

- KUNG. L., SMITH M.L., DA SILVA E.B., WINDLE M.C., DA SILVA T.C., POLUKIS S.A. (2018): An evaluation of the effectiveness of a chemical additive based on sodium benzoate, potassium sorbate, and sodium nitrite on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.*, 101, (7), s. 5949–5960.
- MORADI S., HOSSEINI M., BERDIMURODOV E. (2025): The potential of *Bacillus subtilis*: innovative applications in energy harvesting and bio-sensing technologies. *Microchem. J.*, 216: 114633.
- MARCHESE. A., ORHAN I.E., DAGLIA M., BARBIERI R., DI LORENZO A., NABAVI S.F., GORTZI O., IZADI M., NABAVI S.M. (2016): Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chem.*, 210, s. 402–414.
- NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1129/2011 ze dne 11. listopadu 2011, kterým se mění příloha II nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 vytvořením seznamu potravinářských přídatných látek Unie.
- NIKOLOV A., GANCHEV D. (2011): In vitro antifungal examination of potassium sorbate towards some phytopathogenes. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 17, (2), s. 191–194.
- REINA-POSSO D., GONZALES-ZUBIATE F.A. (2025): Expanding Horizons: The Untapped Potential of *Kluyveromyces marxianus* in Biotechnological Applications. *Ferment.*, 11: 98.
- RUTENBERG R., BERNSTEIN S., FALLIK E., PASTER N., POVERENOV E. (2018): The improvement of propionic acid safety and use during the preservation of stored grains. *Crop Protection*, 110, s. 191–197.
- SHCHERBAKOVA L., MIKITYUK O., ARSLANOVA L., STAKHEEV A., EROKHIN D., ZAVRIEV S., DZHAVAKHIYA V. (2021): Studying the Ability of Thymol to Improve Fungicidal Effects of Tebuconazole and Difenoconazole Against Some Plant Pathogenic Fungi in Seed or Foliar Treatments. *Front. Microbiol.*, 12, s. 1–13.

Korespondující autor: Ing. Markéta Borková, Ph.D.
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a,
160 00 Praha 6, e-mail: borkova@milcom-as.cz

Přijato do tisku: 28. 7. 2025

Lektorováno: 22. 9. 2025

LYSOZYM A JEHO VÝZNAM V MLÉKAŘSTVÍ

Hana Nejeschlebová^{1,2}, Oto Hanuš¹, Marcela Klimešová¹, Eva Samková², Lucie Hasoňová², Lenka Vorlová³, Klára Bartáková³, Pavlína Navrátilová³

¹ Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha

² Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta zemědělská a technologická

³ Veterinární univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Lysozyme and its role in dairy production

Abstrakt

Lysozym je ubikvitární enzym s významnou antibakteriální aktivitou, který se vyskytuje u lidí, zvířat i rostlin. V mléce savců plní důležitou roli v nespecifické imunitní obraně, podporuje rozvoj střevní mikrobioty a chrání mléčnou žlázu před infekcí. Vysoké koncentrace lysozymu jsou přítomny v lidském, oslím, kobyším

a velbloudím mléce, zatímco v kravském, kozím a ovčím se nachází jen ve stopovém množství. V mlékárenské praxi se lysozym využívá především při výrobě sýrů jako přírodní konzervant, který inhibuje růst klostridií způsobujících pozdní duření. Přestože byly vyvinuty různé metody stanovení obsahu lysozymu, efektivní rutinní diagnostika v kravském mléce zůstává výzvou. Potenciální využití geneticky modifikovaných zvířat produkujících mléko s vyšším obsahem lysozymu otevírá možnosti pro inovace v kojenecké výživě a mlékárenské technologii.

Klíčová slova: lysozym, mléko, imunita, mastitida, mlékárenské zpracování, metody detekce

Abstract

Lysozyme is a ubiquitous enzyme with strong antibacterial activity, present in humans, animals, and plants. In mammalian milk, it plays an essential role in non-specific immune defense, supports intestinal microbiota development, and protects the mammary gland from infection. While human, donkey, mare, and camel milk contain high concentrations of lysozyme, only trace amounts are found in cow, goat and sheep milk. In dairy processing, lysozyme is primarily used as a natural preservative in cheese production to inhibit the growth of *Clostridium* species responsible for late blowing defects. Although various methods for lysozyme determination have been developed, efficient routine diagnostics in bovine milk remain challenging. The potential application of genetically modified animals producing milk with higher lysozyme concentrations offers new opportunities for infant nutrition and dairy technology.

Keywords: lysozyme, milk, immunity, mastitis, dairy processing, detection methods

Úvod

Před více než sto lety skotský lékař Alexander Fleming (1922) pozoroval, že kapka nosního sekretu způsobuje lyzi koků *Kocuria rhizophila* (dříve *Micrococcus lyso-deikticus*). Následnými pokusy zjistil, že látka s lytickou aktivitou je přítomna nejen v dalších lidských tělních tekutinách (krevní sérum, sliny, sputum, slzy, peritoneální tekutina, sperma, semenná tekutina či hnis) a tkáních, ale také u jiných savců (pes, králík, morče), ve slepičím bílku a dokonce i u rostlin (tuřín). Fleming tuto látku pojmenoval jako lysozym.

Dnes je lysozym znám jako ubikvitární enzym vyskytující se u lidí, zvířat, rostlin, hub, bakterií i bakteriofágů (Ghosh a kol., 2018). Strukturou se jedná o malý monomerní protein, stabilizovaný čtyřmi disulfidickými můstky mezi osmi cysteinovými zbytky svého řetězce (Canfield a Liu, 1964). Na základě rozdílů v primární a terciární struktuře byly u živočichů identifikovány tři hlavní typy lysozymu, typ c (kuřecí – chicken), typ g (husí – goose) a typ i (bezobratlí – invertebrate). Lysozym typu c se

Tab. 1 Vlastnosti různých typů lysozymu

Lysozym	Hlavní zdroj	Počet aminokyselin	Molekulová hmotnost (kDa)
Lysozym c , reprezentován lysozymem ze slepičího vaječného bílku	většina obratlovců včetně savců	129	11–15
Lysozym g , reprezentován lysozymem z husího vaječného bílku	ptáci (husa, černá labuť, pštros kasuár a nandu)	185	20–22
Lysozym i , reprezentován lysozymem z mořského mlže <i>Tapes japonica</i>	bezobratlí	123	11–15

Upraveno dle Khorshidian a kol., 2022

vyskytuje převážně u strunatců a různých tříd členovců. Lysozym typu g se vyskytuje u strunatců a některých mlžů. Lysozym i se vyskytuje u bezobratlých (Khorshidian a kol., 2022). Platí, že v témže živočišném druhu mohou být současně přítomny různé typy lysozymů, které mají odlišné enzymatické a biochemické vlastnosti a mohou mít různé nebo doplňkové funkce (Callewaert a Michiels, 2010). Vlastnosti jednotlivých typů lysozymu uvádí tabulka 1. Lysozym ze slepičího vaječného bílku (lysozym c), jehož řetězec se skládá ze 129 aminokyselin, je pro svůj vysoký obsah [(3,5 % ve vaječném bílku, tj. cca 3,5 g; (Cegielska-Radziejewska a kol., 2008)] a snadnou dostupnost používán jako modelový protein ve strukturální biologii a enzymologii (Ramos a kol., 2025).

Antibakteriální aktivita lysozymu

Lytickou aktivitu lysozymu Fleming (1922) pozoroval většinou vůči grampozitivním bakteriím, zatímco gramnegativní bakterie na jeho působení citlivé nebyly. Uvedené objasnil v 60. letech (Blake a kol., 1967) tým britského vědce Davida C. Philipse, dnes považovaného za jednoho ze zakladatelů strukturální biologie. Jejich objev ukázal, že mechanismus lytické aktivity lysozymu spočívá ve schopnosti narušovat buněčnou stěnu bakterií štěpením beta-1,4-glykosidické vazby mezi N-acetylmuramovou kyselinou a N-acetylglukosaminem v peptidoglykanu. Rozdílná účinnost vůči grampozitivním a gramnegativním bakteriím je dána odlišnou stavbou jejich buněčné stěny. Buněčná stěna grampozitivních bakterií (Khorshidian a kol., 2022) je tvořena silnou vrstvou peptidoglykanu a na rozdíl od gramnegativních bakterií postrádá vnější membránu. Díky tomu je snadno přístupná působení lysozymu, který katalyzuje štěpení peptidoglykanu. Následkem tohoto štěpení dochází ke ztrátě buněčné integrity, lýze bakteriální buňky a nakonec k její smrti. Naopak účinnost lysozymu vůči gramnegativním bakteriím, které mají vnější membránu, je nízká, a její zvýšení vyžaduje buď permeabilizaci vnější membrány, nebo kombinaci s dalšími faktory. Prokázán byl například synergický efekt jeho kombinace s laktoferinem při destrukci těchto mikroorganismů (Cheng a kol., 2017). Další zvýšení účinku lze dosáhnout také aplikací fyzikálních metod, jako je vysoký hydrostatický tlak či pulzní elektrické pole, nebo využitím chemických přístupů, například chelatačních činidel, bakteriocinů či organických kyselin (Khorshidian a kol., 2022).

Význam lysozymu pro mlád'ata savců

Lysozym představuje významnou nespecifickou imunologickou složku mléka, která přispívá k ochraně a celkovému zdraví mláďat savců. Jeho účinky zahrnují obranu proti patogenním mikroorganismům, podporu růstu prospěšné střevní mikrobioty a napomáhají také rozvoji a maturaci střevního traktu (Lönnerdal, 2003).

Zatímco ve zralém lidském mléce byla zjištěna koncentrace lysozymu v rozmezí 24 až 245 mg/l (Goldman a kol., 1982) nebo dokonce až 890 mg/l (Montagne a kol., 2001), v kravském mléce byly zjištěny hodnoty jen 0,05 až 0,22 mg/l (Piccinini a kol., 2005). Podobně nízké hodnoty byly zjištěny v kozím a ovčím mléce (Chandan a kol., 1968). Naopak mléko oslí (Polidori a Vincenzetti, 2013), velbloudí (Miao a kol., 2023) a kobyli (Cieslak a kol., 2017) obsahují lysozym v podobných koncentracích jako lidské mléko. Přehled obsahu lysozymu v mléce různých druhů uvádí tabulka 2.

Vzhledem k významu lysozymu v mléce pro novorozence byly v rámci snah o napodobení ochranných funkcí mateřského mléka provedeny pokusy, při nichž byl gen kódující lidský lysozym metodami genetického inženýrství vložen do genomu koz (Maga a kol., 2006) a skotu (Lu a kol., 2016). Transgenní zvířata následně produkovala mléko s podobnou koncentrací lysozymu jako lidské mateřské mléko. Tento přístup má potenciál pro využití v kojenecké výživě, a to zejména v případech, kdy kojeneček nemůže z různých důvodů přijímat mateřské mléko. Výhodou představuje také snížené riziko alergenicity ve srovnání s přímým přidavkem slepičího lysozymu do kojenecké výživy (Lu a kol., 2016).

Význam lysozymu pro zdraví mléčné žlázy

Přestože je v kravském mléce lysozym přítomen pouze ve stopových množstvích, a navíc je méně aktivní ve srovnání např. s lysozymem slepičího bílku [specifická aktivita 0,35 vs. 1 u lysozymu slepičího vaječného bílku; (Chandan a kol., 1965)], hraje pro organismus dojnice zásadní roli, neboť se řadí k obranným faktorům mléčné žlázy před infekcí. Řada studií popsala nárůst obsahu lysozymu v mléce při klinické i subklinické mastitidě dojníc (Carlsson a kol., 1989; Osman a kol., 2010; Litwińczuk a kol., 2011). Carlsson a kol. (1989) popsali nárůst lysozymu v mléce dojníc při mastitidě experimentálně vyvolané aplikací endotoxinu

Tab. 2 Obsah lysozymu v mléce různých druhů

Druh mléka	Koncentrace lysozymu [mg/l]	Metoda stanovení	Poznámka	Reference
Lidské	240–890	mikročástečemi zesílený nefelometrický imunotest		Montagne a kol., 2001
	20–30 až 200–300	elektroimunodifúze	výrazný pokles ve 2. až 4. týdnu laktace, poté růst, od 6. měsíce stabilní hodnoty 200–300 mg/l	Goldman a kol., 1982
	29–96	RP-HPLC-UV-ESI-Q-TOF	vzorky od 3. do 14. měsíce laktace	Jaeser a kol., 2022
Kravské	0,05–0,22	turbidimetrie s lýzou <i>Kocuria rhizophila</i>	holštýnský skot, čtvrt'ové vzorky mléka, měřeno od 7. do 75. dne laktace, nejnižší obsah ve 14. dni laktace (0,05 mg/l)	Piccinini a kol., 2005
	0,0050–0,0115 ¹⁾	RP HPLC	¹⁾ holštýnský skot, ²⁾ simentálský skot	Litwinczuk a kol., 2011
	0,0080–0,0124 ²⁾		individuální vzorky mléka, nejnižší obsah ve skupině s PSB ≤ 100 000 tis./ml, nejvyšší s PSB od 501 tis./ml do 1 000 tis./ml	
Koží	0,25	turbidimetrie s lýzou <i>Kocuria rhizophila</i>		Chandan a kol., 1968
Ovčí	0,10	turbidimetrie s lýzou <i>Kocuria rhizophila</i>		Chandan a kol., 1968
Osí	1 969–1 973	UHPLC	individuální vzorky, měřeno od 58. do 62. dne laktace	Nayak a kol., 2020
	760–1 340	RP HPLC se SDS-PAGE a N-terminální analýzou	individuální vzorky, měřeno 60., 90., 120., 160. a 190. den laktace	Polidori a Vincenzetti, 2013
Velbloudí	8,7–22,8	turbidimetrie s lýzou <i>Kocuria rhizophila</i>	směsné vzorky mléka	Miao a kol., 2023
Kobyli	1 040–1 340	RP HPLC	od 5. do 15. týdne laktace, nejvyšší obsah v 5. týdnu laktace (1 340 mg/l), rozdíl mezi plemeny	Cieslak a kol., 2016

RP HPLC = vysokoučinná kapalinová chromatografie na reverzní fázi; UHPLC = ultra vysokotlaká kapalinová chromatografie; RP-HPLC-UV-ESI-Q-TOF = HPLC s detekcí v ultrafialové oblasti a elektrosprejovou ionizačně kvadrupólovou hmotnostní spektrometrií s časem letu

Escherichia coli. Litwinczuk a kol. (2011) stanovovali obsah lysozymu u holštýnského a simentálského skotu. U holštýnského skotu zjistili nejnižší obsah lysozymu $0,005 \pm 0,0002$ mg/l pro skupinu dojnic s počtem somatických buněk (PSB) do 100 tis./ml, a to v letním období. Nejvyšší obsah lysozymu $0,012 \pm 0,0004$ mg/l byl zjištěn u skupiny s PSB 501 tis./ml až 1 000 tis./ml, taktéž v letním období. Mezi letním a zimním obdobím byly zjištěny malé rozdíly obsahu lysozymu ve všech skupinách PSB. Podobných výsledků bylo dosaženo pro simentálský skot. Lysozym by tak mohl mít význam jako indikátor mastitidy.

Možnosti stanovení obsahu lysozymu v mléce

Ke stanovení obsahu lysozymu v mléce byla popsána řada metod, nejčastěji se jednalo o různé modifikace turbidimetrické metody s *Kocuria rhizophila* (Goldman a kol., 1982; Montagne a kol., 2001; Piccinini a kol., 2005), různé typy vysoce účinné kapalinové chromatografie (Litwinczuk a kol., 2011; Nayak a kol., 2020; Jaeser a kol., 2022) a imonoenzymatickou analýzu (Kaiser a kol., 2017; Jandová a kol., 2025), tedy metody časově či finančně náročné. Pro rychlé rutinní stanovení mléčných složek je v současných laboratořích pro kontrolu užitkovosti a zpeněžování mléka využívána infračervená spektroskopie ve střední oblasti s Fourierovou transformací (MIR-FT). Hlavní výhodou této metody je možnost stanovit současně několik parametrů v rámci analýzy jednoho vzorku. Kromě rutinně využívaných kalibrací pro stanovení základních složek mléka, byla popsána i řada efektivních kalibrací pro minoritní složky [např. močovina (Hanuš

a kol., 2009); mastné kyseliny (Soyeurt a kol., 2006), ketolátky (van Kneysel a kol., 2010)] včetně imunitně významného proteinu laktoferinu (Soyeurt a kol., 2007, 2012). Laktoferin má ve srovnání s lysozymem přibližně šestkrát větší molekulovou hmotnost [laktoferin: 80 kDa (Giansanti a kol., 2016) vs. lysozym: 14 kDa (Jolles a kol., 1984)], pětkrát delší řetězec [laktoferin: 696 aminokyselin (Giansanti a kol., 2016) vs. lysozym: 129 aminokyselin (Jolles a kol., 1984)] a zejména v kravském mléce je přítomen v desetinasobném až stonásobném množství. Nabízí se tak otázka, zda je možné vytvořit dostatečně efektivní kalibrační model také pro stanovení lysozymu v kravském mléce. Autory zatím jediné nám známé práce zabývající se stanovením lysozymu v kravském mléce metodou MIR-FT jsou Hanuš a kol. (2025). Kalibrační sada v této práci obsahovala 90 vzorků mléka, pro sestavení modelu bylo použito 9 hlavních komponent a bylo dosaženo koeficientu determinace křížové validace 0,257. Nízká hodnota koeficientu ukázala na nepříliš efektivní kalibraci, spíše se jednalo pouze o velmi přibližný odhad hodnoty obsahu lysozymu. Nepříznivé výsledky nejspíše souvisí se stopovým množstvím lysozymu v mléce. Předchozí práce se doposud zabývaly zejména analýzou vodných roztoků o vysoké koncentraci lysozymu různými typy infračervené spektroskopie. Touto metodou (Caccamo a Magazù, 2022) byla již například popsána analýza vodných roztoků lysozymu bez a s přidávkou polyethylenglykolu během zvyšování teploty a následně během jejího snižování s cílem demonstrovat bioprotektivní roli polyethylenglykolu. Stejně tak byla (Venkataramani a kol., 2013) metodou MIR-FT měřena tepelná stabilita lysozymu (200 mg/ml) slepičího bílku. Za účelem stu-

dia tepelné stability (Howell a Li-Chan, 1996) materiálů v potravinářství byly Ramanovou spektroskopií studovány strukturální změny směsi bovinní syrovátky s α -laktalbuminem, β -laktoglobulinem a lysozymem slepičích vajec (15 % w/v v D₂O). Dále Chiarin a kol. (2023) hodnotili různé metody infračervené spektroskopie v blízké oblasti (NIR; FoodScan, NIRS DS2500 a SCiO) k detekci přídavku lysozymu do mléka (2,5 g na 100 kg mléka) při výrobě sýru Grana Padano. NIR-analizátory vykazaly sensitivitu 0,60 (FoodScan), 0,69 (NIRS DS2500) a 0,54 (SCiO). To znamená, že nejlepší metoda (NIRS DS2500) byla schopná správně rozpoznat přítomnost lysozymu v 69 % případů. V kontextu potravinářské analýzy tak lze tyto výsledky považovat spíše za možnost orientačního stanovení.

Lysozym a jeho hydrolyzát: využití, legislativa a bezpečnost

V mlékárenském zpracování se lysozym využívá především jako přírodní konzervant při výrobě sýrů. Inhibuje růst plyn produkujících druhů rodu *Clostridium*, které způsobují vadu známou jako pozdní duření sýrů. Použití lysozymu z bílku slepičích vajec (E1105) při výrobě zrajících sýrů povoluje nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách, v platném znění, a to dle zásady *quantum satis*. Lysozym účinně působí proti vegetativním buňkám klostridií v mléce. Díky svému kladnému náboji při pH mléka se váže na záporně nabitý kasein a zůstává tak zachycen v sýřenině, přičemž tato vazba zůstává zachována i během zrání sýra (Bioseutica, 2025). Bezpečnostní hodnocení lysozymu Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (Lambré a kol., 2023) uvádí jako jediné riziko použití možnou alergickou reakci u citlivých jedinců. Další variantu využití lysozymu proti pozdnímu duření tvrdých sýrů popsali Adduci a kol. (2019), a to přídavek oslího mléka, které, jak již bylo zmíněno, se řadí k druhům mlék s vysokým obsahem lysozymu. Tato aplikace tak nepředstavuje riziko alergie v souvislosti s lysozymem z vaječného bílku.

V posledních letech byl vyvinut také enzymatický hydrolyzát lysozymu, který je zařazen na unijní seznam potravin nového typu dle prováděcího nařízení Komise (EU) 2018/991. Přípravuje se ze slepičího vaječného bílku enzymatickou hydrolyzou subtilisinem (*Bacillus licheniformis*). Stupeň přeměny na peptidy přesahuje 99 %, takže množství reziduálního nativního lysozymu je zanedbatelné. Hydrolyzát je určen zejména pro doplňky stravy a obohacené potraviny (např. nealkoholické nápoje), kde se uplatňuje obsah bioaktivních peptidů bohatých na tryptofan s vyšší biologickou dostupností. Z pohledu bezpečnosti byla potvrzena netoxicitá i absence mutageních účinků, na obalu však musí být uvedena přítomnost vajec jako alergenu (Food Safety Authority of Ireland, 2017).

Závěr

Lysozym je významnou bioaktivní složkou mléka s širokým spektrem účinků, které se promítají jak do ochrany zdraví mláďat savců, tak do prevence onemocnění mléčné žlázy. Přestože je jeho koncentrace v kravském mléce nízká, výzkumy potvrzují jeho funkční význam při mastitidách a naznačují možnost využití jako indikátoru zdravotního stavu mléčné žlázy. V mlékárenském průmyslu má lysozym nezastupitelnou úlohu jako přírodní konzervant při výrobě sýrů a jeho používání je legislativně ukotveno i bezpečnostně prověřeno. V posledních letech byl navíc vyvinut enzymatický hydrolyzát lysozymu, který je zařazen mezi potraviny nového typu a představuje inovativní zdroj bioaktivních peptidů s potvrzenou bezpečností použití. Pokusy o zvýšení obsahu lysozymu v mléce prostřednictvím genetických modifikací ukazují perspektivní směr zejména v oblasti náhradní kojenecké výživy. Z hlediska analytiky však zůstává stanovení lysozymu v kravském mléce metodou vhodnou pro rutinní praxi nadále otevřenou výzvou.

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektů MZe NAZV ZEMĚ QK21010326 a MZe RO 1425.

Seznam literatury

- ADDUCI F., ELSHAFIE H.S., LABELLA C., MUSTO M., FRESCHI P., PAOLINO R., RAGNI M., COSENTINO C. (2019): Abatement of the clostridial load in the teats of lactating cows with lysozyme derived from donkey milk. *J. Dairy Sci.*, 102, (8), s. 6750–6755.
- BIOSEUTICA (2025): *Lysozac, Lysozyme formulated for cheese making* (on-line). Dostupné z: <https://www.bioseutica.com/lysozac-lysozyme-formulated-cheese-making>
- BLAKE C., JOHNSON L.N., MAIR G.A., NORTH A.C., PHILLIPS D.C., SARMA V.R. (1967): Crystallographic studies of the activity of hen egg-white lysozyme. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 167, (1009), s. 378–388.
- CACCAMO M.T., MAGAZÙ S. (2022): Multiscale spectral analysis on lysozyme aqueous solutions in the presence of polyethylene glycol. *Molecules*, 27, (24), 8760.
- CALLEWAERT L., MICHELIS C. W. (2010): Lysozymes in the animal kingdom. *J. Biosci.* 35, (1), s. 127–160.
- CANFIELD R.E., LIU A. K. (1964): Disulfide bonds of egg white lysozyme (muramidase). *J. Biol. Chem.*, 240, (5), s. 1997–2002.
- CARLSSON Å., BJÖRCK L., PERSSON K. (1989): Lactoferrin and lysozyme in milk during acute mastitis and their inhibitory effect in Delvotest P. *J. Dairy Sci.*, 72, (12), s. 3166–3175.
- CEGIELSKA-RADZIEJEWSKA R., LESNIEWSKI G., KIJOWSKI J. (2008): Properties and application of egg white lysozyme and its modified preparations – A review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 58, (1), s. 5–10.
- GIESLAK J., WODAS L., BOROWSKA A., SADOCH J., PAWLAK P., PUPPEL K., KUCZYŃSKA B., MACKOWSKI M. (2017): Variability of lysozyme and lactoferrin bioactive protein concentrations in equine milk in relation to LYZ and LTF gene polymorphisms and expression. *J. Sci. Food. Agric.*, 97, (7), s. 2174–2181.
- FLEMING A. (1922): Observations on a bacteriolytic substance ("lysozyme") found in secretions and tissues. *Br. J. Exp. Pathol.*, 3, (5), s. 252–260.
- FOOD SAFETY AUTHORITY OF IRELAND (2017): *Safety Assessment of LumiVida® (Hen Egg White Lysozyme Hydrolysate)* (on-line). Staženo 7. 10. 2025. Dostupné z: https://www.fsai.ie/getattachment/c952ce77-2890-4d6e-aaf2-6e036a646caf/2017-lumivida-%28hen-egg-white-lysozyme-hydrolysate%29.pdf?lang=en-IE&utm_source.com 8 s.

- GHOSH S., KHAN N.I., TSAVALAS J.G., SONG E. (2018): Selective detection of lysozyme biomarker utilizing large area chemical vapor deposition-grown graphene-based field-effect transistor. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 6, 29.
- GIANSANTI F., PANELLA G., LEBOFFE L., ANTONINI G. (2016): Lactoferrin from milk: Nutraceutical and pharmacological properties. *Pharmaceuticals*, 9, (4), 61.
- GOLDMAN A.S., GARZA C., NICHOLS B.L., GOLDBLUM R.M. (1982): Immunologic factors in human milk during the first year of lactation. *J. Pediatr.*, 100, (4), s. 563–567.
- HANUŠ O., GENČUROVÁ V., JEDELSKÁ R., ŠTOLC L., KLÍMOVÁ Z., MOTYČKA Z., KOPECKÝ J. (2009): Validace a nejistoty měření koncentrace močovin a bodu mrznutí mléka metodou infračervené spektroskopie (MIR-FT) pro laboratoře kvality mléka. *Výzkum v chovu skotu*, 186, (2), s. 40–53.
- HANUŠ O., NEJESCHLEBOVÁ H., KLIMEŠOVÁ M., KOPECKÝ J., JEDELSKÁ R., NEJESCHLEBOVÁ L. (2025): Postup rychlého aproximačního odhadu obsahu lysozymu v mléce rutinní metodou infračervené spektrometrie (CM47). ISBN 978-80-88390-15-2.
- HOWELL N., LI-CHAN E. (1996): Elucidation of interactions of lysozyme with whey proteins by Raman spectroscopy. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 31, (5), s. 439–451.
- CHANDAN R.C., PARRY R.M., SHAHANI K.M. (1968): Lysozyme, lipase, and ribonuclease in milk of various species. *J. Dairy Sci.*, 51, (4), s. 606–607.
- CHANDAN R.C., PARRY R.M., SHAHANI K.M. (1965): Purification and some properties of bovine milk lysozyme. *BBA – Enzymol. Biol. Oxid.*, 110, (2), s. 389–398.
- CHENG W.D., WOLD K.J., BENZONI N.S., THAKWALAKWA C., MALETA K.M., MANARY M.J., TREHAN I. (2017): Lactoferrin and lysozyme to reduce environmental enteric dysfunction and stunting in Malawian children: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 18, (1), 523.
- CHIARIN E., NIERO G., CASSANDRO M., DE MARCHI M., PENASA M. (2023): Application of UV-visible and near-infrared spectroscopies for the assessment of lysozyme addition, season of production and cow feeding in Grana Padano PDO cheese. *Int. Dairy J.*, 142, 105642.
- JAESER M., MOECKEL U., WEIGEL K., HENLE T. (2022): Natural association of lysozyme and casein micelles in human milk. *J. Agric. Food Chem.*, 70, (5), s. 1652–1658.
- JANDOVÁ M., FIŠEROVÁ M., PATEROVÁ P., MĚŘIČKA P., MALÝ J., KACEROVSKÝ M., KOVÁŘIKOVÁ E., STROHALM J., DEMNEROVÁ K., KADAVÁ J., SYKOROVÁ H., HYŠPLER R., TICHÁ A., ČÍŽKOVÁ D., HOUSKA M., BEZROUK A. (2025): Effect of pasteurisation and high-pressure processing on selected bioactive components in human milk – An experimental study. *Czech J. Food Sci.*, 43, (3), s. 170–178.
- JOLLÈS P., SCHOENTGEN F., JOLLÈS J., DOBSON D.E., PRAGER E.M., WILSON A.C. (1984): Stomach lysozymes of ruminants. II. Amino acid sequence of cow lysozyme 2 and immunological comparisons with other lysozymes. *J. Biol. Chem.*, 259, (18), s. 11617–11625.
- KAISER G.G., MUCCI N.C., GONZÁLEZ V., SÁNCHEZ L., PARRÓN J.A., PÉREZ M.D., CALVO M., ALLER J.F., HOZBOR F.A., MUTTO A.A. (2017): Detection of recombinant human lactoferrin and lysozyme produced in a bitransgenic cow. *J. Dairy Sci.*, 100, (3), s. 1605–1617.
- KHORSHIDIAN N., KHANNIRI E., KOUSHKI M.R., SOHRABVANDI S., YOUSEFI M. (2022): An overview of antimicrobial activity of lysozyme and its functionality in cheese. *Front. Nutr.*, 9, 833618.
- LAMBRÉ C., BARAT BAVIERA J.M., BOLOGNESI C., COCCONCELLI P.S., CREBELLI R., GOTT D.M., GROB K., LAMPI E., MENGELERS M., MORTENSEN A., RIVIÈRE G., STEFFENSEN I., TLUSTOS C., VAN LOVEREN H., VERNIS L., ZORN H., ANDRYSZKIEWICZ M., KOVALKOVICOVA N., LIU Y., DI PIAZZA G., DE SOUSA R.F., CHESSON A. (2023): Safety evaluation of the food enzyme lysozyme from hens' eggs. *EFSA Journal*, 21, (4), 7918.
- LITWIŃCZUK Z., KRÓL J., BRODZIAK A., BARŁOWSKA J. (2011): Changes of protein content and its fractions in bovine milk from different breeds subject to somatic cell count. *J. Dairy Sci.*, 94, (2), s. 684–691.
- LÖNNERDAL B. (2003): Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am. J. Clin. Nutr.*, 77, (6), s. 1537S–1543S.
- LU D., LIU S., DING F., WANG H., LI J., LI L., DAI Y., LI N. (2016): Large-scale production of functional human lysozyme from marker-free transgenic cloned cows. *Sci. Rep.*, 6, (1), 22947.
- MAGA E.A., CULLOR J.S., SMITH W., ANDERSON G.B., MURRAY J.D. (2006): Human lysozyme expressed in the mammary gland of transgenic dairy goats can inhibit the growth of bacteria that cause mastitis and the cold-spoilage of milk. *Foodborne Pathog. Dis.*, 3, (4), s. 384–392.
- MIAO J., XIAO S., WANG J. (2023): Comparative study of camel milk from different areas of Xinjiang province in China. *Food Sci. Anim. Resour.*, 43, (4), s. 674–684.
- MONTAGNE P., CUILLIÈRE M.L., MOLÉ C., BÉNÉ M.C., FAURE G. (2001): Changes in lactoferrin and lysozyme levels in human milk during the first twelve weeks of lactation. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 501, s. 241–247.
- NAYAK C.M., RAMACHANDRA C.T., NIDONI U., HIREGOUDAR S., RAM J., NAIK N. (2020): Physico-chemical composition, minerals, vitamins, amino acids, fatty acid profile and sensory evaluation of donkey milk from Indian small grey breed. *J. Food Sci. Technol.*, 57, (8), s. 2967–2974.
- OSMAN K.M., HASSAN H.M., IBRAHIM I.M., MIKHAIL M.M.S. (2010): The impact of staphylococcal mastitis on the level of milk IL-6, lysozyme and nitric oxide. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.*, 33, (1), s. 85–93.
- PICCININI R., BINDA E., BELOTTI M., CASIRANI G., ZECCONI A. (2005): Comparison of blood and milk non-specific immune parameters in heifers after calving in relation to udder health. *Vet. Res.*, 36, (5–6), s. 747–757.
- POLIDORI P., VINCENZETTI S. (2013): Use of donkey milk in children with cow's milk protein allergy. *Foods*, 2, (2), s. 151–159.
- RAMOS J., LAUX V., MASON S.A., LEMÉE M.H., BOWLER M.W., DIEDERICHS K., HAERTLEIN M., FORSYTH V.T., MOSSOU E., LARSEN S., LANGKILDE A.E. (2025): Structure and dynamics of the active site of hen egg-white lysozyme from atomic resolution neutron crystallography. *Structure*, 33, (1), s. 136–148.
- SOYEURT H., BASTIN C., COLINET F.G., ARNOULD V.M.R., BERRY D.P., WALL E., DEHARENG F., NGUYEN H.N., DARDENNE P., SCHEFERS J., VANDENPLAS J., WEIGEL K., COFFEY M., THÉRON L., DETILLEUX J., REDING E., GENGLER N., MCPARLAND S. (2012): Mid-infrared prediction of lactoferrin content in bovine milk: potential indicator of mastitis. *Animal*, 6, (11), s. 1830–1838.
- SOYEURT H., COLINET F.G., ARNOULD V.M.R., DARDENNE P., BERTOZZI C., RENAVILLE R., PORTETELLE D., GENGLER N. (2007): Genetic variability of lactoferrin content estimated by mid-infrared spectrometry in bovine milk. *J. Dairy Sci.*, 90, (9), s. 4443–4450.
- SOYEURT H., DARDENNE P., GILLON A., CROQUET C., VANDERICK S., MAYERES P., BERTOZZI C., GENGLER N. (2006): Variation in fatty acid contents of milk and milk fat within and across breeds. *J. Dairy Sci.*, 89, (12), s. 4858–4865.
- VAN KNEGSEL A.T.M., VAN DER DRIFT S.G.A., HORNEMAN M., DE ROOS A.P.W., KEMP B., GRAAT E.A.M. (2010): Short communication: Ketone body concentration in milk determined by Fourier transform infrared spectroscopy: Value for the detection of hyperketonemia in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 93, (7), s. 3065–3069.
- VENKATARAMANI S., TRUNTZER J., COLEMAN D. (2013): Thermal stability of high concentration lysozyme across varying pH: A Fourier Transform Infrared study. *J. Pharm. Bioallied Sci.*, 5, (2), s. 148–153.

Korespondující autor:

Mgr. Hana Nejeschlebová

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6

email: hana.nejeschlebova@seznam.cz

Přijato do tisku: 7. 9. 2025

Lektorováno: 4. 10. 2025