iyer S. 1995. Lactoferrin: Molecular Structure and Biological Function. *Annual Review of Nutrition*. **15**(1):93-110.

Lönnerdal B. 2013. Bioactive proteins in breast milk. *Journal of Paediatrics and Child Health*. **49**:1-7.

Lopez CH, Madec MN, Jimenez-Flores R. 2010. Lipid rafts in the bovine milk fat globule membrane revealed by the lateral segregation of phospholipids and heterogeneous distribution of glycoproteins. *Food Chemistry*. **120**(1):22-33.



Loss G, Aprich S, Waser M, et al. 2011. The protective effect of farm milk consumption on childhood asthma and atopy: The GABRIELA study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. **128**(4):766-773.

Louie JCY, Flood VM, Hector DJ, Rangan AM, Gill TP. 2011. Dairy consumption and overweight and obesity: a systematic review of prospective cohort studies. *Obesity Reviews*. **12**(7):582-592.

Lu M, Wang NS. 2017. Spoilage of Milk and Dairy Products. Pages 151-178 in Bevilacqua A, Corbo MR, Sinigaglia M, editors. *The Microbiological Quality of Food Foodborne spoilage*. Elsevier.

Lucey JA. 2015. Raw Milk Consumption. *Nutrition Today*. **50**(4):189-193.

Lund BM, Gould GW, Rampling AM. 2002. Pasteurization of milk and the heat resistance of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: a critical review of the data. *International Journal of Food Microbiology*. **77**(1-2):135-145.

Maier RM, Pepper IL. 2015. Bacterial Growth. Pages 37-56 in Pepper IL, Gerba ChP, Gentry TJ, editors. *Environmental Microbiology*. Elsevier.

McCarthy RJ, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. 2015. The immunological consequences of pasteurisation: Comparison of the response of human intestinally-derived cells to raw versus pasteurised milk. *International Dairy Journal*. **40**:67-72.

McGann T, Buchheim W, Kearney R, Richardson T. 1983. Composition and ultrastructure of calcium phosphate-citrate complexes in bovine milk systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. **760**(3):415-420.

Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. 1999. Food-Related Illness and Death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*. **5**(5):607-625.

Meisel H. 1998. Overview on Milk Protein-derived Peptides. *International Dairy Journal*. **8**(5-6):363-373.

Ministerstvo zemědělství. 2019. Vyhláška č. 274/2019 Sb. ze dne 25. října 2019. Vyhláška o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. Pages 2795-2801 in *Sbírka zákonů České republiky, 2019, Částka 119. Česká republika*. Available from <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2019-274> (accessed July 2020).

Monaci L, Tregoe V, Van Hengel AJ, Anklam E. 2006. Milk allergens, their characteristics and their detection in food: A review. *European Food Research and Technology*. **223**(2):149-179.

Oliver SP, Jayarao BM, Almeida RA. 2005. Foodborne Pathogens in Milk and the Dairy Farm Environment: Food Safety and Public Health Implications. *Foodborne Pathogens and Disease*. **2**(2):115-129.

Oliver SP, Boor KJ, Murphy SC, Murinda SE. 2009. Food Safety Hazards Associated with Consumption of Raw Milk. *Foodborne Pathogens and Disease*. **6**(7):793-806.

Ott A, Germond JE, Chaintreau A. 2000. Origin of Acetaldehyde during Milk Fermentation Using <sup>13</sup>C-Labeled Precursors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48**(5):1512-1517.

Park YW. 2009. *Bioactive components in milk and dairy products*. Wiley-Blackwell, Iowa.

Park YW, Juárez M, Ramos M, Haenlein GFW. 2007. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. **68**(1-2):88-113.

Pereira PC. 2014. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*. **30**(6):619-627.

Perin LM, Pereira JG, Bersot LS, Nero LA. 2019. The Microbiology of Raw Milk. Pages 45-64 in Nero LA, Fernandes De Cavalho A, editors. *Raw Milk Balance Between Hazards and Benefits*. Elsevier.

Peutherer JF, Slack RCB, Greenwood D. 1999. Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie. Vydání 1. Grada, Praha.

Price TD. 2000. Europe's first farmers. Cambridge University press, New York.

Qi PX, Rend D, Xiao Y, Tomasula PM. 2015. Effect of homogenization and pasteurization on the structure and stability of whey protein in milk. *Journal of Dairy Science*. **98**(5):2884-2897.

Quigley L, O'Sullivan O, Stanton C, Beresford TP, Ross RP, Fitzgerald GF, Cotter PD. 2013. The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews*. **37**(5):664-698.

Rollinger M. 2007. Milch besser nicht. JOU-Verlag, Německo.

Rump JA, Arndt R, Arnold A, et al. 1992. Treatment of diarrhoea in human immunodeficiency virus-infected patients with immunoglobulins from bovine colostrum. *The Clinical Investigator*. **70**(7). DOI: 10.1007/BF00184800.

Sharma R, Rajput YS 2014. Rapid methods for assessing efficiency of heat treatment of milk. *Journal of Food Science and Technology*. **51**(7):1416-1420.

Singh H, Flynn A, Fox PF. 1989. Binding of zinc to bovine and human milk proteins. *Journal of Dairy Research*. **56**(2):235-248.

Státní veterinární správa, 2019. Zpráva o činnosti v oblasti ochrany zdraví zvířat v roce 2018, 2019. Informační bulletin č. 2/2019. Státní veterinární správa. Available from <https://www.svscr.cz/wp-content/files/dokumenty-a-publikace/ib1902.pdf> (accessed January 2020).

Stelwagen K, Carpenter E, Haigh B, Hodgkinson A, Wheeler TT. 2009. Immune components of bovine colostrum and milk1. *Journal of Animal Science*. **87**(suppl\_13):3-9.

Suchy FJ. 2010. National Institutes of Health Consensus Development Conference: Lactose Intolerance and Health. *Annals of Internal Medicine*. **152**(12). DOI: 10.7326/0003-4819-152-12-201006150-00248.

Szilagyi A. 2019. Digestion, absorption, metabolism, and physiological effects of lactose. Pages 49-111 in Paques M, Lindner C, editors. *Lactose Evolutionary Role, Health Effects, and Applications*. Academic Press.

Tavano OL. 2013. Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. **90**:1-11.

Theon CH, Lobue P, Kantor I. 2006. The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis. *Veterinary Microbiology*. **112**(2-4):339-345.

Thompson A, Boland M, Singh H. 2009. *Milk proteins: from expression to food*. Massey University New Zealand: Elsevier, New Zealand.

Ulfman LH, Leusen JHW, Savelkoul HFJ, Warner JO, Van Neerven RJJ. 2018. Effects of Bovine Immunoglobulins on Immune Function, Allergy, and Infection. *Frontiers in Nutrition*. **5**. DOI: 10.3389/fnut.2018.

Van Den Tempel T, Jakobsen M. 2000. The technological characteristics of *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* and their potential as starter cultures for production of Danablu. *International Dairy Journal*. **10**(4):263-270.

Van Hooijdonk ACM, Kussendrager KD, Steijns JM. 2000. In vivo antimicrobial and antiviral activity of components in bovine milk and colostrum involved in non-specific defence. *British Journal of Nutrition*. **84**(S1):127-134.

Verraes C, Vlaemynck G, Van Weyenberg S, De Zutter L, Daube G, Sindic M, Uyttendaele M, Herman L. 2015. A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk. *International Dairy Journal*. **50**:32-44.

Walstra P, Wouters JTM, Geurts TJ. 2006. Dairy science and technology. 2nd ed. CRC/Taylor & Francis, Boca Raton.

Waser M, Michels KB, Bieli C, et al. 2007. Inverse association of farm milk consumption with asthma and allergy in rural and suburban populations across Europe. *Clinical & Experimental Allergy*. **37**(5):661-670.

Wolfson LM, Sumner SS. 1993. Antibacterial Activity of the Lactoperoxidase System: A Review. *Journal of Food Protection*. **56**(10):887-892.

Wouters JTM, Ayad EHE, Hugenholtz J, Smit G. 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*. **12**(2-3):91-109.

Xiong L, Li CH, Boeren S, Vervoort J, Hettinga K. 2020. Effect of heat treatment on bacteriostatic activity and protein profile of bovine whey proteins. *Food Research International*. **127**. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108688.

Yildirim N, Genc S. 2015. Thermodynamic analysis of a milk pasteurization process assisted by geothermal energy. *Energy*. **90**:987-996.



