

**Poděkování**

Príspevek byl zpracován s podporou projektu NAZV KUS QJ1210302.

**Použitá literatura**

- AGOSTON A. (1987): *Color Theory and Its Application in Art and Design*, Springer-Verlag, New York and Berlin, 286 p.
- BLAHOVEC J., KUTÍLEK M. (2002): *Physical Methods in Agriculture Approach to Precision and Quality*. Boston, MA: Springer US, 454 p. ISBN 9781461500858.
- CAIVANO J. L., DEL PILAR BUERA, M. (2012): *Color in food: technological and psychophysical aspects*. BocaRaton, FL: CRC Press. 478 p. ISBN 9781439876930.
- CLARK S., COSTELLO M., DRAKE M., BODYFELT F. (2009): *The Sensory Evaluation of Dairy Products*, 2nd ed. New York, NY: Springer, 2009, xv, 573 p. ISBN 9780387774060.
- FIGURA L., TEIXEIRA A. (2007): *Food physic sphysical properties - measurement and application*. Berlin, Springer. 550 p. ISBN 9783540341949.
- HUNT R.W.G., POINTER M.R. (2011): *Measuring colour*. 4th ed. Hoboken, N.J.: Wiley, Wiley-IS&T series in imaging science and technology. 469 p. ISBN 978-1-119-97537-3
- KONICA MINOLTA (2007): *Precise Color Communication - Color Control From Perception To Instrumentation*, Konica Minolta Sensing, Inc., dostupné z [http://www.konicaminolta.com/instruments/knowledge/color/pdf/color\\_communication.pdf](http://www.konicaminolta.com/instruments/knowledge/color/pdf/color_communication.pdf)
- KRESS-ROGERS E., BRIMELOW C. (2001): *Instrumentation and sensors for the food industry*. Boca Raton, Fla.: CRC Press. 843 p.
- MC CLUNEY W.R. (2014): *Introduction to Radiometry and Photometry*. Norwood: Artech House. 470 p. ISBN 978-1-60807-833-2
- MC GORRIN R.J. (2006): *Food Analysis Techniques: Introduction*. *Encyclopedia of Analytical Chemistry* DOI: 10.1002/9780470027318.a1001
- NIELSEN S.S. (2010): *Food analysis. 4th ed. Dordrecht*: Springer, 602 p. ISBN 9781441914781
- NOLLET, L. M., TOLDRÁ F. (2010): *Sensory analysis of foods of animal origin*. BocaRaton: CRC Press, 2011, xiii, 442 p. ISBN 978-1-4398-4796-1.
- NOLLET, L.M. (2004): *Handbook of food analysis*. 2nd ed., New York: Marcel Dekker, 877 p. ISBN 0-8247-5036-51.
- OHTA N., ROBERTSON, A. (2005): *Colorimetry Fundamental and applications*. Chichester, West Sussex, England: J. Wiley. 350 p. ISBN 978-0-470-09472-3
- POMERANZ Y., MELOAN C.E. (1994): *Food analysis: theory and practice*. 3rd ed. New York: Chapman&Hall, 778 p. ISBN 0412065916.
- SAHIN S., SUMNU S.G. (2006): *Physical properties of foods*. New York: Springer, Food science text series. 257 p. ISBN 0-387-30780-x.
- SCHANDA, J. (2007): *Colorimetry understanding the CIE system*, Vienna, Austria, CIE/Commission internationale de l'éclairage. 459 p. ISBN 9780470049044
- SIMPSON R.S. (2003): *Lighting control-technology and applications*. Boston: FocalPress, 564 p. ISBN 9780240515663.
- STĘPNIEWSKI A., GRUNDAS S. (2013): *Advances in agrophysical research*. Rijeka: InTech. 369-397 pp.
- WADHWANI R., MC MAHON D.J. (2012): *Coloroflow-fat cheese influences flavor perception and consumerliking*. *Journal of Dairy Science*, 95(5), pp. 2336-2346, ISSN 00220302.
- WRIGHT W.D. (1980): *The measurement of colour*, 5th ed. Adam Hilger, London

**Korespondenční adresa:**

Mgr. Ing. Vladimír Sýkora vladimir.sykora@mendelu.cz  
a prof. Ing. Květoslava Šustová, Ph.D. sustova@mendelu.cz,  
Ústav technologie potravin, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

Přijato do tisku: 12. 1. 2016

Lektorováno: 2. 2. 2016

## AKTUÁLNÝ OBSAH VITAMÍNU A V KRAVSKOM A KOZOM MLIEKU V ČR

MVDr. Hodulová Lucia\*<sup>1</sup>, Prof. MVDr. Vorlová Lenka<sup>1</sup>, Ph.D.,  
Mgr. Kostrhounová Romana<sup>1</sup>, Ph.D.,  
doc. RNDr. Marcela Klimešová<sup>2</sup>, Ph.D.,  
Prof. Ing. Oto Hanuš, Ph.D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ústav hygieny a technologie mléka. Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

<sup>2</sup> Výzkumný ústav mlékárenský. s.r.o., Praha  
\*e-mail:hoduloval@vfu.cz

### Actual content of retinol in bovine and caprine milk

**Súhrn**

Mlieko prežúvavcov patrí medzi významné prírodné zdroje makronutrientov, medzi ktoré sa zaraďuje aj vitamín A, retinol. Podľa posledných celosvetových údajov prispieva mlieko k referenčnému dennému príjmu retinolu v rozmedzí od 11 do 16 %. Zdrojom vitamínu A, ktorý zohráva dôležitú úlohu v správnom fungovaní imunitného systému, pri videní, reprodukcií, diferenciácii buniek a taktiež pri vývoji organizmu hlavne v rannom období života, sú len potraviny živočíšneho pôvodu. Preto, cieľom našej práce bolo zistenie aktuálnej koncentrácie retinolu v mlieku prežúvavcov, najrozšírenejšie chovaných v ČR, kráv a kôz. Vzorky čerstvého surového mlieka boli získavané na rôznych farmách v ČR v rokoch 2013-2015. K separácii UHPLC technikou s UV detekciou bol retinol vyextrahovaný extrakciou kvapalina/kvapalina do organického rozpúšťadla. Aktuálna priemerná koncentrácia vitamínu A v priebehu sledovaného obdobia sa pohybovala u mlieka kravského  $0,89 \pm 0,34$  mg/l, u mlieka kozieho a  $0,75 \pm 0,34$  mg/l.

**Kľúčové slová:** vitamín A, mlieko kravské, kozie

**Abstract**

The milk of ruminants belongs to the significant source of macronutrients, including vitamin A. The milk contribution to the reference daily intake varies from 11% to 16% worldwide. The sole source of vitamin A are animal products. This lipophilic vitamins ensure a good functionality of the immune system, plays critical role in vision, reproduction, cells differentiation, and as well as growth and development of organism.

The aim of our study was to evaluate the vitamin A concentration in the milk of ruminants mostly breed in the Czech Republic - cows' and goats'. The samples of bulk tank milk samples were collected during the year 2013-2015. Vitamin A was measured by high performance liquid chro-

matography with UV detection and extracted by liquid/liquid extraction in organic solvent. According to our results the actual concentration of vitamin A in bovine milk is  $0.89 \pm 0.34$  mg/l and caprine milk  $0.75 \pm 0.34$  mg/l.

**Keywords:** Vitamin A, bovine milk, caprine milk

## Úvod

Mlieko obsahuje všetky dôležité nutrienty pre organizmus, a preto zaberá vo výžive ľudí dôležité miesto. Je jediným a nenahraditeľným zdrojom všetkých živín v rannom období života či už zvierat alebo ľudí. Koncentrácie jednotlivých nutričov sú závislé na exogénnych (hlavne výživa) a tak i na endogénnych faktoroch (genetický základ), ktoré sa časom mierne menia. Preto bola práca zameraná na zistenie aktuálnej koncentrácie vitamínu A, retinolu, v priebehu rokov 2013 - 2015 v mlieku kravskom a kozom v ČR. I vzhľadom ku skutočnosti, že produkcia kozieho mlieka, ktoré sa stále viac dostáva do popredia záujmu konzumentov a slúži i ako alternatíva pri intolerancii kravského mlieka, celosvetovo vzrástla od roku 2006 až o 2 5000 ton a ma stále mierne stúpajúcu tendenciu.

Vitamín A, retinol, patrí medzi lipofilné vitamíny a zohráva dôležitú úlohu pri videní, imunite, diferenciácii buniek a embryonálnom vývoji organizmu. Pojem vitamín A zahŕňa viacero molekúl s biologickou aktivitou, ale v mlieku sa nachádza hlavne vo forme retinyl esterov mastných kyselín, prevažne retinyl palmitátu. Kyselina retinová zodpovedá za všetky funkcie vitamínu A okrem videnia, kde hlavnú úlohu plní retinal. Vstrebávanie vitamínu i provitamínu v tenkom čreve je ovplyvnené množstvom tuku a žlče. Zhoršené vstrebávanie je u detí, starých ľudí, pro poruchách pankreasu a sekrécie žlče. Deficiencia vitamínu patrí medzi závažné nutričné ochorenia. Malnutricia sa prejavuje chronickými ochoreniami, malabsorpčnými syndrómami, cystickou fibrózou, a rôznymi očnými ochoreniami. Napríklad v roku 2005 trpelo xeroftalmiou (vysychanie spojivky a rohovky oka) 5,2 mil. detí v predškolskom veku a 9,8 mil. tehotných žien.

Doporučený denný príjem vitamínu je závislý na vekovej kategórii, najvyšší príjem by mal byť u dojčiacich žien. Denný referenčný príjem podľa Nariadenie EÚ č. 1169/2011 je stanovený 0,8 mg. Koncentrácia lipofilných vitamínov je funkciou obsahu tuku, a preto k ich zníženiu dochádza úmerne so znižovaním obsahu tuku v priebehu výroby nízkotučných mliečnych výrobkov. Z toho dôvodu je mlieko odtučnené a nízkotučné napríklad v Kanade povinne suplementované vitamínom A.

Z vyššie uvedeného vyplýva, že problematika príjmu vitamínu A potravou si vyžaduje našu pozornosť, a okrem iného i aktualizáciu jeho koncentrácie v mlieku dodávaného do mliekareň, resp. mlieka určenému k priamemu predaju.

## Materiál a metodika

Bazénové vzorky kravského mlieka boli odoberané v rokoch 2013 a 2014, bazénové vzorky kozieho mlieka boli

odoberané v rokoch 2013 - 2015 na vybraných farmách (n=10) v ČR. Plemenná príslušnosť dojníc na farmách (n=10) bola holštajn a ich kríženci, české strakaté, montbeliárd a u kôz - biela krátkosrstá a ich kríženci. U kravského mlieka bol taktiež sledovaný vplyv sezónnosti (4 odbery za jedno ročné obdobie) na koncentráciu retinolu a u mlieka kozieho vplyv doby laktácie (apríl - september, 3 odbery za mesiac). U oboch druhov prežúvavcov boli zastúpené konvenčné a EKO farmy rovnakým podielom.

K separácii bola využitá reverzná UHPLC technika s UV detektorom. Samotnej separácii predchádzala extrakcia retinolu. Proces extrakcie pozostával z priamej saponifikácie s metanolickým hydroxidom sodným a extrakcie kvapalina/ kvapalina do n-hexanu.

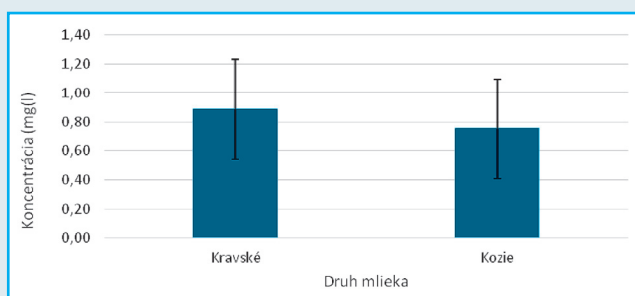
## Výsledky a diskusia

Charakteristickým znakom mliečného tuku malých prežúvavcov, v porovnaní s mliekom kravským je väčší podiel malých tukových guľčiek u malých prežúvavcov. Táto vlastnosť môže podporovať hypotézu o vyššej koncentrácii vitamínu A v mlieku malých prežúvavcov, ktorý je na mliečny tuk viazaný. Graf č.1 ukazuje priemerné koncentrácie retinolu v druhových mliekach. Hypotéza ale nebola potvrdená a kravské mlieko je lepším zdrojom vitamínu A než mlieko kozie. Koncentrácie retinolu v analyzovaných mliekach sú vyššie než udáva dostupná literatúra a štúdie zaoberajúce sa touto problematikou (0,3 - 0,65 mg/l). Rozdiely môžu byť vo veľkej miere ovplyvnené extrakciou i separáciou a taktiež plemenami, ktoré sú v daných krajinách chované. Endogénne (plemenná príslušnosť) i exogénne faktory sú zodpovedné za rozdielne koncentrácie nutričov v mlieku. Patrí medzi ne ročné obdobie, obdobie laktácie, environmentálne faktory, druh krmiva, fortifikácia krmiva i koncentrácie prekurzorov vitamínu a ich dostupnosť. Čerstvá pastva je najlepším zdrojom karotenoidov spomedzi bežne používaných krmív. Karotenoidy ( $\beta$ -karotén) je prekurzorom vitamínu A, a preto v mlieku v jarných obdobiach môže byť koncentrácia vitamínu A vyššia než v jesennom a zimnom období, pokiaľ nie je zachované rovnaké zloženie krmiva. Priemerné koncentrácie v jednotlivých ročných obdobiach sú uvedené v tabuľke č.1. V našej štúdií boli zaznamenané štatisticky významné rozdiely v mlieku kravskom v obdobiach leto/zima ( $P = 4,1 \cdot 10^{-5}$ ;  $P < 0,01$ ) a jeseň/zima ( $P = 3,1 \cdot 10^{-3}$ ;  $P < 0,01$ ).

Rozdiely koncentrácií retinolu u druhových mliek sa v našej štúdií štatisticky významne nelíšili, i keď koncentrácia v kozom mlieku je mierne nižšia (graf č.1). Ukázalo sa, že mlieko kravské patrí medzi najlepší zdroj retinolu o priemernej koncentrácii  $0,89 \pm 0,34$  mg/l.

**Tab. 1** Porovnanie koncentrácií vitamínu A v mlieku kravskom v jednotlivých ročných obdobiach

Parameter	Jar	Leto	Jeseň	Zima
Retinol (mg/l)	$0,91 \pm 0,06$	$0,86 \pm 0,05$	$0,77 \pm 0,04$	$1,01 \pm 0,06$



**Graf 1** Koncentrácia vitamínu A (mg/l ± SD) v kravskom a kozom mlieku

U mlieka kozieho bola pozorovaná variabilita vitamínu A v priebehu celej laktácie. Na grafe č. 2 je vidno zmeny koncentrácií v jednotlivých mesiacoch. Najvyššia koncentrácia bola zaznamenaná v júni a auguste a následne klesala. Tento jav okrem zmien v kŕmení (pastva vs kŕmenie koncentrované) môže súvisieť i so zasušovaním a prípravou organizmu na ďalšiu graviditu a laktáciu. Štatistickým porovnaním koncentrácie vitamínu A u fariem konvenčných a EKO neboli pozorované žiadne rozdiely.

## Záver

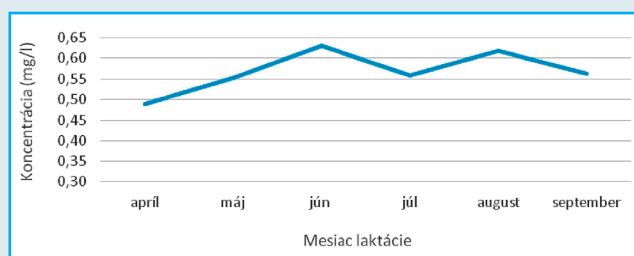
Vitamín A patrí k významným nutričným parametrom mlieka. Z pohľadu potravinových zdrojov tohoto vitamínu, patrí mlieko ako základná potrava k jeho najvýznamnejším zdrojom. Na základe stanovenia obsahu retinolu v mlieku kravskom a kozom je možno konštatovať, že 1 liter mlieka kravského, nakupovaného mliekárňami, resp. mlieka z priameho predaja obsahuje  $0,89 \pm 0,34$  mg/l retinolu (resp. u mlieka kozieho  $0,75 \pm 0,34$  mg/l).

## Podakovanie

Práca vznikla za finančnej podpory NAZV KUS QJ 1230044.

## Použitá literatúra

- EFSA (2013): Vitamin A and normal development and function of the immune system. *EFSA Journal*, 11, s. 1-11.
- HULSHOF, P. J. M., ROEKEL-JANSEN, T., BOVENKAMP, P., WEST, C. E. (2006): Variation in retinol and carotenoid content of milk and milk products in The Netherlands. *J. Food Compos. Anal.*, 19, s. 67-75.
- LIDÉN, M., ERISSON, U. (2006): Understanding retinol metabolism: structure and function of retinol dehydrogenases. *J. Biol. Chem.*, s.13001-13004.
- PARK Y.W. ET AL. (2007): Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rum Res*; 68, s. 88-113.
- PARK Y.W., HAENLEIN H.F.W. (2013): *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production: Production Composition and Health*. West Sussex, Wiley- Blackwell & Sons, 728 s. ISBN: 978-0-470-67418-5
- RAMALHO, H. M. M., SANTOS, J., CASAL S., ALVES, M. R., OLIVEIRA M. B. P. P. (2012): Fat soluble vitamin (A, D, E and  $\beta$ -carotene) contents from a Portuguese autochthonous cow breed-Minhota. *J. of Dairy Sci.*, 95, s. 5476-5484.
- Regulation (EC) No 1169/2011 of the European Parliament and of the Council of 25 October 2011 on the provision of food information to consumers. OJ L 304/18, 22.11.2011, s. 1-46.
- SAUVANT, P., GROLIER, P., AZAIS-BRAESCO V. (2002): Vitamin A, Nutritional significance. In Roginski, H., Foquay, J., W., Fox, P. F. *Encyclopedia of dairy sciences*. 2<sup>nd</sup> ed. London: Academic Press, s. 2657-2664. ISBN: 978-0-12-227235-6.



**Graf 2** Variabilita koncentrácie vitamínu A v priebehu celého laktáčného obdobia kôz

WEBER, P., BENDICH, A., MACHLIN, L. J. (1997): Vitamin E and human health: Rationale for determining recommended intake levels. *Nutrition*, 13, s. 450-460.

WHO, (2009): *Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005 (online)*. Staženo 15.01.2016. Dostupné z: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44110/1/9789241598019\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44110/1/9789241598019_eng.pdf)

Přijato do tisku 12. 1. 2016

Lektorováno 5. 2. 2016

## STANOVENÍ ŽIVOTASCHOPNÝCH LAKTOBACILŮ S VYUŽITÍM PROPIDIUM MONOAZIDU POMOCÍ qPCR

Andrea Mühlhansová, Šárka Horáčková,

Milada Plocková

Ústav mléka, tuků a kosmetiky,

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Andrea.Muhlhansova@vscht.cz

### Determination of viable lactobacilli using propidium monoazide and qPCR

#### Abstrakt

Byla optimalizována a testována kvantitativní polymerázová řetězová reakce s interkalačními barvivy propidium monoazidem (PMA) a ethidium monoazidem (EMA) pro stanovení pouze životaschopných laktobacilů. Byly hodnoceny podmínky metody jako je výběr barviva, koncentrace barviva, přídavek cholátu sodného a doba fotoindukce. Daná metoda PMA-qPCR byla porovnána s plotnovými metodami a qPCR bez použití propidium monoazidu. Pro *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus acidophilus* byl jako vhodné barvivo vybrán propidium monoazid o konečné koncentraci  $50 \text{ mmol l}^{-1}$  s přídavkem 0,5 % hm. cholátu sodného a dobou fotoindukce 15 minut pomocí LED lampy. Výsledky získané touto metodou byly ve větší shodě s výsledky z kultivačních metod než samotná qPCR.

**KLÍČOVÁ SLOVA:** propidium monoazid, qPCR, laktobacily