

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE

FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA

1126147

**Polymorfizmus bovinného kappa-kazeínu a jeho vzťah k produkcii
mlieka a syriteľnosti**

Nitra 2010

Jaroslava Ďurove

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE

FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA

**Polymorfizmus bovinného kappa-kazeínu a jeho vzťah k produkcii
mlieka a syriteľnosti**

Bakalárska práca

Študijný program: Agropotravinárstvo

Študijný odbor: 6.1.13 spracovanie poľnohospodárskych produktov

Školiace pracovisko: Katedra genetiky a plemenárskej biológie

Školiteľ: Ing. Martina Miluchová, PhD.

Nitra 2010

Jaroslava Ďurove

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE

FAKULTA AGROBIOLÓGIE A POTRAVINOVÝCH ZDROJOV

Katedra genetiky a plemenárskej biológie

Akademický rok: 2009/2010

ZADÁVACÍ PROTOKOL BAKALÁRSKEJ PRÁCE

Študentka: Jaroslava Ďurove
Študijný program: Agropotravinárstvo

V zmysle 3. časti, čl. 21 Študijného poriadku FAPZ SPU v Nitre z roku 2004 Vám zadávam tému bakalárskej práce: Polymorfizmus bovinneho kappa-kazeínu a jeho vzťah k produkcii mlieka a syriteľnosti.

Cieľ bakalárskej práce:

Na základe poznatkov z odbornej literatúry vypracovať štúdiu o význame mlieka ako potravine a jeho zložení. Zamerať sa na κ -kazeín a jeho vzťah k produkcii mlieka a syriteľnosti.

Rámcová metodika práce:

- štúdium podkladov pre definovanie mliečnych proteínov,
- definovanie genetického polymorfizmu κ -kazeínu so zameraním na vzťah genetických variantov κ -kazeínu k produkcii mlieka a syriteľnosti.

Rozsah grafických prác: 6 tabuliek
Rozsah textovej časti: 35 strán textu

Literatúra:

MILUCHOVÁ, M. - TRAKOVICKÁ, A. - GÁBOR, M., 2009. Genetické markéry kvality mlieka a zdravia hovädzieho dobytku. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2009. s. 6-12. ISBN 978-80-552-0281-5.

Vedúci záverečnej práce: Ing. Martina Miluchová, PhD.

Dátum zadania záverečnej práce: akademický rok 2008/2009

Harmonogram riešenia práce:

03/09 – 12/09 Teoretická príprava na riešenie bakalárskej práce, sústred'ovanie a spracovanie odbornej literatúry z danej oblasti.

01/10 – 05/10 Spracovanie rukopisu záverečnej práce.

Dátum odovzdania záverečnej práce: 21.05.2010

doc. Ing. Juraj Candrák, PhD.

Vedúci katedry

prof. Ing. Daniel Bíro, PhD.

Dekan

ABSTRAKT

V našej práci sme sa snažili objasniť hlavné funkcie mlieka vo výžive ľudí a jeho zloženie. Popísali sme vo všeobecnosti jednotlivé zložky mlieka, medzi ktorými sa nachádzajú aj mliečne proteíny. Pri mliečnych proteínoch sme charakterizovali rozdiely medzi srvátkovými proteínmi a kazeínmi, kde je viditeľný rozdiel hlavne z hľadiska funkcie. Venovali sme sa najmä tematike bovinného κ -kazeínu a jeho polymorfizmu, kde sme objasnili rozdiely medzi jednotlivými variantmi tohto mliečneho proteínu. Snažili sme sa získať informácie o jednotlivých genotypoch a ich vplyvu k mliekovej produkcii a syriteľnosti. Zo získaných informácií o jednotlivých genotypoch si dovoľujeme tvrdiť, že najvýznamnejší je genotyp BB, ktorý sa vyskytuje u plemien ako napríklad normanský dobytok, holšajnský dobytok alebo české strakaté.

Kľúčové slová: κ -kazeín, mlieková produkcia, syriteľnosť, mliečne proteíny

ABSTRAKT

In our thesis we tried to clarify functions of milk in human nutrition and chemical composition of milk. Generally we describe individual components of milk among which are the milk proteins. We characterized the differences between whey proteins and caseins, which is especially visible difference in terms of function. We pay particular theme of bovine κ -casein and its polymorphism, where we explain the differences between the variants of milk protein. We tried to get information on individual genotypes and their impact on dairy production and coagulation properties. From the information on the individual genotypes we would like to say that the most important is the BB genotype, which is found in breeds such as the Channel livestock or livestock Holstein Czech spotted.

Key words: κ -casein, production of milk, coagulation properties, proteins of milk

ČESTNÉ VYHLÁSENIE

Podpísaná Jaroslava Ďurove týmto vyhlasujem, že bakalársku prácu na tému *“Polymorfizmus bovinneho kappa-kazeínu a jeho vzťah k produkcii mlieka a syriteľnosti“* som vypracovala samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomá zákonných dôsledkov v prípade, ak hore uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 21.05.2010

.....

POĎAKOVANIE

Touto cestou si dovoľujem poďakovať najmä mojej školiteľke a konzultantke za ústretovosť a trpezlivosť pri spracovaní údajov.

POUŽITÉ OZNAČENIE

Arg – arginín

Asp – kyselina asparágová

BSA – hovädzí sérový albumín

BTS – beztuková sušina

CSN1S1 – α 1-kazeín

CSN1S2 – α 2-kazeín

His – histidín

Ig – imunoglobulín

OVD – odporúčaná výživová dávka

PCR – polymerázová reťazová reakcia

Val – valín

α -La – α -laktalbumín

β -Lg – β -laktoglobulín

ZOZNAM TABULIEK

Tabuľka č.1 Základné zloženie 1 litra kravského mlieka

Tabuľka č.2 Percentuálne zastúpenie bielkovinových zložiek v mlieku

Tabuľka č.3. Heritabilita pre študované vlastnosti

Tabuľka č.4 Odhad genetických korelácií medzi sledovanými vlastnosťami

Tabuľka č.5 Percentuálne zastúpenie genotypu BB u rôznych plemien

Tabuľka č. 6 Niektoré charakteristiky mlieka vzhľadom na genotypy κ -kazeínu

OBSAH

	Úvod	10
1	Cieľ práce	12
2	Metodika práce a metódy skúmania	13
3	Výsledky práce – štúdia o súčasnom stave riešenej problematiky doma a v zahraničí	14
3.1	Mlieko cicavcov – význam, zloženie	14
3.1.1	Zloženie mlieka	15
3.1.1.1	Mliečny tuk	17
3.1.1.2	Vitamíny	17
3.1.1.3	Sacharidy	18
3.1.1.4	Proteíny	18
3.2	Základné členenie mliečnych proteínov	20
3.2.1	Srvátkové proteíny	20
3.2.2	Kazeíny	21
3.2.2.1	Vlastnosti kazeínu	22
3.3	κ -kazeín	23
3.3.1	Genetický polymorfizmus a polymorfizmus κ -kazeínu	23
3.3.1.1	Variant A a B	24
3.3.1.2	Variant C a E	24
3.3.1.3	Variant F	25
3.3.2	Syrenie mlieka	25
3.3.3	Vzťah κ – kazeínu k syriteľnosti	26
3.3.4	Vzťah κ -kazeínu k mliekovej úžitkovosti	28
4	Záver	30
5	Použitá literatúra	31

ÚVOD

Neoddeliteľnou súčasťou živočíšnej výroby je genetika a vedecké poznatky o premenlivosti živých organizmov. Genetika vytvára teoretický základ štúdia zootechnikov. Na základe tohto môžeme povedať, že tvorí aj základ ostatných biologických disciplín. Jej poznatky sú využívané nielen pri výrobe potravín (perspektívne pomocou biotechnológií a mikroorganizmov), ale umožňuje zachovať genofond zvierat aj zdravý genofond ľudstva.

Jedným z mnohých odvetví genetiky je aj fenogenetika, ktorá pomáha skúmať cestu realizácie a manifestácie genetickej informácie od génu k fěnu (fěn = dedične podmienený znak, či vlastnosť).

Genóm cicavcov musí hypoteticky obsahovať „mamaliagén“ (gén alebo skupina génov, ktoré svojím účinkom umožňujú vývin mliečnej žľazy) a ďalšie gény oligogénneho alebo polygénneho účinku, ktoré ovplyvňujú množstvo mlieka aj obsah jeho zložiek. Existujú medzidruhové aj medziľemenné rozdiely v množstve vyprodukovaného mlieka a v jeho zložení (obsah bielkovín, tuku, laktózy a ich pomery).

Pri produkcii mlieka a jeho zložiek existuje heterózný efekt a inbrídna depresia.

Vplyvom faktorov, ako sú napríklad odchov jalovíc, výživa a ošetrovanie počas laktácie, nastávajú zmeny v kvalitatívnej a kvantitatívnej produkcii mlieka, čo je dôležité zohľadňovať pri importe pri medziľemennom krížení (Kúbek et al., 2000).

V súčasnosti je situácia okolo mlieka problémová. Minulý rok sa cena mlieka pohybovala na úrovni 0,36 – 0,40 € za liter mlieka, v súčasnosti sa pohybuje cena okolo 0,16 €, dokonca v niektorých mliekárňach klesla pod 0,16 €. Toto mlieko je plnotučné, ktoré má 4% tuku a 3% bielkovín. Avšak v obchode sa dá dostať aj plnotučné mlieko s 3,6% tuku a 3% bielkovín, pričom mlieko je tepelne spracované, teda je bez možnosti spracovania na kyslé mlieko, tvaroh alebo smotanu.

Ceny nešli dole iba na Slovensku, ale v rámci celej únie. V únii sme, čo sa týka nákupnej ceny surového kravského mlieka, na predposlednom mieste, čiže pred nami je 28 štátov.

Ministerstvo prišlo s možnosťou predaja mlieka „z dvora“, z farmy. Na Slovensku boli zavedené mliečne automaty na predaj čerstvého nepasterizovaného kravského mlieka. Prvý automat bol v Bánovciach nad Bebravou. Automaty majú

úspech, pretože mlieko má smotanu, dá sa z neho urobiť tvaroh, syr, ďalšie mliečne výrobky a pre zdravie je veľmi užitočné (Rusnák, 2009).

1 CIEĽ PRÁCE

Na základe poznatkov z odbornej literatúry vypracovať štúdiu o význame mlieka ako potravine a jeho zložení. Definovanie genetického polymorfizmu mliečnych proteínov, ich vzťah ku kvalite mlieka.

Vzhľadom na šírku problematiky zamerať sa na polymorfizmus κ -kazeínu. Cieľom práce je preto:

- definovať význam mlieka vo výžive
- stručne a prehľadne popísať zloženie mlieka a charakterizovať jednotlivé mliečne proteíny
- popísať genetický polymorfizmus κ -kazeínu
- charakterizovať genetické varianty κ -kazeínu a ich vzťah k produkcii mlieka a syriteľnosti

2 METODIKA PRÁCE A METÓDY SKÚMANIA

Informácie použité k danej problematike boli čerpané z učebných textov, odbornej literatúry a internetových zdrojov.

Spracované informácie sme rozdelili do týchto okruhov:

1. mlieko cicavcov - význam, zloženie
2. základné členenie mliečnych proteínov
3. κ -kazeín – genetický polymorfizmus, vzťah genetických variantov k produkcii mlieka a syriteľnosti

3 VÝSLEDKY PRÁCE – ŠTÚDIA O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY DOMA A V ZAHRANIČÍ

3.1 Mlieko cicavcov – význam, zloženie

Pojmom mlieko rozumieme biologickú tekutinu, ktorá je sekretom mliečnych žliaz rôznych druhov cicavcov (Mair-Waldburg et al., 2003). Je dôležitou súčasťou potravy človeka. Mlieko je prirodzeným zdrojom rôznych látok ako napríklad vápnika, bielkovín alebo esenciálnych mastných kyselín (Miluchová, 2008). Všetky tieto látky a mnohé iné sú nevyhnutné pre správny vývoj organizmu a ľudskú výživu, taktiež pre správnu látkovú výmenu a imunitu človeka. Mlieko obsahuje mnohé látky biochemického pôvodu ako napríklad vitamíny, pričom je dôležitý pomer týchto živín (Bobková et al, 2009). VACOVÁ (1986) súhlasí s názorom a dopĺňa, že mlieko obsahuje aj ľahko stráviteľný tuk a mliečne sacharidy, ktoré sú dôležitým zdrojom energie.

S mliekom ako potravinou sa prvýkrát stretávame hneď po narodení a sprevádza nás po celý život. Vedecké poznatky o výžive umožňujú formulovať potreby výživy vo forme odporúčaných výživových dávok (OVD). V každej krajine sa môžu tieto dávky líšiť. Odporúčané výživové dávky pre obyvateľov SR schvaľuje hlavný hygienik SR. Hlavný hygienik vyhlásil platnosť súčasných OVD v apríli 1997 (VÚM, 2010).

VACOVÁ (1986) zastáva názor, že mlieko ako potravinu si vyžaduje našu pozornosť. Význam mlieka vzrastá aj so širokými možnosťami jeho spracovania na pestrý sortiment výrobkov. Tradičné mliečne výrobky ako konzumné mlieko, tvaroh, maslo sa dopĺňajú mnohými ďalšími výrobkami.

3.1.1 Zloženie mlieka

Základné zloženie 1 litra kravského mlieka je uvedené v tabuľke č.1.

Tabuľka č.1 Základné zloženie 1 litra kravského mlieka (www.spssnv.sk., 2009)

1. voda	860- 880 g
2. látky nachádzajúce sa v emulzii mlieka:	
mliečny tuk ako zmes triacylgliceridov	30 – 45 g
fosfatidy	0,3 g
steríny	0,1 g
glyceridy	0,15 – 0,22 g
vitamíny rozpustné v tukoch:	
vitamín A	0,1 – 0,5 mg
provitamín A (karotén)	0,1 – 0,6 mg
vitamín E	1 mg
vitamín D	0,4 µg
3. látky nachádzajúce sa v koloidnom stave:	
Kazeín:	
α kazeín	28 – 32 g
β kazeín	10,3 g
κ kazeín	9,1 g
albumíny	3,9 g
globulíny	5,2 g
enzýmy	0,58 g
4. látky v pravom roztoku:	
laktóza a ďalšie cukry	47 – 48 g
Katióny:	
vápnik	1,25 g
horčík, sodík, draslík	2,1 g
anióny: fosforečnany, fosfáty, citrany, chloridy...	5,3 g
vitamíny rozpustné vo vode:	
vitamín B1	0,4 mg
vitamín B2	1,3 mg

vitamín B12	7 µg
vitamín B6	0,7 mg
vitamín C	20 mg
nebielkovinové dusíkaté látky	
Plyny	

FOLTYS a KIRCHNEROVÁ (2009) uvádzajú, že podľa normy na surové kravské mlieko STN 390529, by sčítaním minimálneho obsahu tuku a BTS (beztuková sušina) mala byť minimálne $11,8 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, minimálny obsah bielkovín by mal byť $2,8 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Ďalej uvádzajú, že je výhodné podporovať spotrebu mlieka a mliečnych výrobkov na báze bielkovín, pretože zo živočíšnych bielkovín sa z metabolického hľadiska vďaka zloženému žalúdku prežúvavcov a ich schopnosti tráviť pomocou mikrobiologickej fermentácie v bachore vlákninu a zabudovávať aminoskupiny amoniaku do aminokyselín, najracionálnejšie vyrábajú práve bielkoviny mlieka prežúvavcov.

Mliečne bielkoviny zaberajú významné postavenie medzi živočíšnymi bielkovinami i z nutričného hľadiska, pretože majú priaznivé zloženie aminokyselín. V porovnaní s vaječným bielkom majú vyšší obsah lyzínu a tryptofánu. Z hodnôt uvádzaných v norme pre BTS ($8,5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) a základný obsah bielkovín pre speňazovanie mlieka ($3,2 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) vychádza, že minimálny obsah laktózy by mal byť $4,6 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Mliečny cukor - laktóza má význam pre technológiu kyslomliečnych produktov, ktorých výroba spočíva v mikrobiálnej fermentácii laktózy na kyselinu mliečnu. Vznikom kyslého prostredia sa mliečne bielkoviny zrážajú a vytvárajú gélovitú konzistenciu. Norma uvádza min. obsah tuku $3,2 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Na speňazovanie sa ako základná hodnota udáva $3,6 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Nutričná hodnota mliečného tuku spočíva v širokom spektre mastných kyselín, čo mu dodáva charakteristickú chuť, v obsahu esenciálnych mastných kyselín s vyšším počtom konjugovaných nenasýtených násobných väzieb a v tom, že je nositeľom vitamínov rozpustných v tuku, najmä vitamínu A, ktorý pochádza zo zelených krmív. Normou predpísanej BTS je potrebné aby dosahoval minimálne $0,7 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Hodnota BTS bola v priemere $8,84 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, čo je taktiež nad minimálnym obsahom BTS $8,5 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ uvádzaným normou (Foltys et al., 2009).

3.1.1.1 Mliečny tuk

Mliečny tuk obsahuje rad prvkov, ako sú konjugovaná kyselina linolová, sfingomyelín, kyselina maslová, éteri lipidov, β -karotén a vitamíny A a D, ktoré majú protinádorový potenciál. Konjugovaná kyselina linolová inhibuje rast a počet ľudských nádorových buniek, pričom 0,1% konjugovanej kyseliny linolovej v potrave potláča tvorbu nádorov prsného tkaniva a je nezávislé od množstva a typu tukov v strave (Parodi, 1999).

Lipidy v mlieku sú najmenej stálou zložkou mlieka. Obsah tukov v mlieku závisí od mnohých vplyvov ako napríklad od plemennej príslušnosti, štádia laktácie, zdravotného stavu dojnice, spôsobu výživy.

V tukovej zložke mlieka sa nachádzajú aj mnohé dôležité farbivá ako xantofyly a karotény, taktiež lipidy ako fosfolipidy a cholesterol.

Mliečny tuk je ester glycerolu a mastných kyselín. Od ostatných tukov sa líši širším spektrom esenciálnych mastných kyselín. Vyšší obsah nasýtených kyselín má za následok tuhšiu konzistenciu a vyšší obsah nenasýtených kyselín vedie k jemnejšej konzistencii mliečneho tuku. Obsah mastných kyselín má za následok aj intenzívnejšiu arómu (Hökl et al., 1962).

Fosfolipidy majú pre výživu človeka veľký význam. Lecitín, v molekule ktorého je zabudovaný cholín, má dôležitú úlohu pri transporte tukov v tele, taktiež má význam aj pri tvorbe bunkových membrán (Palo et al., 1978).

3.1.1.2 Vitamíny

PIJANOWSKI (1977) uvádza, že mlieko obsahuje vitamíny nevyhnutné pre rozvoj mladého organizmu. DUŠEK (1962) dopĺňa toto tvrdenie, že vitamíny sú nepostrádateľné pri látkovej výmene a pôsobia ako katalyzátory. Vitamínová hodnota mlieka sa niekedy preceňuje, avšak môžeme povedať, že sú plne využiteľné.

Vitamíny A a D sú spojené s protinádorovými účinkami (Parodi, 1999).

3.1.1.3 Sacharidy

Oligosacharidy sú jednými z najvýznamnejších bioaktívnych zložiek mlieka. Ich hlavná úloha spočíva v poskytovaní ochrany proti patogénom. Pôsobia ako rastové stimulanty v hrubom čreve pre prospešnú mikroflóru. Obsah oligosacharidov v kravskom mlieku je dosť nízky, napriek tomu bolo niekoľko oligosacharidov popísaných a izolovaných z mlieka. Oligosacharidy môžu byť použité ako bioaktívne komponenty vo výžive (Gopal et al., 2000).

Disacharid **laktóza** sa vyskytuje ako prirodzená súčasť potravín v mlieku a mliečnych výrobkoch. V tenkom čreve je štiepená pomocou β -galaktozidázy (laktázy) na glukózu a galaktózu, ktoré na následne vstrebávajú (Stránský et al., 2010).

Vlastná laktóza sa vyznačuje nízkou sladivosťou. Pri teplotách nad 70°C dochádza k miernemu hnednutiu mlieka, pretože mliečny cukor reaguje s ϵ -aminoskupinami lyzínu mliečnych bielkovín za tvorby melanoïdov. Karamelizácia nastáva pri teplotách vyšších ako 150°C. Výslednou tvorbou melanoïdov sa mení farba mlieka na nahnedlú až svetlohnedú aj chuť a ostatné senzorické vlastnosti mlieka. Z biochemických vlastností laktózy je pre mliekarstvo najdôležitejšia schopnosť premeny laktózy na kyseliny (<http://www.spssnv.sk.>, 2009).

3.1.1.4 Proteíny

Jednou z najdôležitejších zložiek mlieka sú mliečne proteíny. Jeden liter mlieka pokryje požadovanú dennú dávku bielkovín u detí. Pre dospelých je to polovica odporúčanej dennej dávky. Mliečne bielkoviny obsahujú 18 esenciálnych aminokyselín, potrebných na stavbu a udržanie ľudského organizmu. Tieto esenciálne aminokyseliny si organizmus nevie syntetizovať sám. Ich biologická hodnota je najvyššia, až 98% z nich sa využije v prospech výstavby organizmu a jeho životných funkcií. Mliečne bielkoviny sú neoddeliteľnou súčasťou hormónov a enzýmov. Ich nedostatok môže spôsobiť poruchy rastu, resp. nedostatočne vyvinutú svalovú hmotu (<http://www.mlieko.sk.>, 2009).

V bielkovinovej frakcii mlieka je typických bielkovinových zložiek až 95% a iba 5% tvoria dusíkaté zlúčeniny nebielkovinovej povahy. Všeobecne sú bielkoviny mlieka zastúpené nasledovne:

Tabuľka č.2 Percentuálne zastúpenie bielkovinových zložiek v mlieku
(<http://www.mlieko.sk.>, 2009)

Kazeínový komplex	76,8 % z celkových bielkovín	2,50 % v mlieku
Albumíny	14,0 % z celkových bielkovín	0,45 % v mlieku
Globulíny	1,8 % z celkových bielkovín	0,06 % v mlieku
Proteózy a peptóny	2,0 % z celkových bielkovín	0,07 % v mlieku

Bielkoviny mlieka sú výsledným produktom biosyntetických procesov v mliečnej žľaze (Legarová et al., 2007).

Tieto bielkoviny ľahko denaturujú, a to vysokým zahriatím, dlhotrvajúcim vymrúzaním a niekedy neopatrným vysúšaním, pričom strácajú svoju schopnosť napučiavať a rozpúšťať sa (Dušek et al., 1962).

Tabuľka č.3. Heritabilita pre študované vlastnosti (Ghiroldi et al., 2004)

Sledovaný ukazateľ	Dedivosť
mlieko (kg)	0,31
produkcia kazeínu (kg)	0,27
produkcia bielkovín (kg)	0,30
obsah kazeínu (%)	0,22
obsah bielkovín (%)	0,23

Tabuľka č.4 Odhad genetických korelácií medzi sledovanými vlastnosťami (Ghiroldi et al., 2004)

Genetická korelácia	Hodnota
kg kazeínu – kg mlieka	0,956
kg kazeínu – kg bielkovín	0,992
kg kazeínu – % kazeínu	-0,115
% kazeínu – kg mlieka	-0,391
% kazeínu – kg bielkovín	-0,123
% kazeínu – % proteínov	0,925

3.2 Základné členenie mliečnych proteínov

V mlieku odlišných druhov sa vyskytujú kvantitatívne aj kvalitatívne rozdiely. Mliečne proteíny všetkých cicavcov môžu byť rozdelené do dvoch tried:

a., kazeíny

b., srvátkové proteíny (Miluchová et al., 2009a).

3.2.1 Srvátkové proteíny

Srvátkové proteíny mlieka zodpovedajú proteínovej frakcii, ktorá sa zvyšuje v roztoku po precipitácii kazeínových micel a tukových globúl. Sú tvorené hlavne β -laktoglobulínom a α -laktalbumínom (Miluchová et al., 2009b). MORR (1993) uvádza, že srvátkové proteíny sú: β -laktoglobulín (β -Lg), α -laktalbumín (α -La), hovädzí sérový albumín (BSA), a imunoglobulín (Ig).

EBRINGER (2009) sa stotožňuje s tvrdením a ďalej uvádza, že srvátkové proteíny tvoria asi 20-percentný podiel mliečnych bielkovín. Sú mimoriadne kvalitné, o ich vlastnostiach existujú nielen súčasné, ale aj historické doklady. Srvátkové bielkoviny majú výnimočnú biologickú hodnotu, ktorá prevyšuje o 15% vaječné bielkoviny, o 30% mäsové bielkoviny, o 35% sójové bielkoviny a o 40% mliečny kazeín. Srvátkové bielkoviny sú bohatým zdrojom nielen esenciálnych, ale aj vetvených aminokyselín (leucín, izoleucín a valín), dôležitých pre stavbu svalov, v ktorých sú zastúpené takmer na 30%. Aj obsah sírnych aminokyselín, najmä cysteínu, je v

srvátkových bielkovinách vyšší ako v mäse, v sóji i v samotnom kazeíne. Zo sírnych aminokyselín sa tvorí glutatión (silný vnútrobunkový antioxidant) a ďalšie zlúčeniny s antikarcinogénnymi účinkami (napr. enzým glutationperoxidáza).

3.2.2 Kazeíny

Štúdiom štruktúry bielkovín sa zistilo, že kazeín nie je homogénnou bielkovinou, ale že ultramikroskopicky viditeľné kazeínové micely o priemere 0,05-0,1 μm sú v skutočnosti agregáty početných komplexov niekoľkých kazeínových frakcií spojených fosforečnanom vápenatým (Pijanowski, 1977). Kazeín je syntetizovaný v ribozómoch endoplazmatického retikula buniek mliečnej žľazy a je transportovaný do Golgiho aparátu, kde je fosforylovaný pravdepodobne prednostne pri utváraní micelárnych jednotiek, ktoré tvoria kazeínovú micelu. Kazeínové micely sú tvorené komplikovanými bielkovinovými štruktúrami usporiadanými v guľovitých častiach s množstvom kanálikov a dutiniek. Tým sa vysvetľuje vysoká hydratácia kazeínovej micely (2–2,5 g vody na 1 g bielkoviny) (Legarová et al., 2007). Túto štúdiu potvrdzuje PRINZENBERG et al. (2005) a dopĺňa, že najväčšia a najviac využívaná zložka bielkovín mlieka je kazeín, ktorý tvorí hlavnú zložku u všetkých syrov. Kazeínový komplex sa skladá z 3 hlavných frakcií a to α (alfa), β (beta) a κ (kapa), ktoré sa nachádzajú v pomere 3 : 1 : 1. Tieto frakcie kazeínu majú rôznu citlivosť na prítomnosť vápnikových iónov a to sa využíva pri enzymatickom zrážaní mlieka pri tzv. sladkom zrážaní. Práve kazeín je na povrchu miciel a tvorí ochrannú vrstvu voči ostatným frakciám kazeínu, ktoré sú citlivé na vyzrážanie vápenatými iónmi. Práve enzymatickým pôsobením syridla dochádza k jeho štiepeniu a tým sa umožňuje vznik tvorby vápenato-kazeínového komplexu, ktorý tvorí základ výroby syrov.

α s1-kazeín

U hovädzieho dobytká je gén pre α s1-kazeín lokalizovaný na 6. chromozóme. Vysoké množstvo nepolárnych zvyškov robí CSN1S1 pomerne hydrofóbnym. U hovädzieho dobytká bolo identifikovaných osem genetických variantov a to A, B, C, D, E, F, G, H. Najbežnejší je B variant (Miluchová et al., 2009b).

CHOBOTOVÁ et al. (1998) uvádzajú, že existujú značné rozdiely v genotypových frekvenciách α s1-kazeínu medzi plemenami slovenské pinzgauské a slovenské strakaté. U slovenského strakatého bolo zistené vyššie zastúpenie

homozygotného variantu BB a u slovenského pinzgauského heterozygotného variantu BC.

α 2-kazeín

Gén pre α 2-kazeín je u hovädzieho dobytku lokalizovaný na chromozóme 6. Pozostáva z 207 aminokyselinových zvyškov. Pre bovinný CSN1S2 sú známe len štyri varianty: A, B, C, D. Najbežnejší je genetický variant A (Miluchová et al., 2009b).

β -kazeín

Hovädzí dobytok má gén pre β -kazeín lokalizovaný na chromozóme 6. β -kazeín má zreteľný hydrofóbny charakter, pričom pri izbovej teplote je citlivý na Ca^{2+} ióny (Miluchová et al., 2009b).

Doteraz je známych sedem genetických variant β -kazeínu. Ich rozdelenie škrobovou elektroforézou je o veľa zložitejšie ako u ostatných kazeínov. Variant A môže byť oddelený od variantov B, C, D a E v alkalickom prostredí, avšak komplexne si oddelenie variantov β -kazeínu vyžaduje kyslé prostredie (Eigel et al., 1984).

3.2.2.1 Vlastnosti kazeínu

V čerstvom mlieku, tzn. pri pH okolo 6,5, kazeín ako celok vykazuje prevahu svojich kyslých skupín nad zásaditými skupinami (výraznejšia disociácia voľných karboxylových skupín ako aminokyselín). Vtedy má charakter aniónu, ktorý dáva s iónmi vápnika koloídny roztok kazeinátu vápenatého.

Pri pH 4,4-4,6 má kazeín nízky stupeň disociácie, stáva sa elektricky neutrálny a jeho hydrofilnosť a rozpustnosť sa výrazne znižuje. Za týchto podmienok sa kazeínový komplex nachádza vo voľnom stave, bez vápnika, pričom jeho rozpustnosť je nepatrná.

Pri hodnotách pH nižších ako 4,5, sa ešte výraznejšie obmedzuje disociácia karboxylových skupín (Pijanowski et al., 1977).

Kazeínový celok je čiastočne rozpustný. Rozpustnosť sa zvyšuje od teploty 8°C do 2°C. V tomto rozpätí teplôt sa rozrušuje aj kontrakcia micel kazeínu, nie len v sladkom, ale aj kyslom prostredí.

V sladkom mlieku medzi rozplynutým kazeínom a disperzným kazeínom existuje rovnovážny stav. Disperzná fáza kazeínu má podobu micel a rozpustná forma kazeínu tvorí menšie polymérne jednotky (Keresteš et al., 2005).

3.3 κ -kazeín

Gén κ -kazeínu u hovädzieho dobytká sa nachádza na chromozóme 6 a kóduje mliečne bielkoviny dôležité pre štruktúru a stabilitu micel kazeínu (Matějček et al., 2007).

κ -kazeín sa pripravuje extrakciou močoviny – kyseliny sírovej s etanolom z celého kazeínu (Zittle et al., 1989).

κ -kazeín je menšia zmes polymérov spojených intermolekulárnymi disulfidickými mostíkmi. Primárna štruktúra hlavnej bezcukornej zložky je tvorená 169 aminokyselinami. Má kyslú povahu. Vzhľadom k tomu, že κ -kazeín podmieňuje stabilitu kazeínového komplexu vrátane srvátkových bielkovín, predstavuje κ -kazeín výnimočnú zložku medzi kazeínmi. V molekulách malých zložiek kazeínu je okrem fosforu obsiahnutá aj kyselina N-acetylneuramínová, galaktóza a galaktozamín. κ -kazeín je jedinou frakciou kazeínu, ktorá obsahuje sírne aminokyseliny (cysteín a methionín) a ako jediná kazeínová frakcia sa nezráža vápenatými iónmi a je v primárnej fáze pôsobením syridla štiepená chymozínom (Legarová, 2009).

3.3.1 Genetický polymorfizmus a polymorfizmus κ -kazeínu

SOLDÁT et al. (2006) pod genetickým polymorfizmom rozumejú termín, ktorý sa využíva, keď je jeden gén v populácii kódovaný viacerými alelovými variantmi. Homozygotní jedinci majú v genetickom kóde prítomnú práve jednu variantu, kým heterozygotní majú prítomné dve z možných alelových variant kódujúcich daný lokus.

V mlieku tvoria kazeíny asi 80% z celkového obsahu bielkovín a polymorfizmus súvisí so zmenami v sekvencii aminokyselín. κ -kazeín je spájaný s rozdielmi v produkcii mlieka a s rozdielom v zložení a následnom spracovaní mlieka (Otaviano et al., 2005).

Polymorfizmus κ -kazeínového génu bol známy od roku 1964, v súčasnosti je známých deväť alel. Bežné sú alely A, B a E (Matějček et al., 2007).

κ -kazeín bol posledný z hlavných mliečnych bielkovín, pre ktoré bol zistený polymorfizmus. Prijímaním vhodných látok, ako sú mercaptoetanol a cysteín, sa môže zlomiť S-S väzba a tým sa polyméry zmenia na monoméry. Podľa tohto môžeme oddeliť dva genetické varianty, pomenované A a B. Dlhú dobu sa zdalo, že pre κ -kazeín existujú len tieto 2 varianty, ale v roku 1978 sa pomenoval tretí variant, variant C. Tento variant bol charakterizovaný rýchlejšou migráciou v kyslom prostredí. Avšak pri hodnotení mobility variantu B a C sa prišlo na to, že nevykazujú žiadny rozdiel v ich elektroforetickom pohybe. O niekoľko rokov neskôr sa uvádza, že v mlieku talianskeho dobytká brown sa ukázala až tretina κ -kazeínu z celkového množstva kazeínov. Substitučná časť Arg/His sa nachádza v polohe 97, t.j. v para- κ -kazeínovej časti. Táto skutočnosť má negatívny vplyv na čas koagulácie, a to pravdepodobne kvôli zmene konformácie molekuly, ktorá sťažuje interakciu medzi substrátom a chymozínom. Táto náhrada nemá negatívny vplyv na pevnosť tvarohu, zrejme z dôvodu lepšej vzájomnej komunikácie medzi micelami para- κ -kazeínu (Formaggioni et al., 1999).

3.3.1.1 Variant A a B

Najčastejšie sú zastúpené alely A a B, ktoré sú obsiahnuté u všetkých plemien s premenlivou frekvenciou. Variant A sa nachádza u frízkeho, ayrshirského, červeného dánskeho dobytku, u írskoho kerry je frekvencia takmer 93%. B variant prevláda u jersey, normande a africkej zebu. Hovädzí dobytok sa vyznačuje výskytom variantu B (Formaggioni et al., 1999).

Alela A je spojená s vyššou produkciou mlieka, ale nižším obsahom bielkovín, pričom alela B je spojená s vyšším obsahom bielkovín a vyššou kvalitou mlieka, ale produkcia mlieka je nižšia (Matějček et al., 2007).

3.3.1.2 Variant C a E

κ -kazeínový variant C je menej častý, ale bol nájdený u mnohých plemien. Okrem alpského sivého a hnedého dobytká, bol zistený aj u nemeckého simmentálskeho dobytká, nemeckého fleckvieh, murnau-werdenfelser a červeného holštajnského plemena (Formaggioni et al., 1999).

κ -kazeín E napriek tomu, že nie je veľmi známy, nachádza sa u fínskeho ayrshire, kde mal frekvenciu ~ 30%. V poslednej dobe bol tento variant zistený aj v Taliansku u talianskych hnedých frízskych plemien (Formaggioni et al., 1999). Známy je negatívny vplyv alely E na kvalitu mliečnych bielkovín (Matějček et al., 2007).

3.3.1.3 Variant F

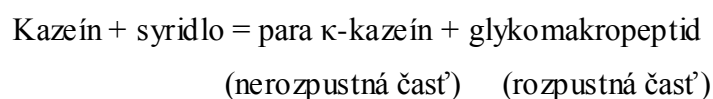
Jedna z najkomplexnejších skupín polymorfizmu mliečnych bielkovín je u F variantu κ -kazeínu. V roku 1992 bol tento variant F objavený v Jakutsku. Pomocou PCR (polymerázová reťazová reakcia) sa objavila nová κ -kazeínová alela, pomenovaná F; primárna štruktúra bielkovín bola rekonštruovaná z údajov sekvencie DNA, a ukázalo sa, že došlo k substitúcii medzi Asp/Val. V roku 1996 sa našiel tento variant aj u fínskej Ayrshire. V tom istom roku sa ukázalo, že tam dochádza k substitúcii medzi Arg/His. Pomocou PCR metódy sa zistili dva κ -kazeínové amplifikované fragmenty s rôznymi vlastnosťami voči nukleázam v mieste, ktoré je nekódujúcou oblasťou génu (Formaggioni et al., 1999).

3.3.2 Syrenie mlieka

Podľa dnešných predstáv a zistení syrenie mlieka a jeho zrážanie prebieha v určitej premenlivej postupnosti, ktorá sa delí na nasledovné fázy:

Prvá fáza: Primárny účinok enzýmu, ktorým môže byť chymozín alebo mikrobiálne syridlá, v čase zrážania sa zameriava len na deštrukciu κ -kazeínu, je ochranným koloidom, čiže koloidným protektorom. Kazeíny α a β nepodliehajú hydrolytickým účinkom syridla v primárnej fáze. V tejto fáze pôsobením syridla sa z κ -kazeínu odštiepuje polypeptidická časť, a pozostáva hlavne z glykomakropeptidu.

Účinkom syridla na κ -kazeín sa odštiepuje hydrofilná časť.



Dochádza k sekundárnej fáze – koagulácii: V sekundárnej fáze sú nevyhnutné ióny vápnika. V pôvodnom stave spája vápnik intramicelárne komponenty kazeínu a pri koagulácii kazeínových častíc extramicelárne.

Vápnik musí mať jednu valenčnú stranu napojenú na kazeínovú časť citlivú na vápnik a druhú na časť necitlivú na vápnik. Spájaním kazeínových micel sa tvorí zosieťovanie na všetky strany, čím nastáva koagulácia. Dej možno charakterizovať tak, že z jednej molekuly kazeínu vznikli dve molekuly para-kazeínu. Výsledkom je trojrozmerná sieť koagulátu (Kereteš et al., 2005).

3.3.3 Vzťah κ – kazeínu k syriteľnosti

Vplyv κ -kazeínu na zrážanie mlieka sa testuje metódou s využitím koagulácie mlieka. Táto metóda je založená na dvoch modeloch pre koaguláciu mlieka. Množstvo vápnika v mlieku má tiež významný vplyv na syriteľnosť (Stojcevic, 2004).

Kazeín, ako hlavnú zložku pre výrobu syrov, možno z mlieka vyzrážať buď pôsobením kyselín (v syrárstve je to prirodzená kyselina mliečna ktorá vzniká fermentáciou prítomného mliečneho cukru), alebo pôsobením syridla (t.j. proteolytického enzýmu podobného aký sa nachádza v žalúdku cicavcov). Biologickou hodnotou sa kazeín vyrovná bielkovine mäsa a prevyšuje hodnotu bielkovín obilnín i strukovín. Pod albumínmi sa (veľmi stručne) rozumie bielkovina mlieka, ktorá je rozpustná a tieto prechádzajú do sladkej i kyslej srvátky pri výrobe syrov. Už pri zahriatí nad 60°C zvlášť za prídavku vápenatých solí začína ich denaturácia, čo sa využíva na výrobu srvátkových syrov, alebo pri spracovaní ovčieho mlieka tzv. žinčice (<http://www.mlieko.sk.>, 2009).

Táto forma kazeínu má významný vplyv na výťažnosť syra a na jeho kvalitu. Geneticky je tvorba κ -kazeínu podmienená genotypom BB.

Tabuľka č.5 Percentuálne zastúpenie genotypu BB u rôznych plemien (<http://www.advise.sk.>, 2009).

Normandský dobytok	44%
Jersey	38%
Švajčiarske hnedé	28%
Montbeliarde	21%
České strakaté (simentalske)	7%
Holštajnský	19%

Negatívne ale pôsobí genotyp EE, ktorý sa vyskytuje u plemena hoľštajn 9%. Dá sa povedať že vhodnosť mlieka na výrobu syrov sa významne dedí a kvalita mlieka sa líši medzi jednotlivými jedincami. V chovoch kde sa predpokladá výroba syrov by sa mali vyberať plemeníci a plemenice podľa schopnosti tvoriť κ -kazeín. Nie je potešiteľné, že v tejto oblasti simentálsky dobytok nemá práve najlepšie parametre ((<http://www.advise.sk.>, 2009).

Genotyp AA vplýva na pomalšiu syriteľnosť, nižšiu akosť a produkciu syreniny, nižšiu výťažnosť syra. Genotyp BB, ako bolo vyššie uvedené má pozitívny vplyv na syriteľnosť, zvyšuje výťažnosť syra a znižuje syrový prach v srvátke a skracaie dobu sýrenia (Kučerová et al., 2004). S týmto tvrdením sa stotožňuje aj HAJZLER (2009) a uvádza, že v mlieku s obsahom genotypu BB je doba zrážania mlieka v porovnaní s genotypom AB o 24% nižšia a konzistencia syreniny je o 37% vyššia. U genotypu BB je veľkosť kazeínových micel o 40% menšia, čo prispieva k zvýšeniu zrážacích schopností. Normálny obsah kazeínu 2,6% je dobrým predpokladom dobrej syriteľnosti mlieka, zvýšený obsah imúnnych globulínov má negatívny vplyv na syriteľnosť.

Za dobrú syriteľnosť považujeme zrážanie mlieka upraveného k výrobe syrov pri 32°C tak, že prvé vločky zrazeniny sa tvoria za 15 až 18 minút.

Zistený bol aj vplyv genetického polymorfizmu bielkovín mlieka na synerézu. Silnejšia syneréza bola zistená u zrazeniny mlieka κ -kazeínu AB proti AA, všeobecne je vyššia syneréza u mliek s genotypom κ -kazeín BB v porovnaní s AA a to aj pri nízkom aj vysokom obsahu κ -kazeínu.

Pozorovaním bolo zistené, že syr vyrobený z mlieka genotypu BB znížil svoju hmotnosť za 24 hodín o 15% viac ako syr vyrobený z mlieka genotypu AA, čo poukazuje na intenzívnejšiu synerézu u syreniny mlieka BB.

Výtťažnosť syra z mlieka je daná sumou tuku, bielkovín, ostatných zložiek sušiny a vody.

Vyjadruje sa buď ako spotreba litrov syrárskeho mlieka na výrobu 1 kg daného syra alebo naopak ako množstvo syra v kg, ktoré sa vyrobí zo 100 l mlieka.

Syry sú produkty, v ktorých je koncentrovaný mliečny tuk a bielkoviny, je teda jasné, že výtťažnosť je závislá predovšetkým na ich obsahu v mlieku. Prechod tuku do syra (výtťažnosť tuku) obvykle nie je problémom. V závislosti na mechanickom spracovaní syreniny výtťažnosť kolíše od 85 až do 93% (Legarová, 2007).

Tabuľka č. 6 Niektoré charakteristiky mlieka vzhľadom na genotypy κ -kazeínu (<http://www.agroporadenstvo.sk.>, 2009)

Ukazovateľ	Jednotka	Genotyp κ -kazeínu		
		AA	AB	BB
Bielkoviny	g/100 ml	3,33	3,11	3,24
Celkové kazeín		2,65	2,39	2,47
Čas zrážania	s	75	63	44
Kvalita syra	tr.	III.	III.	I.
Vyrobiteľný syr	kg	1,75	6,42	7,65
Spotreba mlieka	l.kg ⁻¹ syra	6,0	4,33	3,73
Laktóza	g.100 g ⁻¹	4,24	4,33	4,59
Vápnik (Ca)	g.l ⁻¹	1,34	1,44	1,56
Horčík (Mg)	g.l ⁻¹	0,085	0,049	0,109
Tuk	%	4,6	5,0	4,6
Celkové bielkoviny	%	3,7	3,21	3,27

3.3.4 Vzťah κ -kazeínu k mliekovej úžitkovosti

TSIARAS et al. (2005) uvádzajú, že vhodnosť genotypu AB k produkcii mlieka a tukov je vysoká. Ďalej uvádzajú, že B variant pri niektorých štúdiách nemal vplyv na výtťažnosť, ale napriek tomu sa pri iných štúdiách spája aj s vysokou aj nízkou dojivosťou. KUČEROVÁ et al. (2004) dopĺňa, že genotyp AA má tiež vysoký vplyv na produkciu mlieka (kg). Genotyp BB a AB zvyšujú tukovosť mlieka.

EENENNAAM et al. (1991) vo svojich štúdiách uvádzajú, že genotyp BB má významný vplyv na mliekovú úžitkovosť kráv a práve preto sa spája s výrobou mlieka ako

jeden s prvotných genotypov. Vplyv genotypu AA a BB na produkciu mlieka zapríčiňuje veľkosť a počet micel, ktorých je u genotypu AA porovnateľne menej, pričom sú tieto micely u κ -kazeínu menšie ako u iných kazeínov.

ŽITNÝ et al. (2002) na základe svojich štúdií publikujú, že pri celkovom hodnotení produkcie mlieka skupina dojníc s homozygotným BB genotypom α_1 -kazeínu vyprodukovala v priemere o 101,8 kg mlieka viac, než druhá skupina s BC genotypom. Výsledky produkcie mlieka v ďalších troch hodnotiacich systémoch polymorfných bielkovín potvrdzujú zistenia o vplyve heterozygotného založenia monogénnych znakov na produkčné vlastnosti zvierat.

Rozdiely medzi homozygotnými a heterozygotnými skupinami však neboli zistené na hraniciach významnosti v polymorfizme β -laktoglobulín (51,1 kg mlieka) a κ -kazeín (57,1 kg mlieka). Úroveň produkcie mlieka dosiahla za celkové hodnotiace obdobie výrazne stúpajúcu tendenciu iba v heterozygotných genotypových kombináciách β -kazeínu so štatisticky preukazným rozdielom 183,7 kg mlieka.

V súbore kráv slovenského strakatého plemena bola dosiahnutá vyššia priemerná produkcia bielkovín s BB genotypom α_1 -kazeínu. Vypočítaný rozdiel bielkovín 3,1 kg bol medzi oboma testovanými skupinami štatisticky nevýznamný. Tendencia zvyšovania produkcie bielkovín (kg) bola opäť zistená pri kombinovaných genotypoch v polymorfizme β -laktoglobulín a κ -kazeín.

Haplotyp BA1B má negatívny vplyv na dojivosť (Boettcher, 2004).

Pribudli významné poznatky o lokusoch (úsekoch chromozómov), ktoré kontrolujú mliekovú úžitkovosť hovädzieho dobytku, najmä z hľadiska kvalitatívneho zloženia hlavných mliečnych bielkovín (alfa-laktoglobulínu a kapa-kazeínu). Na základe mnoholokusovej väzbovej analýzy sa zistilo maximum zhody v 5 rozdielnych chromozomálnych oblastiach. Napr. dva lokusy na chromozómoch 1 a 10 sú zodpovedné za vysokú úroveň produkcie mlieka, bielkovín a tuku. Ďalšie na chromozómoch 6 a 10 kódujú vysokú mliekovú úžitkovosť, ale nie produkciu tuku, ani bielkovín (Bulla, 2003).

4 ZÁVER

V našej práci sme sa venovali významu mlieka vo výžive ľudí, pričom sme sa zamerali hlavne na κ -kazeín, jeho polymorfizmus a vzťah k produkcii mlieka a syriteľnosti. Po preštudovaní dostupnej literatúry sme prišli k nasledovným záverom:

- κ -kazeín je známy svojím genetickým polymorfizmom
- má vysoký vplyv na produkciu mlieka: BB ako najvýznamnejší genotyp pre produkciu mlieka
- je dôležitý pri výnose mliečneho tuku: hlavne genotypy BB a AB
- vplýva vo vysokej miere na syriteľnosť mlieka, výťažnosť syreniny z mlieka, kvalitu syreniny a čas syrenia: genotyp BB
- genotyp AA vplýva na pomalšiu syriteľnosť, nižšiu akosť a produkciu syreniny, nižšiu výťažnosť syra
- podobne ako genotyp AA aj genotyp EE pôsobí na syriteľnosť negatívne

5 POUŽITÁ LITERATÚRA

1. ALEANDAI, R. – BUTTAZZONI, L. G. – SCHNEIDER, J. C. – CAROLI, A. DAVOLI, R., 1990. The effects of milk protein polymorphism on milk components and Cheese-Producing Ability. In *Journal of Dairy Science.*, 1990, vol. 73, s. 241-255.
2. BLECK, G. T. – BREMEL, R. D., 1993. Correlation of α -laktalbumin (+15) Polymorphism to milk production and milk composition of Hosteins . In *Journal of Dairy Science*, 1993, vol. 76, no. 8, s. 2292-2298.
3. BOBKOVÁ, A. - ŽIDEK, R. - FLIMELOVÁ, E. - BOBKO, M. - FIKOVÁ, M., 2009. Využitie PCR metódy na dôkaz falšovania mlieka a mliečnych výrobkov. In *Potravinárstvo: Vedecký časopis pre potravinárstvo*, Nitra, 2009, s. 1, ISSN 1337-0960.
4. BOETTCHER, P. J. – CAROLI, A. - STELLA, A. - CHESSA, S. - BUDELLI, E., et al., 2004. Effects of Casein Haplotypes on Milk Production Traits in Italian Holstein and Brown Swiss Cattle. In *Journal Dairy Science*, 2004, vol. 87, s. 4311–4317.
5. BULLA, J., 2003. Research and Perspectives of the Modern Biotechnologies in Animal Husbandry. In *Životné Prostredie*, 2003, vol. 37, no. 2, s. 2.
6. DUŠEK, B. – SEMJAN, Š. – KAŽIMÍR, L., 1962. *Mlieko a mliečne výrobky*. Bratislava : Slovenské vydavateľstvo pôdohospodárskej literatúry, 1962. s. 35, 42, 43.
7. EBRINGER, L., 2009. Srvátka a žinčica. In *Bedeker zdravia* [online]. 2009, [cit. 2009-21-11]. Dostupné na internete: <<http://www.bedekerzdravia.sk/?main=article&id=594>>.
8. EENENNAAM, A. L. - MEDRANO, J. D., 1991. Differences in Allelic Protein Expression in the Milk of Heterozygous K-Casein Cows. In *Journal of Dairy Science*, 1991, vol. 74, no. 5, s. 1491 – 1495.
9. EIGEL, W. – HITLER, J. – ERNSTORM, C., et al., 1984. Nomenclature of Protein sof Cos Milk: Fifth revision. In *Journal of Dairy Science*, 1984, vol. 67, s. 1599-1631.
10. FOLTYS, V. - KIRCHNEROVÁ, K., 2009. Mlieko-výživa. In *Centrum výskumu živočíšnej výroby Nitra pôdohospodársky poradenský systém*, Nitra, [online]. 2009 [cit.2010-26-01]. Dostupné na internete: <http://www.agroporadenstvo.sk/potraviny/clanky/mlieko_vyziva.htm?start >.

11. FORMAGGIONI, P. – SUMMER, A. – MALACARNE, M. – MARIANI, P., 1999. Milk protein polymorphism: Detection and diffusion of the genetic variant in bos genus [online]. 1999 [cit. 2009-21-11]. Dostupné na internete: <<http://www.unipr.it/arpa/facvet/annali/1999/formaggioni/formaggioni.htm>>.
12. GHIROLDI, S., et al., 2004. Možnosti měření obsahu kaseinu v mléce [online]. 2004 [cit. 2009-05-09]. Dostupné na internete: <http://www.cmsch.cz/docs/kasein_v_mlece.doc>.
13. GOPAL, K. P. – GILL, H. S., 2000. Oligosaccharides and glycoconjugates in bovine milk and colostrum. In *British Journal of Nutrition* [online]. 2000, vol. 84, s. 69 - 74 [cit. 2010-03-03]. Dostupné na internete: <http://journals.cambridge.org/download.php?file=%2FBJN%2FBJN84_S1%2FS0007114500002270a.pdf&code=35e575eb38456b8fe4a6c55bf429b91c>.
14. HAJZLER, M., 2009. *Vztah genetického polymorfismu kaseinu na kvalitu mléka: bakalářská práce*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2009. s. 32.
15. HÖKL, J. – ŠTĚPÁNEK, M., 1962. *Hygiena potravin – mléko a mléčné výrobky*. Praha, 1962. s. 40.
16. <http://www.spssnv.sk/data/dok/milky.pdf>.
<http://209.85.129.132/search?q=cache:eGDmy_v9jP8J:www.spssnv.sk/data/dok/milky.pdf+syridlo+kazein&cd=6&hl=sk&ct=clnk&gl=sk>, 2009.
17. CHIANESE, L. – MAURIELLO, R. – FERRANTI, P. – TRIPALDI, C. – TAIBI, L., et al., 1997. Relationship between α s1-casein variants and clotting capability of ovine milk. In *Milk Protein Polymorphism*: Brussels, Belgium: IDF, 1997, s. 316-323.
18. CHOBOTOVÁ, E. – DOBÁLOVÁ, M. – FOLTYS, V., 1998. Frekvencia genotypov štyroch polymorfných systémov mliečnych bielkovín u plemien slovenské pinzgauské a slovenské strakaté. In *Czech Journal of Animal Science*, 1998, vol. 43, no. 11, s. 497-501.
19. KERESTEŠ, J. – SELECKÝ, J., 2005. *Syrárstvo na Slovensku – história a technológia*. Považská Bystrica, 2005, s. 38.
20. KUČEROVÁ, J. – NĚMCOVÁ, E. – ŠTÍPKOVÁ, M. – VRTKOVÁ, I. – DVOŘÁK, J., et al., 2004. Vliv markerů CSN3 a ETH10 na parametry mléčné užitkovosti u českého strakatého skotu. In *Journal Central European Agriculture*, 2004, vol.5, no. 4, s. 303-308.
21. KÚBEK, A. - TRAKOVICKÁ, A. - RAFAY, J. - NOVÝ, J., 2000. *Genetika*. Nitra : SPU, 2000. s. 3,137,141, ISBN 80-7137-696-5.
22. LEGAROVÁ, V. - KOUŘIMSKÁ, L., 2007. The effect of casein genetic varieties on the yield during cheesemaking. In *Výsledky přehlídek a sborník*

přednášek semináře Celostátní přehledky sýrů, 2007, s. 222-226. ISBN 978-80-7080-661-6.

23. LEGAROVÁ, V. - KOUŘIMSKÁ, L., 2009. The effect of kappa-casein genetic varieties on The technological properties of milk. In *Kontrola a bezpečnosť mlieka a mliečnych produktov*, [online]. 2009, s. 292-295. [cit. 2010-26-03]. Dostupné na internete: <http://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:w3C1g88e-_UJ:www.graphix.sk/webhosting/bezpecnostpotravin/index.php/menu/1/id/67+kapa+kaze%C3%ADn+dojivost&hl=sk&gl=sk&pid=bl&srcid=ADGEESi2KL0BUapZnezBgQ6iAsX-_u2jLNtp8Vix_rOnAMbjgoC6_3WHKgKLGhPgSgbQOH---pbbQuwaOOYQERizAWrEItESXZUPUTHV4Dso8GoLnqzsgqgRWozoxZBuUfxcewf5zcYF&sig=AHIEtbQQC5spXTXkN7gHH_xlVHrI5hsW5A>.
24. MAIR-WALDBURG, H., FRIEDRICH – WILHELM, E., MARKOVÁ, M., VACHULOVÁ, K., FLUBACHER, H. D., 2003. Čo je syr. In *Syry: Veľká encyklopédia – všetko o syroch, Lexikón syrov, Recepty*, Bratislava : Trio Publishing, 2003, s. 7, ISBN 80-968705-1-3.
25. MATĚJÍČEK, A. - MATĚJÍČKOVÁ, J. - NĚMCOVÁ, E. – JANDUROVÁ, O. M. – ŠTÍPKOVÁ, M., et al., 2007. Joint effects of *CSN3* and *LGB* genotypes and their relation to breeding values of milk production parameters in Czech Fleckvieh. In *Czech Journal of Animal Science*, 2007, vol. 4, no. 52, s. 83-87.
26. MILUCHOVÁ, M. 2008. *Analýza vybraných kandidátskych génov úžitkovosti prežúvavcov metódami analýzy DNA : dizertačná práca*, Nitra : SPU, 2008, s. 3-5.
27. MILUCHOVÁ, M. - TRAKOVICKÁ, A. - GÁBOR M., 2009a. Molekulárno-genetická detekcia génov *CSN3* a *LGB* v populácii Slovenského pinzgauského plemena metódou multiplex PCR-RFLP. In *Acta fytotechnica et zootechnica*. 2009, mimoriadne číslo, s. 450-454.
28. MILUCHOVÁ, M. - TRAKOVICKÁ, A. - GÁBOR, M., 2009b. *Genetické markéry kvality mlieka a zdravia hovädzieho dobytká*. Nitre : SPU, 2009, s. 6-12. ISBN 978-80-552-0281-5.
29. MLIEKO.sk, 2009. Mliečne bielkoviny [online]. 2009 [cit. 2009-21-11]. Dostupné na internete: <<http://www.mlieko.sk/bielkoviny.php>>.
30. MORR C. V., 1993. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. In *Critical reviews in food science and nutrition* [online]. 1993, vol. 6, no. 33 [cit. 2009-21-11]. Dostupné na internete: <http://grande.nal.usda.gov/ibids/index.php?mode2=detail&origin=ibids_referenc&therow=2889>.
31. OTAVIANO, A. R. – TONHATI, H. – SENA, J. A. D. – MUÑOZ, M. F. C., 2005. Kappa-casein gene study with molecular markers in female buffaloes

- (*Bubalus bubalis*). In *Genetics and Molecular Biology* [online]. 2005, vol. 28, no.2 [cit. 2009-21-11]. Dostupné na internete: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-47572005000200010&script=sci_arttext&tlng=en>.
32. PALO, V. – SMETANA, M., 1978. *Mlieko ako potravina*. Bratislava : Príroda, 1978. s. 31.
33. PARODI, P. W., 1999. Conjugated Linoleic Acid and Other Anticarcinogenic Agents of Bovine Milk Fat. In *Journal of Dairy Science*, 1999, vol. 82, no. 6, s. 1339-1349.
34. PIJANOWSKI, E., 1977. *Základy chémie a technológie mliekárstva*. Prvý diel. Bratislava : Príroda, 1977. s. 103, 104, 131.
35. PRINZENBERG, E. M. – GUTSCHER, K. – CHESSA, S. – CAROLI, A. – ERHARDT, G., 2005. Caprine kappa-casein (CSN3) polymorphism. In *New developments in molecular knowledge*, 2005, vol. 88. s. 1490-1498.
36. RUSNÁK, R., 2009. Situácia okolo mlieka je veľmi zlá. In *Pohronie: regionálny týždenník so sídlom v Leviciach*, Levice [online]. 2009 [cit. 2010-26-01]. Dostupné na internete: <<http://www.pohronie.sk/situacia-okolo-mlieka-je-velmi-zla/1375/>>.
37. SOLDÁT, J. – KOTT, T., 2006. Frekvence alel u genů pro složení mléka v populaci českého strakatého skotu. In *Náš chov*. VUŽV, Praha, 2006, no. 6, s. 32-33.
38. STOJCEVIC, J. D., 2004. Polymorphism of kappa-casein in cows and technological quality of milk in the making of Saint-Paulin cheese. In *Animal genetics and breeding; Food composition* [online]. 2004 [cit. 2009-21-11]. Dostupné na internete: <<http://www.fao.org/agris/search/display.do?f=2005/CS/CS0501.xml;CS200500134>>.
39. STRÁNSKÝ, M. – SIEBER, R. – DE VRESE, M., 2010. Lactose in Nutrition. [online]. 2004 [cit. 2010-03-03]. Dostupné na internete: <<http://www.tigis.cz/dmev/dmev100/08strans1.htm>>.
40. SUN, Z. – ZHANG, Z. – WANG, X. – CADE, R. – ELMER, Z. – FREIGLY, M., 2003. Relation of beta-casomorphin to apnea in sudden infant death syndrome. In *Peptides*, 2003, vol. 24, s. 937-943.
41. TSIARAS, A., M. - BARGOULI, G., G. – BANOS, G. - BOSCO, C., M., 2005. Effect of Kappa-Casein and Beta-Lactoglobulin Loci on Milk Production Traits and Reproductive Performance of Holstein Cows. In *Journal Dairy Science*, 2005, vol. 88, s. 327-334.

42. VACOVÁ, T., 1986. *Mlieko a mliečne prípravky vo výžive*. Bratislava : Vydavateľstvo technickej a ekonomickej literatúry, 1986. s. 34.
43. VÝSKUMNÝ ÚSTAV MLIEKARENSKÝ a.s., 2010. Význam mlieka vo výžive [online]. 2010 [cit. 2010-22-11]. Dostupné na internete: <<http://www.vumza.sk/index.php/informacie-pre-spotrebiteov/vyznam-mlieka-vo-vyive>>.
44. VÝSKUMNÝ ÚSTAV ŽIVOČÍŠNEJ VÝROBY, 2009. Využitie DNA testu pri identifikácii ekonomicky dôležitých genetických variantov hovädzieho dobytku. Ústav genetiky a reprodukcie hospodárskych zvierat, Nitra [online]. 2009, s. 2. [cit. 2010-26-03]. Dostupné na internete: <<http://www.agroporadenstvo.sk/zv/pdf/vuzv2-19.pdf>>.
45. ZITTLE C. A. - CUSTER J. H., 1989. Purification and Some of the Properties of κ -Casein and κ -Casein. In *Journal of Dairy Science*, 1989, vol. 46, no. 11 s. 1183-1188.
46. ZLOŽKY MLIEKA, 2009. Kappa kazeín [online]. 2009 [cit. 2009-21-11]. Dostupné na internete: <http://www.farmari.eu/index.php?option=com_content&view=article&id=84:zlozkymlieka&catid=55:zlozenie-mlieka&Itemid=65>.
47. ŽITNÝ, J. - BUJKO, J. - TRAKOVICKÁ, A. - STRAPÁKOVÁ, E. - TÓTHOVÁ, K., 2002. Hodnotenie mliekovej úžitkovosti dojnic slovenského strakatého plemena podľa selekcie na dlhovekosť a genetické varianty polymorfných bielkovín mlieka. In *JCEA*, 2002, vol. 3, no. 3, s. 195-204.