

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2018

Martina Tůmová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Stanovení vybraných chemických vlastností náhrad mateřského mléka

Martina Tůmová

Bakalářská práce

2018

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Martina Tůmová**
Osobní číslo: **C15105**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Název tématu: **Stanovení vybraných chemických vlastností náhrad
mateřského mléka**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování:

Vypracujte literární rešerši:

1. V teoretické části vysvětlíte výrobu a složení náhrad mateřského mléka (tzv. umělého mléka). Dále popište rozdíly mezi mateřským mlékem a náhradami a charakterizujte analytické metody, které se používají na stanovení složek mléka.
2. V experimentální části stanovte vybrané vlastnosti náhrad mateřského mléka a porovnejte je s vlastnostmi mateřského mléka.
3. Získané výsledky kriticky zhodnoťte a porovnejte s literaturou.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Tomáš Hájek, Ph.D.

Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **20. února 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2018

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma *Stanovení vybraných chemických vlastností náhrad mateřského mléka* vypracovala samostatně a použila jsem pouze citované prameny, které uvádím v příloženém seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce, jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnici Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Martina Tůmová

Poděkování

Ráda bych poděkovala mému vedoucímu práce Ing. Tomáši Hájkovi Ph.D za veškerou pomoc při vypracování této práce. A dále potom všem maminkám, které mi poskytli vzorky umělé kojenecké stravy a vzorky mateřského mléka.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá složením mateřského mléka a jeho náhrad, tedy umělé kojenecké výživy. V teoretické části práce je popsán vznik mateřského mléka a složení mateřského mléka, dále obsahuje informace o umělé kojenecké výživě, jejím složení, rozdělení do základních skupin a výrobu. V experimentální části bylo provedeno stanovení vybraných chemických vlastností mateřského mléka a náhrad mateřského mléka, jako je obsah tuků, cukrů, bílkovin nebo vápníku. Získané výsledky byly porovnány jak mezi sebou, tak byly konfrontovány s platnou legislativou.

KLÍČOVÁ SLOVA

Mateřské mléko, umělá kojenecká výživa, tuky, sacharidy, bílkoviny, vápník

TITLE

Determination of selected chemical properties of breast milk substitutes

ANNOTATION

This bachelor thesis deals with the chemical composition of breast milk and breast milk substitutes. The composition and creation of breast milk, the composition, production and division into groups of artificial infant nutrition are described in the theoretical part of this thesis. In experimental part the determination of selected chemical properties of breast milk and breast milk substitutes such as fat, sugars, proteins or calcium was investigated. The results were compared between themselves and were confronted with valid legislation.

KEYWORDS

Breast milk, breast-milk substitutes, fat, carbohydrates, proteins, calcium

SEZNAM ZKRATEK

DDD – doporučená denní dávka

HDL – Vysokodenzitní lipoprotein

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie

HPLC – RI – vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detektorem měřící index lomu látek

HPLC – MS/MS – vysokoúčinná kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií

IgA – imunoglobulin A

IgG – Imunoglobulin G

IgM – Imunoglobulin M

LDL – Nízkodenzitní lipoprotein

MM – Mateřské mléko

UM – Umělé mléko

Obsah

1	Úvod	12
2	Teoretická část	13
2.1	Mateřské mléko	13
2.2	Druhy mateřského mléka	13
2.2.1	<i>Mlezivo neboli kolostrum</i>	13
2.2.2	<i>Přechodné mléko</i>	14
2.2.3	<i>Zralé mateřské mléko</i>	14
2.3	Složení mateřského mléka	14
2.3.1	<i>Voda</i>	16
2.3.2	<i>Bílkoviny</i>	16
2.3.3	<i>Tuky</i>	17
2.3.4	<i>Sacharidy</i>	18
2.3.5	<i>Vitamíny</i>	18
2.3.6	<i>Minerální látky</i>	18
2.3.7	<i>Ostatní složky mateřského mléka</i>	20
2.4	Umělá výživa	20
2.5	Rozdíly mezi umělým a kravským mlékem	21
2.6	Rozdělení náhrad mateřského mléka	22
2.6.1	<i>Počáteční mléka</i>	22
2.6.2	<i>Pokračovací mléka</i>	23
2.6.3	<i>Batolecí mléka</i>	23
2.6.4	<i>Speciální mléka</i>	23
2.7	Výroba kojenecké výživy	24
2.8	Legislativa	25
2.9	Možnosti stanovení základních vlastností MM a UM	26
2.9.1	<i>Stanovení sušiny</i>	26
2.9.2	<i>Stanovení vápníku</i>	26
2.9.3	<i>Stanovení sacharidů podle Fehlinga</i>	27
2.9.4	<i>Stanovení tuku podle Röse – Gottlieba</i>	28
2.9.5	<i>Stanovení bílkovin podle Kjeldahla</i>	28
3	Experimentální část	30
3.1	Přístroje a zařízení	30
3.2	Chemikálie a standardy	31

3.3	Vzorky	32
3.4	Pracovní postupy	32
3.4.1	<i>Příprava vzorků</i>	32
3.4.2	<i>Příprava Chelatonu 3</i>	32
3.4.3	<i>Stanovení sušiny</i>	32
3.4.4	<i>Stanovení vápníku</i>	33
3.4.5	<i>Stanovení sacharidů podle Fehlinga</i>	33
3.4.6	<i>Stanovení tuku podle Röse-Gottlieba</i>	33
3.4.7	<i>Stanovení bílkovin podle Kjeldahla</i>	34
4	Výsledky a diskuze	35
4.1	Stanovení sušiny	35
4.2	Stanovení vápníku	36
4.3	Stanovení sacharidů podle Fehlinga	37
4.4	Stanovení tuků podle Röse-Gottlieba	38
4.5	Stanovení bílkovin podle Kjeldahla	39
4.6	Porovnání s legislativou	40
5	Závěr	41
6	Použitá literatura	42
7	Přílohy	44

1 Úvod

Jak je známo, nejlepší výživou kojence je bezpochyby mateřské mléko. Mateřské mléko kojenci poskytuje všechny nezbytné živiny, včetně vitamínů a minerálních látek. Mateřské mléko se během celého vývoje kojence neustále přizpůsobuje jeho potřebám, což je jeho největší předností. Díky bílkovinám a imunolátkám je mléko důležité pro nastartování imunitního systému. Je také prokázáno, že kojením se snižuje výskyt alergií. Kojení má mnoho výhod nejen pro vývoj dítěte, ale také pro matku.

Pro děti, které nemohou být kojeny nebo odmítají mateřské mléko byla ve spolupráci s vědci vyvinuta umělá kojenecká výživa. Tato výživa se snaží ve všech směrech napodobit mateřské mléko tak, aby kojenci co nejvíce vyhovovala. Umělá kojenecká výživa je obohacována i o některé vitamíny a minerály.

V současné době na našem trhu nalezneme několik zástupců firem zabývajících se výrobou této výživy. Jedná se jak o tuzemské, tak zahraniční výrobce. Většina výrobků v naší zemi jsou vyrobeny na bázi kravského mléka, nalezneme zde také výživu vyrobenou ze sójové bílkoviny, která je určena dětem alergickým na laktózu. Umělá kojenecká výživa se dělí do několika skupin, které se rozlišují podle věku dítěte. Jedná se o počáteční kojeneckou výživu, pokračovací kojeneckou výživu a batolecí mléka. Další kategorie umělé výživy, jsou tzv. speciální mléka, která jsou určena pro děti trpící alergií na laktózu a refluxem nebo jiným onemocněním.

Ve své práci jsem se zaměřila na výživu pro ty nejmenší, tedy na počáteční kojeneckou výživu. Z mého pohledu je tato výživa nejdůležitější, protože organismus je teprve na začátku vývoje a měly by být tedy plně pokryt potřeby kojence. V naší zemi jsou legislativní požadavky přesně specifikovány a veškerá výroba je přísně kontrolována, nejen ve výrobě, ale i samotná zvířata poskytující mléko jsou pod neustálou veterinární kontrolou.

2 Teoretická část

2.1 Mateřské mléko

Mateřské mléko (MM) je ideální forma výživy pro zralé kojence v prvních měsících života. Svým optimálním složením dodává kojenci všechny důležité živiny. MM se vytváří v mléčné žláze ihned po porodu. Na řízení uvolňování mléka se podílejí dva důležité hormony, a to prolaktin a oxytocin. Prolaktin je produktem předního laloku hypofýzy a je zodpovědný za tvorbu mléka. Oxytocin se tvoří v zadním laloku hypofýzy a slouží k uvolnění již vytvořeného mléka.

Toto mléko je ideální výživou pro novorozence. Mateřské mléko obsahuje velmi důležité látky, které podporují jeho vývoj, zrání tkání a orgánů, zejména mozku. Mléko je sterilní, neobsahuje žádné bakterie ani viry. Jsou v něm obsaženy ochranné látky, které jsou důležité pro nastartování imunitního systému kojence. MM také chrání dítě před vznikem alergií [1-4].

2.2 Druhy mateřského mléka

Mateřské mléko se z hlediska složení a obsahu rozpuštěných látek rozlišuje do tří kategorií. Jako první se v mléčné žláze vytváří mlezivo neboli kolostrum. Toto mléko je velmi důležité pro nastartování imunitního systému. Na jeho tvorbu navazuje mléko přechodné, které obsahuje méně bílkovin než mléko předchozí. Jako poslední se tvoří zralé mléko, které má nejvyšší energetickou hodnotu.

2.2.1 *Mlezivo neboli kolostrum*

Tvoří se ihned po porodu přibližně do 4 dne stáří novorozence. Kolostrum je charakteristické vyšším obsahem bílkovin. Na rozdíl od následujících druhů mlék, mlezivo obsahuje málo tuků a sacharidů. Nejdůležitější funkcí tohoto mléka je nastartovat imunitní systém, a to hlavně díky obsahu imunoglobulinu A (IgA), lysozymu, laktoferrinu a dalším imuno látkám. Ve vysokých koncentracích se u toho mléka vyskytují vitamíny rozpustné v tucích (A, E, K), ale i vitamíny B₁, B₂ a C. Z minerálních látek je v největší míře zastoupen zinek, sodík a fosfor [1].

2.2.2 *Přechodné mléko*

Přechodné mléko se tvoří až do 14 dnů po porodu a navazuje na tvorbu kolostra. Dochází ke snižování obsahu bílkovin a nárůstu obsahu tuků a sacharidů. Toto mléko má vyšší energetickou hodnotu než kolostrum [1, 5].

2.2.3 *Zralé mateřské mléko*

Ze všech uvedených mlék, má zralé mléko největší energetickou hodnotu. Lipidy v tomto mléce převyšují svým obsahem všechny další živiny. Hodnoty sacharidů jsou srovnatelné s přechodným mlékem, obsah bílkovin je ještě o něco nižší [1, 5].

2.3 **Složení mateřského mléka**

Složení mateřského mléka a jeho proměnlivost, umožňuje přizpůsobení měnícím se potřebám rostoucího a vyvíjejícího se organismu dítěte. Žádná, byť sebedokonalejší náhražka mateřského mléka, nemůže svoje složení, a hlavně proměnlivost složení mateřského mléka napodobit [6].

V Tabulce 1 je uvedeno průměrné složení mateřského mléka a mléka kravského. Můžeme si všimnout, že MM obsahuje méně bílkovin, ale naopak mnohem více sacharidů než mléko kravské.

Tabulka 1: Srovnání obsahu živin v mateřském a kravském mléku [3].

Složka	Mateřské mléko (g/100 ml)	Kravské mléko (g/100 ml)
Bílkovina	1,0	3,4
Tuk	3,8	3,7
Cukr	7,0	4,6
Minerály	0,2	0,8
Energie (kcal)	66	65

V tabulce 2 najdeme obsah jednotlivých rozpuštěných látek v mateřském mléce. Jak je vidět zralé mléko má nejvyšší energetickou hodnotu, na kterou může mít vliv také vysoký obsah tuku. Jako v jediném se ve zralém mléce objevuje také vitamín D.

Tabulka 2: Složení mateřského mléka [7]

Složení ve 100 g	Jednotky	Kolostrum	Přechodné mléko	Zralé mléko
Energie	kJ	236	277	297
Proteiny	g	2	1,6	1,1
Tuky	g	2,6	3,5	4,0
Saturované MK	g	1,1	1,4	1,8
Monoenové MK	g	1,1	1,4	1,3
Polyenové MK	g	0,3	0,5	0,4
Cholesterol	mg	31	29	25
Sacharidy	g	6,6	6,9	7,1
Laktóza	g	6,6	6,9	7
Voda	g	88,2	87,7	87,5
Sodík	mg	47	29	16
Draslík	mg	70	64	53
Vápník	mg	28	40	31
Hořčík	mg	3	4	4
Fosfáty	mg	14	18	15
Železo	mg	0,05	0,04	0,03
Zinek	mg	0,60	0,4	0,2
Jód	mg	-	2,4	6,3
Retinol	mg	155	88	54
Karotenoidy	mg	135	26	24
Vitamín D	mg	-	-	0,1
Vitamín E	mg	1,3	1,3	0,5
Thiamin	mg	0,01	0,02	0,02
Riboflavin	mg	0,03	0,03	0,04
Niacin	mg	0,8	0,7	0,5
Vitamín B₆	mg	0,01	0,01	0,01
Kyselina listová	mg	2	3	5
Vitamín B₁₂	mg	0,1	0,1	0,1
Vitamín C	mg	7	6	4

2.3.1 *Voda*

Mateřské mléko je výhradní zdroj tekutin. Kojené dítě potřebuje přídavek tekutin asi až od 10. měsíce, nekojené již od 6. měsíce [1, 8].

2.3.2 *Bílkoviny*

Bílkoviny jsou nejdůležitější a nejstálější složkou mateřského mléka. Jejich obsah je 0,9 – 1,2 g/100 ml, množství bílkovin značně závisí na složení stravy matky. Celková bílkovina zahrnuje jak bílkoviny mléčné, tak imunoglobuliny a sérové bílkoviny. Nejvíce je v mateřském mléce zastoupen imunoglobulin A, který působí zejména v trávicím traktu a chrání jej před infekcí. Hlavní mléčnou bílkovinou je laktalbumin. V mateřském mléce se nachází také kasein. Nižší hladina kaseinu umožňuje lepší stravitelnost mateřského mléka. Díky dobrému poměru laktalbuminu ku kaseinu (60:40) je mateřské mléko snadno stravitelné a jeho doba zdržení v žaludku je krátká. Relativně nízký obsah bílkovin je optimální pro růst kojenců a zároveň nezatěžují ještě nevyvinuté ledviny. Mléko dále obsahuje lysozym, který má obrannou funkci [1, 5, 9].

V tabulka 3 je uvedena skladba bílkovin a imuno látek mateřského a kravského mléka, mezi které patří IgA, IgG, IgM. Z tabulky je patrné, že mateřské mléko obsahuje více α -laktalbuminu než mléko kravské, to na rozdíl od MM obsahuje také β -laktoglobulin.

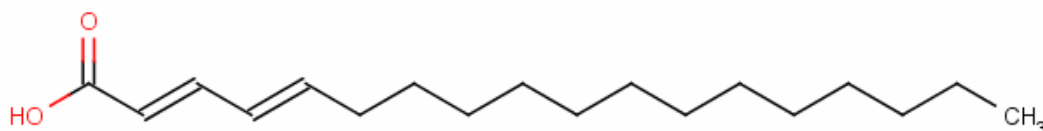
Tabulka 3: Skladba bílkovin v mateřském a kravském mléce [7].

Bílkovina	Mateřské mléko (mg/ml)	Kravské mléko (mg/ml)
Laktoferrin	1	Stopy
α -laktalbumin	2,60	0,90
β -laktoglobulin	-	3,00
Albumin	0,50	0,30
Lysozym	0,5	0,0001
IgA	1,00	0,03
IgG	0,01	0,60
IgM	0,01	0,03

2.3.3 *Tuky*

Tuky tvoří asi 50 % kalorické hodnoty 100 ml mléka. Jejich obsah se mění během celé tvorby mateřského mléka a to od 2 g v kolostru až po 3,8 – 4,5 g ve zralém mléce. Tuk je nejvariabilnější složkou mateřského mléka. 98 % tuku je tvořeno kapénkami triacylglyceridů (TAG). Z mastných kyselin obsažených v TAG je 42 % nasycených, 57 % nenasyčených. V největší míře je zastoupená kyselina linolenová, linolová, arachidonová a dokosahexaenová (viz. Obrázek 1). Nenasyčené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem jsou důležité hlavně pro myelinizaci mozku a vývoj centrální nervové soustavy. Mateřské mléko je bohaté na cholesterol (cca 16 mg/100ml). Jeho vysoká hladina indukuje tvorbu degradačních enzymů, což přispívá k příznivému poměr LDL a HDL cholesterolu. Tuk je tráven lipázou, která je obsažena v mateřském mléce, která vede k lepší stravitelnosti. Tento enzym je termolabilní, což má velký význam při manipulaci s mateřským mlékem [5, 6, 9].

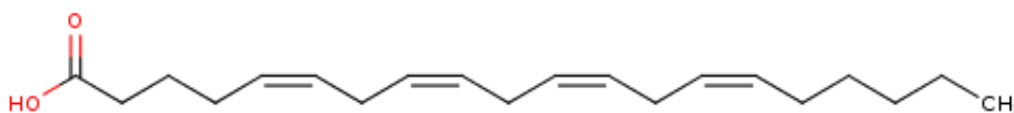
A



B



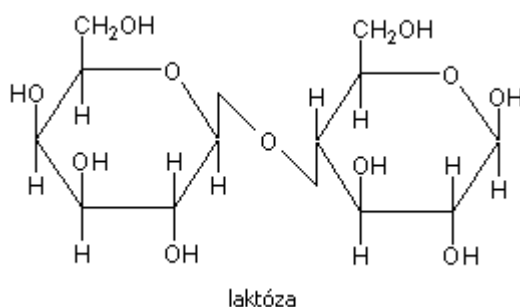
C



Obrázek 1: Kyselina linolová (A), α -linolenová kyselina (B), Arachidonová kyselina (C)

2.3.4 *Sacharidy*

Obsah cukrů je v mateřském mléce relativně vysoký. Tvoří až 40 % kalorické hodnoty. V mateřském mléce se nachází převážně laktóza, glukóza, galaktóza a jinými oligosacharidy. Dominantním cukrem je laktóza, její obsah v mateřském mléce vzrůstá ze 4 % v kolostru až do 7 % ve zralém mléku. Laktóza se pomocí enzymu laktázy odbourává na jednotky glukózy a galaktózy. Laktóza je důležitá pro vstřebávání vápníku a železa. Složení cukrů je zodpovědné za pH stolic novorozenců. Vysoký obsah může ovlivnit peristaltiku [1, 3, 5, 9].



Obrázek 2: Chemická struktura mléčného cukru (laktózy)

2.3.5 *Vitamíny*

Vitamíny rozpustné ve vodě jsou v mateřském mléce obsaženy v dostatečném množství, pokud jich má matka dostatečný přísun ve stravě. Obsah vitamínů rozpustných v tucích kolísá během celého procesu tvorby mateřského mléka. Protože obsah tuku je nejvariabilnější složkou mateřského mléka, kolísá i obsah vitamínů rozpustných v tucích (A, E, D, K). Obsah vitamínu A v kolostru je 2x vyšší než u zralého mléka. Mateřské mléko žen, které přijímají dostatek nenasycených mastných kyselin obsahuje dostatečné množství vitamínu E. Nejdůležitějším vitamínem bezprostředně po porodu je vitamín K. Při jeho nedostatku může vzniknout „krvácivá nemoc novorozence“. V kolostru je vitamínu K více než ve zralém mléce [5, 9].

2.3.6 *Minerální látky*

Mateřské mléko obsahuje dostatek minerálních látek i četné stopové prvky. Pokud matka sama netrpí závažným nedostatkem nějakého prvku, je obsah minerálů v jejím mléce dostatečný. Důležitější, než obsah minerálů je jejich využitelnost pro organismus dítěte tzv. „biologická dostupnost“. Minerální látky nejsou zdrojem energie a hrají důležitou roli v udržení osmotického tlaku, udržují acidobazickou rovnováhu, jsou součástí podpurných systémů,

hormonů a enzymů, některé z nich působí jako antioxidanty a jsou velmi důležité pro správné srážení krve. Nejdůležitější je příjem železa, vápníku, fosforu a draslíku [1, 6].

Vápník

Vápník má v organismu řadu důležitých funkcí, je nezbytnou součástí skeletu. Tělo si udržuje konstantní poměr vápníku a fosforu. Vápník je uložen hlavně v kostech, plasmě a extracelulární tekutině. Je vázán i na bílkoviny, proto při jejich poklesu dojde k posledu obsahu vápníku. V příloze 1 jsou uvedeny doporučené denní dávky vápníku stanovené světovou obchodní organizací [1].

Hořčík

Hořčík je v těle obsažen v malém množství, největší část je v kostech a svalech. Magnezium snižuje nervosvalovou dráždivost a účastní se enzymatických pochodů [1].

Draslík

Draslík je základní intracelulární kationt. Je nezbytný pro svatbu tělesných tkání, účastní se řízení nervosvalové dráždivosti a acidobazické rovnováhy. V mléce je 3x více draslíku než sodíku, rychle se vstřebává a vylučuje se močí a zbytek stolicí [1].

Sodík

Jedná se o nejdůležitější kationt extracelulární tekutiny a jeho metabolismus úzce souvisí s metabolismem chloridů a vody. Obsah sodíku je v MM velmi nízký. Sodík se rychle resorbuje a vylučuje se hlavně močí a potem [1].

Fosfor

Fosfor je spolu s vápníkem hlavní součástí kostry člověka. Metabolismus fosforu je spojen s metabolismem vápníku. Vstřebávání fosforu je podstatně vyšší u kojených dětí, než u dětí na umělé výživě, která je vyrobena na bázi kravského mléka. Vápník a fosfor jsou v mateřském mléce obsaženy v poměru cca 3:1 [1, 6].

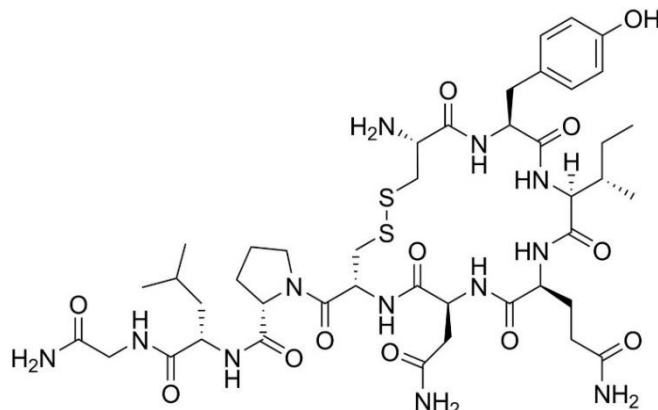
Železo

Novorozenec se rodí s dostatečnou zásobou železa od matky získanou v průběhu nitroděložního vývoje. Tato zásoba spolu s dalším příjmem z mateřského mléka postačuje pokrýt potřebu dítěte do 6 - ti měsíců věku. Využitelnost železa z mateřského mléka je 49 %, zatímco z kravského mléka jen 10 % a z přípravků umělé výživy jen 4 %. V příloze 1 jsou uvedeny doporučené denní dávky železa, stanovené světovou obchodní organizací [1, 6].

2.3.7 Ostatní složky mateřského mléka

Z ostatních složek je potřeba zmínit hormony a enzymy, které jsou v mateřském mléce také přítomny. V MM je větší množství oxytocinu (viz. Obrázek 3), prolaktinu, nadledvinových steroidů, prostaglandinů, tyroxinu nebo trijódtyroninu [5].

Čtvrtinu bílkovin MM představují obranné látky. V prvních hodinách a dnech po narození je jich MM nejvíce. MM obsahuje velké množství oligosacharidů, které mají funkci probiotika [5].



Obrázek 3: Chemická struktura oxytocinu

2.4 Umělá výživa

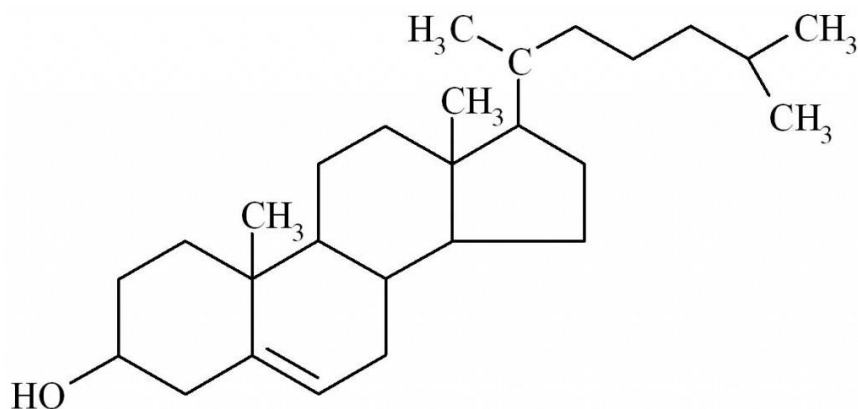
Výroba výživ pro děti na bázi kravského mléka ve formě práškových produktů má v České republice mnohaletou tradici. Sortiment kojenecké a dětské výživy se postupně rozšiřoval od běžného sušeného plnotučného mléka vysoké kvality, přes několik druhů mléka s obdobným složením jako mateřské mléko pro kategorie nejmenších dětí (adaptovaná mléka), až po speciální výrobky určené malým skupinám dětí s intolerancí příjmu neupraveného kravského mléka. Sortiment kojenecké výživy vyráběný na bázi kravského mléka je určen pro děti ve věku od narození do tří let, pro děti, které nemohou být dostatečně živeny mateřským mlékem a dále dětem vyšších věkových skupin [10].

V posledních letech se podařilo v procesu přibližování se mateřskému mléku udělat velký pokrok. Podařilo se obohatit umělá mléka (UM) o probiotika a prebiotika, o nukleotidy, esenciální mastné kyseliny a další látky. Vznikla speciálně upravená mléka pro děti s rizikem alergie a alergické děti se zvláště upravenou kravskou bílkovinou, dále mléka pro děti, které nesnášejí mléčný cukr nebo pro děti trpící častým refluxem, kojeneckými kolikami a potížemi s vyprazdňováním. Byla vyvinuta i speciální umělá mléka pro děti s nízkou porodní hmotností [11].

Výrobky kojenecké výživy musí odpovídat současným požadavkům na složení a přísným hygienickým normám. Potraviny pro kojence a malé děti musí projít složitým procesem schvalování Českou pediatrikou společností, Ministerstvem zdravotnictví a Ministerstvem zemědělství. Výrobky musí vyhovovat požadavkům na složení a označení, které jsou stanoveny ve vyhlášce Ministerstva zdravotnictví č.54/2004 Sb., o potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich použití. Výrobky také musí odpovídat zvláštním požadavkům na chemickou a mikrobiální nezávadnost. Při výrobě nesmí být použity žádné chemické konzervační látky, příchutě nebo umělá sladidla. Celý výrobní proces včetně krmení a péče o zvířata, ze kterých je umělé mléko vyráběno je přísně kontrolován. Výrobky si jak ve výrobě, tak na prodejnách kontrolují příslušné orgány. Tato kontrola je mnohem přísnější než u běžných potravin, a to z důvodu, že jsou vyrobeny pro ty nejmenší děti. Pod vedením světové obchodní organizace byl vypracován Mezinárodní kodex marketingu náhrad mateřského mléka a EU v jeho smyslu přijala legislativu o regulaci marketingu náhrad mateřského mléka. Cílem Kodexu je přispět k zajištění adekvátní a bezpečné výživy pro kojence prostřednictvím ochrany kojení před nevhodným marketingem náhrad mateřského mléka, lahví, dudlíků a zajištěním správného používání náhrad MM [8].

2.5 Rozdíly mezi umělým a kravským mlékem

Úprava mléka se týká všech jeho hlavních složek: bílkovin, sacharidů i tuků. Upravuje se poměr bílkovin syrovátky ke kaseinu, mění se zastoupení sacharidů tak, aby mléko obsahovalo buď výhradně mléčný cukr (laktózu) nebo jen malý podíl jiných sacharidů. Umělá mléka se obohacují o probiotika (tělu prospěšné bifidogenní bakterie) a prebiotika (rozpustná vláknina, oligosacharidy, které jsou obsaženy v hojné míře v MM). Mléčný tuk je v různé míře nahrazen tuky rostlinnými, pro obsah některých nezastupitelných mastných kyselin důležitých pro správný vývoj mozku. MM obsahuje přibližně 3x více cholesterolu (struktura viz. Obrázek 4) než mléko kravské a kojeneček ho využívá na stavbu buněk. Některá kojenecká mléka jsou obohacována o nukleotidy, které mají příznivý vliv na vývin systému obranyschopnosti, a na růst a vývoj zažívacího traktu dítěte. UM je obohaceno také o minerály, vitamíny, antioxidanty, stopové prvky a jiné látky, které jsou přítomny i v mateřském mléce. Umělá výživa se tak snaží přizpůsobit svým složeným průměrnému vzorku MM [11].



Obrázek 4: Chemická struktura cholesterolu

2.6 Rozdělení náhrad mateřského mléka

Jak se s růstem a vývojem kojence mění nároky na výživu tak se MM svým proměnlivým složením přizpůsobuje těmto potřebám. Výrobci umělé výživy ve snaze reagovat na tyto změny vytvořili tři základní typy mléka s různým složením: počáteční, pokračovací a batolecí. Mléko tak lépe splňuje požadavky zdravého vývoje organismu dítěte [11].

2.6.1 Počáteční mléka

Jsou určena pro děti od novorozeneckého věku, které nemohou být jenom kojeny. Počáteční mléka jsou určena pro dítě od 0 do 6 měsíce. Podle vyhlášky č. 54/2004 Sb. musí být součástí názvu potraviny označení „počáteční kojenecká výživa“. Tyto produkty se na obalu označují číslem 1 nebo názvem, který tento věk symbolizuje [8, 12].

Jako zdroj bílkoviny pro počáteční mléko je nejčastěji používaná bílkovina z kravského mléka. Na výrobu speciální UM může být použita i bílkovina ze sóji. Počáteční mléka se vyrábí úpravou složení kravského mléka. Kromě snížení obsahu se bílkovina obvykle adaptuje, což znamená, že je změněn poměr kaseinu a syrovátky, což vede k lepšímu trávení. Může být, ale také použita i neadaptovaná bílkovina, což znamená, že poměr kaseinu a syrovátky zůstává stejný jako u výchozího mléka. Zvyšuje se obsah sacharidů. Kromě laktózy mohou být použity i jiné sacharidy, například sacharóza. Tučky mají poskytovat 40–59 % energie a musí obsahovat nenasycené mastné kyseliny. Počáteční mléka musí obsahovat zaručené množství kyseliny linolové a α -linolenové. Vyhláška také určuje minimální a maximální obsah vitamínu a minerálů [5, 8].

2.6.2 *Pokračovací mléka*

Vyhlášky č. 54/2004 Sb. udává, že pokračovací mléka jsou určena dětem od ukončeného 4. měsíce až do 36 měsíců. Součástí názvu potraviny musí být označení „pokračovací kojenecká výživa“. Tato mléka již nekryjí plně potřeby dítěte, proto je nutné tyto děti dokrmovat různými příkrmy. Pokračovací mléka se označují na obalu symbolem 2 nebo věkem dítěte [8, 11].

Pokračovací mléka mají nižší obsah bílkovin, poměr bílkovin syrovátky a kaseinu je stejný jako v kravském mléce, tedy v poměru 20:80 – není adaptován. Mléko může obsahovat i jiné sacharidy než jen mléčný cukr. Nesmí však obsahovat lepek. Tato mléka jsou obohacována i železem, jodem, zinkem a obvykle i některými vitamíny (A, D, C, E) [8].

2.6.3 *Batolecí mléka*

Od 12. měsíce věku můžeme začít podávat tzv. „batolecí mléka“. Batolecí mléka se označují číslicí 3 nebo názvem JUNIOR. Složením jsou podobná jako pokračovací mléka nicméně mají vyšší přídavek vitamínů, minerálů, stopových prvků a jiných látek vhodných pro zdravý růst dítěte [11].

2.6.4 *Speciální mléka*

Speciální mléka se podávají dětem při některých alergiích například při alergii na laktózu, která vzniká z důvodu deficitu enzymu laktázy. Využívají se u dětí s nízkou porodní hmotností ale také u předčasně narozených dětí.

Kojenecká výživa ze sóji je užívána nejčastěji z těchto důvodů [5]:

- Alergie na bílkovinu kravského mléka zprostředkovaná IgE
- Vegetariánský způsob výživy
- Galaktosemie (bezlaktózové mléko)
- Děti s přechodným deficitem laktázy

Pro nedonošené děti a děti s nízkou porodní hmotností se vyrábí mléko, které je obohaceno o sacharidy, bílkoviny syrovátky, vitamíny a minerály. Kojenecké preparáty mají takové složení, které nejlépe kryje jejich potřeby pro růst. Mléko obsahuje větší obsah vápníku a fosforu. V současné době jsou tato mléka dále obohacována i o polynenasycené mastné kyseliny s dlouhými řetězci [5].

Pro děti, které trpí intolerancí laktózy, byly vyvinuty mléčné přípravky s nízkým nebo žádným obsahem laktózy, které mohou být použity přechodně při získaném deficitu laktázy v důsledku proběhlé enteritidy. Vrozený deficit enzymu laktázy je velmi vzácný [5].

Antirefluxová počáteční mléka se zahušťují rýžovým škrobem nebo vlákninou karubinem ze svatojánského chleba. Mají tak zabránit refluxu malým kojencům, kteří jsou živeni výhradně mlékem [5].

V Příloze 2 jsou uvedeny běžně dostupné umělé kojenecké výživy všech kategorií včetně jejich výrobců.

2.7 Výroba kojenecké výživy

Kojenecká výživa se v největší míře vyrábí z kravského mléka, pokud se nejedná o speciální mléka, které se vyrábí například ze sóji. Kravské mléko, které je přiváděno do výroby kojenecké a dětské výživy, musí být té nejvyšší kvality, je produkováno pod zákonnou veterinární péčí a kontrolou. Mléko musí být podle zákona kontrolováno i při přijímání z dopravních cisteren [13].

V Příloze 3 jsou uvedeny požadavky na kravské mléko, ze kterého se kojenecká výživa vyrábí. Přesné požadavky se řídí normou ČSN 570529. Tato norma obsahuje nejen požadavky smyslové, ale také fyzikálněchemické a mikrobiologické.

Po vstupní kontrole následují operace pasterace, odstředování a standardizace obsahu mléčného tuku. V tomto bloku je zásadní pasterace, která obvykle probíhá při teplotě 83 °C po dobu 20 sekund. Pokud by tato operace neproběhla podle norem, nebyla by zajištěna mikrobiální bezpečnost. Dále může dojít k mísení s některými ingrediencemi například s rostlinným tukem, určitými minerálními látkami a vitamíny [13].

Velmi důležitou výrobní operací je zahuštění mléčné směsi odpařováním. Odpařování se provádí na složitých zařízeních za sníženého tlaku. Tato operace probíhá při teplotách 42 – 72 °C, tak aby byla co nejšetnější k termolabilním složkám produktu. Do zahuštěného produktu mohou být opět přimíchány odpovídající ingredience [13].

Poslední fází výroby je fáze tzv. rozprašovacího – sprejového sušení. Zahuštěný produkt je rozprašen ve formě malých kapiček, které během 20 sekund, uschnou na jemný prášek konečného produktu. Teplota produktu při sušení nesmí přesáhnout 60 °C, jinak by mohlo dojít k tepelné degradaci některých složek. Podle požadavků konečné receptury a technologických podmínek této fáze lze v mísiči přidat další ingredience v suchém stavu [13].

Sušený produkt je skladován v nerezových sterilních kontejnerech. Jsou odebírány vzorky pro kontrolu jakosti a pro mikrobiologickou kontrolu. Po jejich kladném výsledku je teprve výrobek balen do příslušných obalů. Při balení jsou dodržovány nejpřísnější hygienické zásady, kontroluje se zdravotního stav pracovníků, čistota zařízení, oděvu pracovníků a čistota výrobních prostor [13].

Speciální balicí stroje zajistí například i vytvoření vnitřního sáčku a vnější krabičky, přesné dávkování produktu do vnitřního sáčku, odsátí vzduchu a zaplnění dusíkem jako inertním plynem, a hermetické uzavření sáčku. Zabalený výrobek je před expedicí opět zkontrolován [13].

Celá technologie je prováděna v prostorách vybudovaných a vybavených podle přísných norem respektujících dokonalou čistitelnost, desinfekci a údržbu a eliminování jakékoli kontaminace. Zařízení jsou jen z inertních a nerezových materiálů [13].

2.8 Legislativa

Výroba, distribuce a prodej kojenecké výživy se řídí vyhláškou č. 54/2004 Sb. o potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich použití a také Nařízením komise v přenesené pravomoci (EU) 2016/127 ze dne 25. září 2015. Vyhláška č. 54/2004 zpracovává příslušné předpisy Evropské unie a upravuje v návaznosti na přímo použitelné předpisy Evropské unie druhy způsobu jejich použití.

Tato vyhláška přesně stanovuje obsahy jednotlivých základní živin jako jsou cukry, tuky, bílkoviny. Dále uvádí množství vitamínů a minerálních látek, které může kojenecké mléko obsahovat. Umělá mléka musí být mikrobiologicky naprosto v pořádku a nesmí obsahovat žádné látky, které by kojence mohly ohrozit. Legislativa také uvádí, jaké chemické látky se mohou na výrobu použít, a které nikoli.

Vyhláška také určuje přesně komu jsou tyto mléka určena a jak musí být označena, aby nedocházelo ke klamání spotřebitele nebo jeho ovlivnění.

V příloze 4 jsou uvedeny vybrané tabulky, vztahující se k počáteční kojenecké výživě, které obsahují přesně definované rozmezí hodnot všech složek UM.

2.9 Možnosti stanovení základních vlastností MM a UM

Vybrané parametry jako jsou sušina, obsah cukrů, tuků, bílkovin a vápníku, byly stanoveny klasickými analytickými metodami, lze je stanovit také za pomoci instrumentálních metod, které jsou uvedeny jako alternativní metody.

Tyto vybrané látky se dají stanovit také jinými analytickými metodami. V praxi se často využívají přístroje, které pracují na principu infračervené spektroskopie, touto metodou lze rychle a přesně stanovit obsah tuku, bílkovin, laktózy, sacharózy, glukózy, celkové sušiny, kyseliny mléčné a dalších látek [14].

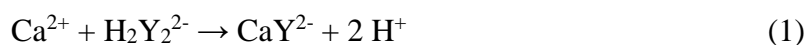
2.9.1 Stanovení sušiny

Sušina je zbytek získaný vysušením navážky vzorku při předepsané teplotě za určitých podmínek, v našem případě 105 °C do konstantní hmotnosti. Odpařená část se označuje jako voda [15].

Podle požadované přesnosti výsledků se obsah sušiny stanovuje vázkově s pískem (ČSN 570530) nebo bez písku (rozhodčí metoda dle ČSN ISO 6731) a nebo výpočtem (provozní metoda podle ČSN 570530). Sušinu lze stanovit také pomocí speciálního analyzátoru vlhkosti, který vzorek suší pomocí suchého tepla, při nastavené konstantní teplotě [16].

2.9.2 Stanovení vápníku

Vápník se stanoví po zalkalizování mléka 4 mol/l roztokem NaOH a následnou titrací roztokem Chelatonu 3 za použití indikátoru Murexid. Vápník se vyjádří v mg na 100 ml mléka [17].



Vápník lze stanovit také například titrační metodou, podle ISO 12081. Nejprve se bílkoviny ze vzorku vysráží kyselinou trichloroctovou. Vápník je vysrážen jako štávelan vápenatý. Po filtraci a rozpuštění sraženiny je vápník stanoven manganometricky. Na stanovení obsahu vápníku je možno použít instrumentální metody jako jsou atomová absorpční spektrometrie (AAS), kdy se vzorek mléka nejprve suší při 90 °C a poté se zpopelňuje 18 hodin při teplotě 480 °C. Vzniklý popel se rozpustí ve zředěné kyselině chlorovodíkové a naředí destilovanou vodou, takto upravený vzorek může být použit na analýzu pomocí AAS. Mezi další metody stanovení vápníku v mléce patří hmotnostní spektrometrie s indukčně vázanou plasmou, rentgenová fluorescenční spektrometrie, stanovení pomocí iontově selektivních

elektrod nebo infračervená spektroskopie v režimu NIR (blízké infračervené oblasti) a MIR (střední infračervené oblasti) [16, 18, 19].

2.9.3 Stanovení sacharidů podle Fehlinga

Cukry s volným poloacetálovým hydroxylem mají redukční účinky a označují se jako cukry redukující. Redukující cukry obsažené ve vyčereném filtrátu zredukují měďnatou sůl z Fehlingova činidla na oxid měďný a přebytek měďnaté soli je stanoven jodometricky. Tento technika je nazýván jako Schoorlova metoda. Fehlingovo činidlo je připraveno z roztoku modré skalice (Fehlingovo činidlo I), a z roztoku hydroxidu sodného s vlnanem draselno-sodným (Fehlingovo činidlo II). Nadbytek měďnaté soli Fehlingova činidla reaguje s redukujícími cukry za varu za vzniku červené sraženiny Cu_2O . Nezreagované množství Cu^{2+} reaguje v kyselém prostředí s jodidem draselným. Uvolněný jod se titruje odměrným roztokem thiosíranu sodného na škrobový maz. Obsah cukru se vyjádří v g na 100 ml mléka [17].

Laktózu lze stanovit také jinými metodami než jen Fehlingovými činidly. Můžou být použity přístroje pracující na principu infračervené spektroskopie, nebo klasické volumetrické metody. Obsah laktózy se může stanovit titrací roztoku thiosíranu sodného podle množství redukováného halogenu, který se uvolní při reakci s chloraminem T a jodidem draselným. Nebo jednoduše polarimetricky kdy se měří optická otáčivost laktózy ve vyčereném roztoku mléka, jedná o rozhodčí metodu podle ČSN 570530 [16, 18, 20].

Obsah mléčného cukru je možno stanovit také instrumentální metodou jako je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) s různými typy detektorů. Běžné je měření ve spojení s detektorem měřící index lomu látek (HPLC – RI detector) nebo spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (HPLC – MS/MS). Kromě toho lze mono a disacharidy stanovit přímo pomocí hmotnostní spektrometrie, která se využívá i v lékařství na screening dědičných metabolických poruch jako je např. fenylketonurie [21, 22].

2.9.4 Stanovení tuku podle Röse – Gottlieba

Jedná se o rozhodčí gravimetrickou metodu, kdy obsah tuku je podíl extrahovaný za podmínek metody. Po rozpuštění bílkovin amoniakem se za přídavku ethanolu extrahuje tuk směsí dietylétheru a petroletheru a množství tuku se následně zváží. Obsah tuku se vyjádří v g na 100 ml mléka [14].

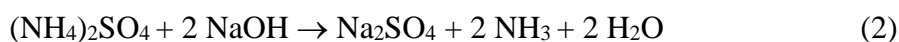
Stanovení tuku lze provést i jednoduchou acidobutyrometrickou metodou, kdy je podíl tuku po rozpuštění bílkovin kyselinou sírovou a za přídavku amylalkoholu oddělen v butyrometru (tukoměru) odstředěním. Mezi moderní metody patří stanovení obsahu tuků pomocí infračervené spektroskopie nebo metoda turbidimetrická, která spočívá v měření zákalu tukových kuliček mléka zředěného vhodným rozpouštědlem a homogenizovaného.

Mléčný tuk se může stanovit pomocí upravené kolorimetrické metody podle Stern & Shapiro, kdy je vzorek smíchán se standardem (triolein) a redestilovaným ethanolem, následně je přidán hydroxylamin kyseliny chlorovodíkové a hydroxid sodný, po okyselení a přidání roztoku FeCl_3 a kyseliny trichloroctové vzniká barevný produkt. Absorbance je měřena spektrofotometricky při vlnové délce 540 nm [14, 23].

2.9.5 Stanovení bílkovin podle Kjeldahla

Principem stanovení bílkovin podle Kjeldahla je převedení veškerého organického dusíku obsaženého ve vzorku na anorganický ve formě amonných iontů. Vzorek se mineralizuje varem v kyselině sírové za přítomnosti selenového katalyzátoru. Dusíkaté látky se převedou na síran amonný, z něhož se v alkalickém prostředí uvolní amoniak, který se předestiluje do předlohy s přesně známým množstvím kyseliny sírovové. Nezareagovaný přebytek kyseliny sírové se titruje odměrných roztokem NaOH. Obsah bílkovin se vyjádří v g na 100 ml mléka [17].

Dusíkaté látky $\rightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$



Obsah bílkovin lze stanovit pomocí několika dalších metod, jako jsou například spektrofotometrické metody, mezi které patří také stanovení pomocí amidočerni 10B (provozní metoda ČSN 570530), kdy se na bílkoviny váže barvivo, jehož úbytek je sledován a je úměrný obsahu bílkovin. Intenzita zbarvení roztoku se měří při vlnové délce 615 nm. Na spektrofotometrické stanovení bílkovin lze také použít roztok barviva oranž G, z úbytku měřeném při 480 nm se na základě empiricky zjištěného vztahu určí obsah bílkovin ve vzorku.

Celkovou bílkovinu je také možné stanovit Biuretovou reakcí, kdy v alkalickém prostředí v přítomnosti měďnatých solí dávají bílkoviny fialové zbarvení. Vzniklý komplex absorbuje záření v oblasti 540 – 560 nm, intenzita zbarvení komplexu se měří na spektrofotometru a je přímo úměrná koncentraci bílkovin.

Další metodou je SDS PAGE (elektroforéza na polyakrylamidovém gelu s přidavkem dodecylsulfátu sodného), principem je elektroforéza komplexů denaturovaných polypeptidů s anionickým detergentem dodecylsulfátem sodným (SDS). Průchod gelem je závislý na velikosti molekuly polypeptidu. Srovnání s pohyblivostí standardů o známé molekulové hmotnosti lze snadno a relativně přesně určovat molekulové hmotnosti proteinů, resp. jejich podjednotek. Bílkoviny lze stanovit i pomocí absorpční spektrometrické metody dle Bradfordové, kdy vzniká komplex proteinů s barvivem Coomasie Brilliant blue [14, 16, 24].

3 Experimentální část

3.1 Přístroje a zařízení

Na analýzy byly použity tyto aparatury a přístroje

- Analyzátor vlhkosti (výrobce KERN, viz. Obrázek 5)
- Analytické váhy (výrobce KERN)
- Předvážky (výrobce KERN)
- Sušárna
- Elektromagnetické míchadlo (IKA big squid white)
- Mineralizátor (Turbotherm rapid digestion unit – C. Gerhardt GmbH & Co. KG)



Obrázek 5: Analyzátor vlhkosti KERN

3.2 Chemikálie a standardy

Byly použity tyto chemikálie

- Hydroxid draselný (4 mol/l, 0,08722 mol/l)
- Kyselina sírová (25%, 0,04165 mol/l)
- Kyselina šťavelová
- Amoniak
- Diethylether
- Petrolether
- Ethanol
- Chelaton 3 (0,00984 mol/l)
- Fehlingovo činidlo I (69,28 g síranu měďnatého v 1 l destilované vody)
- Fehlingovo činidlo II (346 g vinanu sodno-draselného + 120 g hydroxidu sodného v 1 l destilované vody)
- Carrezovo činidlo I (300 g síranu zinečnatého v 1 l destilované vody)
- Carrezovo činidlo II (150 g hexakvanoželeznatanu draselného v 1 l destilované vody)
- Jodid draselný (roztok 3 g KI v 10 ml destilované vody)
- Thiosíran sodný (0,1 mol/l – na výpočet nebyla potřeba přesná koncentrace)
- Selenový katalyzátor
- Škrobový maz
- Murexid
- Thasiro
- Fenolftalein

3.3 Vzorky

Na analýzu vybraných chemických vlastností bylo použito pět vzorků umělé kojenecké výživy a jeden vzorek mateřského mléka. V Tabulce 4 jsou uvedené použité vzorky, včetně jejich výrobců.

Tabulka 4: Použité vzorky a jejich výrobci

Název výživy	Výrobce
Hami 0+	Nutricia a.s.
Hipp bio comibiotik 1	HIPP Czech s.r.o
Babylove PRE	Dm-drogerie markt GmbH + Co. KG
Nutrilon pronutra 1	Nutricia a.s.
Sunar premium 1	HERO CZECH s.r.o.
Mateřské mléko	-

3.4 Pracovní postupy

Tato část práce popisuje jednotlivá stanovení krok po kroku. Na veškeré stanovení byla použita pouze destilovaná voda.

3.4.1 Příprava vzorků

Aby byla možnost vzorky porovnat, musela být umělá kojenecká převedeny do roztoku. Roztoky umělého mléka byly připraveny podle návodu, který byl uveden na obalu. Na jednu dávku mléka připadá 13 g sušeného mléka a 90 ml vlažné vody. Po důkladném rozmíchání a homogenizaci byly vzorky připraveny ke stanovení.

3.4.2 Příprava Chelatonu 3

Na přípravu 1 l Chelatonu 3 bylo použito 1,8305 g této látky. Koncentrace výsledného chelatonu 3 byla 0,009840 mol/l.

3.4.3 Stanovení sušiny

Na váhy analyzátoru vlhkosti KERN bylo naváženo cca 1 g UM. Sušení probíhalo o při konstantní teplotě 105 °C tak dlouho, dokud nebylo tři po sobě jdoucí měření hmotnosti konstantní. Měření hmotnosti probíhalo každých 20 s.

3.4.4 *Stanovení vápníku*

Z připraveného roztoku UM bylo odpipetováno 50 ml do dvou titračních baněk. Do každé baňky bylo přidáno 100 ml vody, 5 ml 4 M NaOH a na špičku lžičky indikátoru Murexid. Takto připravený roztok byl ztitrován odměrným roztokem Chelatonu 3 z růžového do fialového zbarvení.

Z roztoku MM bylo odpipetováno 10 ml do 250 ml odměrné baňky, která byla doplněna po rysku vodou. Na stanovení bylo pipetováno po 50 ml do dvou titračních baněk, naředěného roztoku mléka. Další postup byl stejný jako u UM.

3.4.5 *Stanovení sacharidů podle Fehlinga*

Z připraveného roztoku UM bylo odpipetováno 10 ml do 100 ml odměrné baňky. Bylo přidáno 10 ml Carezzova činidla I a směs se nechala 4 minuty reagovat, poté bylo přidáno 10 ml Carezzova činidla II a odměrná baňky byla doplněna po rysku. Následovala filtrace, kdy se prvních 20 ml filtrátu vylilo a z dalšího filtrátu bylo pipetováno dvakrát po 10 ml do dvou Erlenmajerových baněk. K 10 ml vyčeřeného roztoku mléka bylo přidáno 10 ml Fehlingova činidla I a 10 ml Fehlingova činidla II, 20 ml vody a několik varných kuliček. Na slepý pokus bylo použito 10 ml vody místo roztoku mléka. Všechny baňky byly postaveny na elektrický vaříč a vařily se cca 2 minuty, kdy postupně došlo k vyloučení hnědého oxidu měďného. Baňky se ochladily pod proudem vody a do každé se přidal roztok KI (3 g KI v 10 ml H₂O) a 10 ml 25% H₂SO₄. Vyloučený jód byl titrován odměrným roztokem thiosíranu sodného na škrobový maz z tmavě hnědé do smetanové barvy.

Z MM se odpipetovalo 10 ml mléka do 100 ml odměrné baňky, ve které došlo k vyčeření roztoku pomocí Carezzových činidel, po následné filtraci bylo na stanovení použito 10 ml již čirého roztoku. Dále se postupovalo jako u UM.

3.4.6 *Stanovení tuku podle Röse-Gottlieba*

Z roztoku UM nebo MM bylo do dělicí nálevky odpipetováno 10 ml, což odpovídá cca 10 g. Byly přidány 2 ml amoniaku a směs se promíchala. Dále bylo přidáno 10 ml ethanolu a dělicí nálevka se protřepala. Na první extrakci bylo použito 25 ml diethyletheru a jednu minutu byl obsah nálevky promícháván. Poté bylo přidáno 25 ml petroletheru a baňkou se intenzivně minutu třepalo. Po oddělení vodné a organické fáze, se spodní organickou odpustila do předem zvažené baňky s kulatým dnem, která byla umístěna ve vodní lázni. Vodná fáze se přelila do další dělicí nálevky s 5 ml ethanolu. Po protřepání bylo přidáno 15 ml diethyletheru, a 15 ml petroletheru. Po ustanovení rovnováhy se fáze opět jednotlivě oddělily, organická do

baňky a vodná fáze do další nálevky. Při poslední extrakci se opět použilo 15 ml diethyletheru a 15 ml petroletheru a postup se zopakoval. V baňce, která byla umístěna ve vodní lázni, došlo k odpaření rozpouštědel, následně byla baňka vložena do sušárny a poté do exsikátoru.

3.4.7 *Stanovení bílkovin podle Kjeldahla*

Do mineralizační zkumavky se převedlo 5 ml roztoku UM nebo MM. Bylo přidáno 25 ml koncentrované kyseliny sírové, 3 g selenového katalyzátoru a varné kamínky. Stojan se zkumavkami se vložil do topného hnízda mineralizátoru a na přístroji se nastavil 70% výkon a čas 100 minut. Reakční směs se vařila do té doby, než změnila svou původně černou barvu na světle zelenou a poté ještě dalších 20 minut. Po uplynutí této doby byly zkumavky vytaženy z topného hnízda a nechaly se volně zchladnout. Po vychladnutí se obsah zkumavek převedl do 100 ml odměrných baněk a ty se doplnily po rysku vodou. Po sestavení destilační aparatury bylo do destilační baňky pipetováno 10 ml roztoku vzorku a opatrně se připouštělo 20 ml 30% NaOH, tím se uvolnil amoniak, který se absorboval do 0,04165 molární kyseliny sírové, která byla v titrační baňce spolu s indikátorem Thasiro. Nezreagovaná kyselina sírová byla ztitrována odměrným roztokem 0,08722 molárního hydroxidu sodného do odbarvení roztoku.

4 Výsledky a diskuze

Cílem práce bylo stanovit vybrané chemické vlastnosti nejen mateřského mléka ale i jeho umělých náhrad, porovnání s údaji na etiketě, které jsou deklarovány výrobcem, ale i posouzení obsahu látek z pohledu legislativy.

V této kapitole jsou uvedeny všechny výsledky z jednotlivých měření umělé výživy i mateřského mléka. Bylo provedeno stanovení vybraných chemických vlastností, jako je obsah sacharidů, tuků bílkovin a vápníku. Měření bylo provedeno u pěti vzorků umělé výživy a jednoho vzorku mateřského mléka. Výsledky jsou shrnuty do tabulek, ve kterých můžeme jednotlivá umělá mléka porovnat mezi sebou a srovnat s testovaným mateřským mlékem. V příložených tabulkách jsou uvedeny také obsahy látek, které jsou deklarovány výrobcem.

4.1 Stanovení sušiny

Jelikož je umělá kojenecká výživa komerčně dodávána v práškové podobě, je zapotřebí aby obsahovala co nejméně vlhkosti, v případě opaku by mohlo dojít nejen k mikrobiologické kontaminaci ale i k znehodnocení nutričních hodnot mléka. Proto byl u vzorků UM změřen obsah sušiny pomocí analyzátoru vlhkosti značky KERN.

V následující Tabulce 5 jsou uvedeny jednotlivé obsahy sušiny.

Tabulka 5: Obsah sušiny vzorků UM

Vzorek	Obsah sušiny [%]
Hami 0+	95,64
Hipp bio combiotik 1	97,62
Babylove	97,73
Nutrilon pronutra1	94,99
Sunar	95,77

Nejvíce sušiny, to znamená nejméně vlhkosti obsahovalo mléko značky Babylove s necelými 98 %, naopak nejméně sušiny obsahovalo mléko Nutrilon pronutra 1 a to o 2,74 % než mléko Babylove. Všechny vzorky však obsahovaly více jak 94 % sušiny.

4.2 Stanovení vápníku

Dalším parametrem, který byl sledován, byl obsah vápníku. Ten je důležitý hlavně pro správný vývoj kostí dítěte, při jeho nedostatku dochází ke zvýšenému kažení zubů, ale může dojít až k řídnutí kostí či nevratné rachitidě neboli křivici.

Na stanovení byla použita chelatometrická titrace s vizuální indikací bodu ekvivalence, za použití barevného indikátoru Murexid. V Tabulce 6 jsou uvedeny získané výsledky měření a hodnoty uvedené na obalu výrobku.

Tabulka 6: Stanovení vápníku chelatometricky.

Vzorek	Obsah Ca [mg/100 ml mléka] – stanovení	Obsah Ca [mg/100 ml mléka] – obal
Hami 0+	29,89	45,00
Hipp bio combiotik 1	27,80	50,00
Babylove	30,29	66,00
Nutrilon pronutra 1	27,57	55,00
Sunar	27,68	44,00
MM	31,33	-

Z výsledků je patrné, že nejvíce vápníku obsahovalo mateřské mléko s hodnotou 31,33 mg Ca na 100 ml, nejvíce se této hodnotě přiblížilo umělé mléko značky Babylove s obsahem 30,29 mg na 100 ml mléka. Koncentrace stanoveného vápníku jsou cca o polovinu nižší, než uvádí výrobce. Proto byla také vyzkoušena titrační metoda ISO 12081 (viz. Kap. 2.9.2). I přes dodržení postupu nebyl touto metodou stanoven žádný vápník v mléce z důvodu nevytvoření potřebné sraženiny šřavelanu vápenatého.

4.3 Stanovení sacharidů podle Fehlinga

Dalším stanovovaným parametrem byl obsah sacharidů, konkrétně redukujících cukrů vyjádřených jako množství laktózy. Laktóza neboli mléčný cukr je důležitá pro vstřebávání některých minerálních látek jako je vápník a železo, tvoří podstatnou část energetické hodnoty mléka.

Redukující cukry byly stanoveny metodou podle Fehlinga, která je založena na vyloučení červeného oxidu měďného a následné nepřímé jodometrické titraci.

Stanovení cukrů bylo podstatně přesnější což je vidět i na výsledných hodnotách jednotlivých vzorku. Na obalu výrobků jsou uvedeny nejen hodnoty sacharidů, ale také přímo obsah laktózy, k těmto hodnotám jsem vztáhla i moje výsledky. V následujících Tabulce 7 jsou uvedeny výsledné hodnoty laktózy jak u umělého mléka, tak u mléka mateřského.

Tabulka 7: Stanovení sacharidů podle Fehlinga

Vzorek	Obsah redukujících cukrů [g/100 ml mléka] – Stanovení	Obsah sacharidů [g/100 ml mléka] – obal	Obsah laktózy [g/100 ml mléka] – obal
Hami 0+	7,05	7,30	7,20
Hipp bio combiotik 1	7,30	7,30	7,20
Babylove	7,55	7,70	7,70
Nutrilon pronutra 1	7,05	7,30	7,30
Sunar	7,05	7,30	7,00
MM	6,05	-	-

Z výsledků je v tomto případě patrné, že mateřské mléko obsahovalo přibližně o cca 14 % méně laktózy než testované náhrady. V případě UM se všechny hodnoty obsahu pohybovaly okolo 7 g. Pouze vzorek Babylove měl o 0,5 g sacharidů více jak je patrné i z informací na obalu. Z hodnot uvedených na obalu je patrné, že UM neobsahovala pouze laktózu ale i jiné sacharidy, nejčastěji se jedná o sacharózu nebo glukózu, pouze v případě náhrad značky Babylove a Nutrilon pronutra 1 byla při výrobě použita pouze laktóza.

4.4 Stanovení tuků podle Röse-Gottlieba

Mezi hlavní parametry patří také obsah tuku. Nenasycené mastné kyseliny, obsažené v TAG konkrétně kyselina dokosaheptaenová je velmi důležitá pro vývoj centrální nervové soustavy, mozku a optické soustavy oka kojence.

Tuky byly stanoveny rozhodčí metodou podle Röse-Gottlieba, což je metoda, která využívá opakované extrakce vzorku pomocí organických rozpouštědel, konkrétně diethyletheru a petroletheru.

Výsledky měření jsou uvedeny v Tabulce 8 spolu s informací na etiketě.

Tabulka 8: Stanovení tuků podle Röse-Gottlieba

Vzorek	Obsah tuku [g/100 ml mléka] – Stanovení	Obsah tuku [g/100 ml mléka] – obal
Hami 0+	3,27	3,40
Hipp bio combiotik 1	3,27	3,50
Babylove	3,05	3,10
Nutrilon pronutra 1	3,21	3,40
Sunar	3,29	3,50
MM	4,79	-

Obsah tuků u všech náhrad mateřského mléka byl nižší, než je uvedeno na obalu a pohyboval se v rozmezí 3,05 – 3,29 g/100 ml mléka. Mateřské mléko obsahovalo cca o 1,5 g tuku více než umělé mléko s nejvyšším obsahem tuku, to může být ovlivněno i životním stylem matky. Nejméně tuku naopak obsahovalo mléko značky Babylove a to i podle hodnot uvedených od výrobce.

4.5 Stanovení bílkovin podle Kjeldahla

Poslední analýzou byl zjištěn obsah bílkovin, ty jsou nejdůležitější a nejstálější složkou mléka. Důležité jsou proto, že obsahují imunolátky potřebné pro nastartování imunitního systému kojence.

Metodou podle Kjeldahla byl stanoven obsah hrubých bílkovin tedy obsah celkového dusíku. Metoda je založena na kyselé mineralizaci vzorku, kdy se dusíkaté látky převedou na síran amonný a amoniak, který se absorbuje do kyseliny sírové. Nezreagovaná kyselina se poté stanoví alkalimetrickou titrací V příložené Tabulce 9 lze porovnat stanovené a deklarované hodnoty obsahu bílkovin.

Tabulka 9: Stanovení bílkovin dle Kjeldahla

Vzorek	Obsah bílkovin [g/100 ml mléka] – stanovení	Obsah bílkovin [g/100 ml mléka] – obal
Hami 0+	1,21	1,30
Hipp bio combiotik 1	1,78	1,25
Babylove	1,54	1,40
Nutrilon pronutra 1	1,18	1,30
Sunar	1,23	1,30
MM	0,71	-

U vzorků Hami 0+, Nutrilon pronutra 1 a Sunar se hodnoty obsahu hrubých bílkovin pohybovaly okolo 1,2 g/100 ml mléka. V tomto případě mateřské mléko obsahovalo nejméně bílkovin a to pouze 0,71 g/100 ml mléka, což je přibližně o 50 % méně než uvedené náhrady. Výsledky jednoho vzorku umělého mléka, konkrétně vzorku Hipp bio combiotik 1 se výrazně liší od hodnot ostatních vzorků ale také od hodnoty, kterou uvádí výrobce.

4.6 Porovnání s legislativou

V příloze 4 jsou přiloženy tabulky z vyhlášky č. 54/2004 Sb., ve kterých jsou uvedeny legislativní rozmezí hodnot pro vybrané parametry, týkající se počáteční kojenecké výživy.

Hodnoty laktózy a bílkovin byly u zkoumaného vzorku mateřského mléka nižší, než jaké uvádí některé publikace u průměrného vzorku. Naopak obsah tuku byl výrazně vyšší. Tyto parametry jsou velmi ovlivněny stravou matky, dobou, kdy bylo mateřské mléko odsáto, ale také psychickou pohodou matky. Proto nemohu uvést, jestli jsou výsledky špatné nebo dobré. Záleží pouze na kojenci, zda je schopen ho přijímat a postačí mu v jeho výživě. Pokud ano je všechno v pořádku, pokud ne, musí se matka přiklonit k umělé výživě.

Hranici minimálního daného obsahu tuku, který je u počáteční kojenecké výživy stanoven na 2,63 g/100 ml mléka dodržují všechny testované vzorky. Jejich obsah se pohyboval okolo 3 g/100 ml mléka. Stanovením obsahu sacharidů bylo zjištěno že všechny vzorky splňují legislativní normy, minimální obsah laktózy je stanoven 1,1 g/100 kJ což odpovídá zhruba 2,80 g/100 ml mléka. U stanovení bílkovin daný minimální obsah splňují 4 z 5 analyzovaných UM. Pouze vzorek Nutrilon pronutra 1 tento obsah nespĺňoval. Zde je minimální obsah u mléka vyrobeného z kravského nebo kozího mléka stanoven na 0,45 g/100 kJ což je přibližně 1,125 g/100 ml umělého mléka. Legislativně dané rozmezí obsahu vápníku splňuje pouze mléko značky Babylove. U obsahu vápníku je toto rozmezí po přepočtení na 250 kJ zhruba 30 mg – 82,5 mg/100 ml mléka.

5 Závěr

Mateřské mléko dokonale pokryje potřeby dítěte a dokáže se jim také přizpůsobit, což je v prvních měsících života nejdůležitější. Pokud ovšem matka nemůže nebo nechce kojit, musí přejít na umělou kojeneckou stravu, která je nejčastěji vyrobena na bázi kravského mléka. Výrobci se snaží co nejpřesněji napodobit mateřské mléko, umělé kojenecké mléko obohacují o vitamíny, minerální látky nebo sacharidy, musí při tom ovšem dodržovat přísnou legislativu.

V praktické části jsem se věnovala vzorkům kojenecké výživy řady 1, tedy počáteční kojenecké výživě. U vybraných výživ byly stanoveny základní výživové parametry, mezi které patří obsah sacharidů, tuků, bílkovin a vápníku jako zástupce minerálních látek. Jednotlivé parametry jsem stanovovala klasickými analytickými metodami. Vápník byl stanoven chelatometricky, sacharidy metodou podle Fehlinga, stanovení tuku bylo provedeno rozhodčí gravimetrickou metodou podle Röse-Gottlieba a veškeré bílkoviny podle Kjeldahla.

První analýzou bylo zjištěno, že všechny vzorky UM obsahovali více jak 94,5 % sušiny, což znamená méně jak 5,5 % vlhkosti. Chelatometrickou metodou stanoveno, že nejvíce vápníku obsahuje mléko mateřské a to až 33 mg vápníku na 100 ml mléka což je podle některých publikací více než je obsaženo v průměrném vzorku mateřského mléka. Naopak nejméně ho obsahovalo umělé mléko značky Nutrilon pronutra 1. U stanovení obsahu laktózy se všechny hodnoty pohybovaly okolo 7 g/100 ml což odpovídá i obsahu laktózy, které uvádějí výrobci na obalu. Obsah tuku ve všech vzorcích umělé výživy splňoval legislativní limity, které jsou stanoveny vyhláškou č. 54/2004 Sb. Posledním zkoumaným parametrem byl obsah bílkovin. Hodnoty obsahu bílkovin u UM překročily hranici 1 g/100 ml, kdežto mléko mateřské obsahovalo pouze 0,71 g hrubých bílkovin.

Všechny vzorky náhrad mateřského mléka splňovaly legislativní nároky u stanovení tuků a cukrů, u stanovení bílkovin hranici minimálního obsahu splňovaly čtyři zkoumané vzorky. Obsah vápníku byl u čtyřech vzorků pod legislativním minimem, a to nejspíše z důvodu zvolení špatné metody stanovení.

6 Použitá literatura

- 1) HRSTKOVÁ, H.: *Výživa kojenců a mladších batolat*, Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, Brno, 2003, ISBN 80-7013-385-6.
- 2) HANREICH, I.: *Výživa kojenců, aneb, Jídlo a pití v prvním roce života*, Grada, Praha, 2000, ISBN 80-7169-841-5.
- 3) MUNTAU, A.: *Pediatric*, Grada, Praha, 2009, ISBN 978-80-247-2525-3.
- 4) RYBÁNSKÁ, M., HALAMOVÁ-BUCHMEROVÁ, V.: *Materské mlieko – najlepšia výživa*, Ústav zdravotnej výchovy, Bratislava, 1979.
- 5) NEVORAL, J.: *Výživa v dětském věku*, H & H, Jinočany, 2003, ISBN 80-86022-93-5.
- 6) KLÍMOVÁ, A. a kolektiv autorů.: *Kojení Dar pro život*, Press, Brno, 1995.
- 7) SVAČINA, Š.: *Klinická dietologie*, Grada, Praha, 2008. ISBN 978-80-247-2256-6.
- 8) KUDLOVÁ, E., MYDLILOVÁ, A.: *Výživové poradenství u dětí do dvou let*, Grada, Praha 2005 ISBN 80-247-1039-0.
- 9) JIŘÍ DORT a kolektiv autorů.: *Neonatalogie: vybrané kapitoly pro studenty LF*, Karolinum, Praha, 2004, ISBN 80-246-0790-5.
- 10) FORMAN, L.: *Mlékárenská technologie II*, Vysoká škola chemicko-technologická Praha, 1994 ISBN 80-7080-214-6.
- 11) GREGORA, M., ZÁKOSTELECKÁ, D.: *Jídelníček kojenců a malých dětí*, Grada, Praha, 2014 ISBN 978-80-247-4773-6.
- 12) GREGORA, M., VELEMÍNSKÝ M.: *Nová kniha o těhotenství a mateřství*, Grada, Praha, 2011, ISBN 978-80-247-3081-3.
- 13) DRBOHLAV, J., DĚDEK M.: *Mýty a skutečnost mléčné kojenecké a dětské výživy*. VOX PEDIATRIE, roč. 6, březen 2006, č. 3, str. 38-39. ISSN 1213-2241.
- 14) JANŠTOVÁ, B., NAVRÁTILOVÁ, P.: *Návody do cvičení z technologie a hygieny mléka a mléčných výrobků*, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, fakulta veterinární hygieny a ekologie, Brno, 2014.
- 15) BURIÁNEK, T.: *Metody analýzy potravin*, Střední průmyslová škola chemická, Brno, 2008.
- 16) KLECKEROVÁ, A.: *Chemie potravin*, Mendelova univerzita v Brně – agronomická fakulta, Brno, 2014.
- 17) *Návody do laboratoří z analýzy potravin*, Univerzita Pardubice – fakulta chemicko-technologická.

- 18) WILLIAMSON, S., FINUCANE, E., ELLIS, H., GAMSU, H., R., *Effect of heat treatment of human milk on absorption of nitrogen, fat, sodium, calcium, and phosphorus by preterm infants*, Archives of Disease in Childhood, volume 53, (1978), str. 557, DOI: 10.1136/adc.53.7.555.
- 19) DI, W., NIE, P., YONG, H., YIDAN, B., *Determination of calcium content in powdered milk using near and mid-infrared spectroscopy with variable selection and chemometrics*, Food Bioprocess Technol, volume 5, (2012), str. 1402, DOI: 10.1007/s11947-010-0492-4.
- 20) VORLOVÁ, L., KRÁLOVÁ, M., BORKOVCOVÁ, I., KOSTRHOUNOVÁ, R., *Chemie potravin a chemické laboratorní metody-praktická cvičení*, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, fakulta veterinární hygieny a ekologie, Brno, 2014.
- 21) FUSCH, G., CHOI, A., ROCHOW, N., FUSCH, CH., *Quantification of lactose content in human and cow's milk using UPLC-tandem mass spectrometry*, Journal of Chromatography B, volume 879, (2011), str. 3759, DOI: 10.1016/j.jchromb.2011.09.053.
- 22) CHRASTINA, P., ŠŤASTNÁ, S., MYŠKOVÁ, H., ZEMAN, J., *Tandemová hmotnostní spektrometrie – budoucnost novorozeneckého screeningu dědičných metabolických poruch*, Klinická biochemie a metabolismus, roč. 2, (2005), str. 79.
- 23) MITOULAS, L., R., KENT, C., J., COX, B., D., OWENS R., A., SHERRIFF, L., J., HARTMANN, E., P., *Variation in fat, lactose and protein in human milk over 24 h and throughout the first year of lactation*, Journal of Nutrition, volume 88, (2002), str. 30, DOI: 10.1079/BJN2002579.
- 24) SILVESTRE, D., FRAGA, M., GORMAZ, M., TORRES, E., VENTO, M., *Comparison of mid-infrared transmission spectroscopy with biochemical methods for the determination of macronutrients in human milk*, Maternal & Child Nutrition, volume 10, (2014), str. 375, DOI: 10.1111/j.1740-8709.2012.00431.x.
- 25) VYHLÁŠKA Č. 54/2004 Sb.
http://www.lekarnici.cz/Podpora/Clanky/Zdravotnictvi_puvod/Vyhlaska-c--54-2004-Sb-.aspx

7 Přílohy

Příloha 1: Doporučené denní dávky některých minerálních látek	45
Příloha 2: Umělá kojenecká výživa na našem trhu	45
Příloha 3: ČSN NORMA 570529	47
Příloha 4: Základní složení počáteční a pokračovací výživy, které je uvedeno ve vyhlášce č. 54/2004 Sb.	48

Příloha 1: Doporučené denní dávky některých minerálních látek

P1 – 1: Doporučená denní dávka vápníku

Kojenci	0. – 6. měsíc	500 mg/den
Kojenci	7. – 12. měsíc	600 mg/den
Batolata	1. – 3. rok	400 mg/den
Děti	4. – 6. rok	450 mg/den

P1 – 2: Doporučená denní dávka železa

Kojenci	7. – 12 měsíc	8,5 mg/den
Batolata	1. – 3. rok	5,0 mg/den
Děti	4. – 6. let	5,5 mg/den

Příloha 2: Umělá kojenecká výživa na našem trhu

P2 – 1: Počáteční mléka

Umělá kojenecká výživa	Výrobce
Nutrilon 1/ Nutrilon 1 profutura	Nutricia a.s.
Sunar complex 1/ Sunar premium 1	HERO CZECH s.r.o.
HIPP combiotic 1	HIPP Czech s.r.o.
Hami 0+	Nutricia a.s.
Beba optipro1/ Beba optipro comfort 1	Nestlé

P2 – 2: Pokračovací mléka

Umělá kojenecká výživa	Výrobce
Nutrilon 2/ Nutrilon 2 profutura	Nutricia a.s.
Sunar complex 2/ Sunar premium 2	HERO CZECH s.r.o.
HIPP combiotic 2	HIPP Czech s.r.o.
Hami 6+	Nutricia a.s.
Beba optipro 2/ Beba optipro comfort 2	Nestlé

P2 – 3: Batolecí mléka

Umělá kojenecká výživa	Výrobce
Nutrilon 3/ Nutrilon 3 profutura	Nutricia a.s.
Sunar complex 3/ Sunar premium 3	HERO CZECH s.r.o.
HIPP combiotic 3 JUNIOR	HIPP Czech s.r.o.
Hami 12+	Nutricia a.s.
Beba optipro 3/ Beba optipro comfort 3	Nestlé

P2 – 4: Speciální mléka

Umělá kojenecká výživa	Výrobce
Beba AR – proti ublinkávání	Nestlé
Beba Sensitive	Nestlé
Beba HA – hypoalergenní mléko	Nestlé
Nutrilon 1 ProExpert Allergy Care	Nutricia a.s.

Příloha 3: ČSN NORMA 570529

Požadavky na mléko – ČSN 570529 syrové kravské mléko [10]

Počet smyslových elementů v mléce smí být nanejvýše 300 000 v 1 ml.

Smyslové znaky jakosti

Mléko musí odpovídat těmto požadavkům:

- Barva: bílá, případně s lehce nažloutlým odstínem
- Konzistence a vzhled: stejnorodá tekutina bez usazenin, vloček a hrubých nečistot

Fyzikální a chemické vlastnosti

Mléko musí odpovídat těmto požadavkům:

- Obsah tuku nejméně 33,0 g/l
- Obsahu tukuprosté sušiny nejméně 8,60 hm%
- Kyselost mléka nejméně 6,2 SH°, nejvýše 8,0 SH°
- Stupeň mechanických nečistot – nejvýše III. stupně

Teplota mléka připraveného k dodávce do mlékárny musí být po 150 minutách od začátku dojení nejvýše 10 °C. Mléko nesmí být zmrzlé a namrzlé na stěnách chladících úschovných zařízení.

Mikrobiologické požadavky

V mléce nesmí být přítomny patogenní, podmíněně patogenní, toxigenní mikroorganismy a jejich produkty. Musí odpovídat těmto požadavkům:

- Celkový počet mikroorganismů nejvýše 100 000 v 1 ml
- Počet psychrotrofních MO nejvýše 50 000 v 1 ml
- Počet termorezistentních MO nejvýše 2 000 v 1 ml
- Počet koliformních MO nejvýše 1 000 v 1 ml
- Sporotvorné anaerobní bakterie v 0,1 ml – test negativní

Příloha 4: Základní složení počáteční a pokračovací výživy, které je uvedeno ve vyhlášce č. 54/2004 Sb. [24]

P4 - 1: Vybrané parametry vztahující se k počáteční výživě

Kritérium	Minimum	Maximum
Energie	250 kJ/100 ml	295 kJ/100 ml
Bílkoviny (výživa vyrobená z kravského nebo kozího mléka)	0,45 g/100 kJ	0,7 g/100 kJ
Bílkoviny (výživa vyrobená z hydrolyzovaných bílkovin)	0,45 g/100 kJ	0,7 g/100 kJ
Bílkoviny (výživa vyrobená z izolátů sójových bílkovin, samostatně nebo ve směsi s bílkovinami kravského nebo kozího mléka)	0,56 g/100 kJ	0,7 g/100 kJ
Tuky	1,05 g/100 kJ	1,4 g/100 kJ
Kyselina linolová (ve formě glyceridů = linoleanů)	70 mg/100 kJ	285 mg/100 kJ
Kyselina α -linolenová	12 mg/100 kJ	-
Sacharidy	2,2 g/100 kJ	3,4 g/100 kJ
Laktóza	1,1 g/100 kJ	-
Vápník	12 mg/100 kJ	33 mg/100 kJ
Sodík	5 mg/100 kJ	14 mg/100 kJ
Draslík	15 mg/100 kJ	38 mg/100 kJ
Chlorid	12 mg/100 kJ	38 mg/100 kJ
Thiamin	14 μ g/100 kJ	72 μ g/100 kJ
Riboflavin	19 μ g/100 kJ	95 μ g/100 kJ
Kyselina pantothenová	95 μ g/100 kJ	475 μ g/100 kJ
Vitamín C	2,5 μ g/100 kJ	7,5 μ g/100 kJ
Vitamín K	1 μ g/100 kJ	6 μ g/100 kJ

P4 - 2: Vitamíny

Vitamín	Chemický název vitamínu
Vitamín A	Retinylacetát retinylpalmitát retinol
Vitamín D	vitamin D ₂ (ergokalciferol) vitamin D ₃ (cholecalciferol)
Vitamín B ₁	thiamin hydrochlorid thiamin monodusičnan
Vitamín B ₂	riboflavin riboflavin-5'-fosforečnan sodný
Niacin	nikotinamid kyselina nikotinová
Vitamín B ₆	pyridoxin hydrochlorid pyridoxin-5'-fosforečnan
Kyselina listová	kyselina listová
Kyselina pantothenová	D-pantothenát vápenatý D-pantothenát sodný dexpanthenol
Vitamín B ₁₂	kyanokobalamin hydroxykobalamin
Biotin	D-biotin
Vitamín C	kyselina L-askorbová L-askorban sodný L-askorban vápenatý, askorban draselný kyselina 6-palmityl-L-askorbová (askorbylpalmitan)
Vitamín E	D- α tokoferol DL- α tokoferol D- α tokoferylacetát DL- α tokoferylacetát
Vitamín K	fylochinon (fytomenandion)

P4 – 3: Minerální látky

Minerální látka	Povolené soli
Vápník (Ca)	uhličitan vápenatý, chlorid vápenatý, vápenaté soli kyseliny citronové glukonan vápenatý, glycerolfosforečnan vápenatý mléčnan vápenatý, vápenaté soli kyseliny orthofosforečné hydroxid vápenatý
Hořčík (Mg)	uhličitan hořečnatý, chlorid hořečnatý oxid hořečnatý, hořečnaté soli kyseliny orthofosforečné síran hořečnatý, glukonan hořečnatý hydroxid hořečnatý, hořečnaté soli kyseliny citronové
Železo (Fe)	citronan železnatý, glukonan železnatý mléčnan železnatý, síran železnatý citronan železito-amonný, fumaran železnatý difosforečnan železitý (pyrofosforečnan železitý) bisglycinát železnatý
Měď (Cu)	citronan měďnatý, glukonan měďnatý síran měďnatý, komplex měď-lysin uhličitan měďnatý
Jod (I)	jodid draselný, jodid sodný jodičnan draselný
Zinek (Zn)	octan zinečnatý, chlorid zinečnatý mléčnan zinečnatý, síran zinečnatý citronan zinečnatý, glukonan zinečnatý oxid zinečnatý
Mangan (Mn)	uhličitan manganatý, chlorid manganatý citronan manganatý, síran manganatý glukonan manganatý
Sodík (Na)	hydrogenuhličitan sodný, chlorid sodný citronan sodný, glukonan sodný uhličitan sodný, mléčnan sodný sodné soli kyseliny orthofosforečné hydroxid sodný
Draslík (K)	hydrogenuhličitan draselný uhličitan draselný, chlorid draselný draselné soli kyseliny citronové glukonan draselný, mléčnan draselný draselné soli kyseliny orthofosforečné hydroxid draselný
Selen (Se)	selenan sodný, seleničitan sodný

P4 – 4: Aminokyseliny a jiné dusíkaté látky

L-cystin a hydrochlorid L-cystinu L-histidin a hydrochlorid L-histidinu L-soleucin a hydrochlorid L - isoleucinu L-leucin a hydrochlorid L-leucinu L-lysin a hydrochlorid L-lysinu L-cystein a hydrochlorid L-cysteinu L-methionin L-fenylalanin L-threonin L-tryptofan	L-tyrosin L-valin L-karnitin a hydrochlorid L-karnitinu taurin cytidin-5'-monofosforečnan a jeho sodná sůl uridin-5'-monofosforečnan a jeho sodná sůl adenosin-5'-monofosforečnan a jeho sodná sůl guanosin-5'-monofosforečnan a jeho sodná sůl inosin-5'-monofosforečnan a jeho sodná sůl
---	--

P4 – 5: Jiné nutriční látky

Cholin Chlorid cholinu Citronan cholinu Dvojvinan cholinu Inositol
--

P4 – 6: Referenční hodnoty vitaminů a minerálních látek pro označování výživové hodnoty u počáteční a pokračovací kojenecké výživy

Vitamin / minerální látka	jednotka	Referenční hodnota pro označování
Vitamin A	μg	400
Vitamin D	μg	7
Vitamin E	Mg TE *	5
Vitamin K	μg	12
Vitamin C	mg	45
Thiamin	mg	0,5
Riboflavin	mg	0,7
Niacin	mg	7
Vitamin B ₆	mg	0,7
Kyselina listová	μg	125
Vitamin B ₁₂	μg	0,8
Kyselina pantothenová	mg	3
Biotin	μg	10
Vápník	mg	550
Fosfor	mg	550
Draslík	mg	1000
Sodík	mg	400
Chlorid	mg	500
Železo	mg	8
Zinek	mg	5
Jód	μg	80
Selen	μg	20
Měď	mg	0,5
Hořčík	mg	80
Mangan	mg	1,2

P4 – 7: Obsah nezbytných a podmíněně nezbytných aminokyselin v mateřském mléce
(vyjádřené v mg/100 kJ a mg/100 kcal)

Aminokyselina	na 100 kJ *)	na 100 kcal *)
Cystin	9	38
Histidin	10	40
Isoleucin	22	90
Leucin	40	166
Lysin	27	113
Methionin	5	23
Fenylalanin	20	83
Threonin	18	77
Tryptofan	8	32
Tyrosin	18	76
Valin	21	88

*) 1 kJ = 0,239 kcal

P4 – 8: Pesticidy, které nesmí být používány při zemědělské výrobě surovin určených pro výrobu počáteční a pokračovací kojenecké výživy a pro výrobu obilné a ostatní výživy jiné než obilné určené pro výživu kojenců a malých dětí

Chemický název látky (definice rezidua)
Disulfoton (suma látek disulfoton, disulfoton sulfoxid a disulfoton sulfon, vyjádřeno jako disulfoton)
Fensulfothion (suma látek fensulfhionu, jeho kyslíkatého analogu a jejich sulfonů, vyjádřeno jako fensulfothion)
Fentin, vyjádřený jako kation triphentinu
Haloxyfop (suma látek haloxyfop, jeho solí a esterů včetně konjugátů, vyjádřeno jako haloxyfop)
Heptachlor a trans-heptachlor epoxid, vyjádřeno jako heptachlor
Hexachlorbenzen
Nitrofen
Omethoat
Aldrin a dieldrin, vyjádřeno jako dieldrin
Endrin
Terbufos (suma látek terbufos, jeho sulfoxidu a sulfonu, vyjádřeno jako terbufos)

P4 – 9: Zvláštní maximální limity reziduí pesticidů nebo metabolitů pesticidů v počáteční a pokračovací kojenecké výživě a obilné a ostatní výživě jiné než obilné určené pro výživu kojenců a malých dětí

Chemický název látky	Maximální limit reziduí (mg/kg)
Cadusafos	0,006
Demeton-S-methyl/demeton-S-methyl sulfon/oxymeton-methyl (jednotlivě nebo v kombinaci, vyjádřeno jako demeton-S methyl)	0,006
Ethoprophos	0,008
Fipronil (suma látek fipronil a fipronil-desulfinyl, vyjádřeno jako fipronil)	0,004
Propineb/propylenthioamocovina (suma propinebu a promylenthioamocoviny)	0,006

P4 – 10: Specifikace obsahu a zdroje bílkovin a zpracování bílkovin používaných při výrobě počáteční kojenecké výživy o obsahu bílkovin nižším než 0,56 g/100 kJ (2,25 g/100 kcal) vyrobené z hydrolyzovaných syrovátkových bílkovin získaných z bílkovin kravského mléka

Kritérium	Minimum	Maximum	Poznámka
1. Obsah bílkovin	0,44 g/100 kJ (1,86 g/100 kcal)	0,7 g/100 kJ (3 g/100 kcal)	Obsah bílkovin = obsah dusíku x 6,25
1. Zdroj bílkovin	<p>Bílkoviny z demineralizované sladké syrovátky získané z kravského mléka po enzymatickém vysrážení kaseinů pomocí chymozinu, které sestávají z těchto látek:</p> <p>a) 63 % izolátů syrovátkových bílkovin bez kaseinových makropeptidů s minimálním obsahem bílkovin v sušině 95 % a méně než 70 % denurací bílkovin a obsahem popela nejvýše 3 % a</p> <p>b) 37 % bílkovinného koncentráту ze sladké syrovátky s minimálním obsahem bílkovin v sušině 87 % a méně než 70 % denurací bílkovin a obsahem popela nejvýše 3,5 %.</p>		
2. Zpracování bílkovin	<p>Dvoustupňový proces hydrolýzy s použitím přípravku z trypsinu, přičemž mezi těmito dvěma stupni hydrolýzy dochází k tepelnému ošetření (3 – 10 minut při teplotě 80 až 100 °C).</p>		