

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor č. 6: Zdravotnictví

Laktózová intolerance

**Kateřina Ptáčková
Liberecký kraj**

Liberec 2019

STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor č. 6: Zdravotnictví

Laktózová intolerance

Lactose intolerance

Autoři: Kateřina Ptáčková

Škola: Gymnázium a Střední odborná škola pedagogická, Liberec,
Jeronýmova 425/27, příspěvková organizace, 46007

Kraj: Liberecký kraj

Konzultant: RNDr. Alena Havlíková; Mgr. Kseniya Dryahina
Ph.D.

Liberec 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou práci SOČ vypracovala samostatně a použila jsem pouze prameny a literaturu uvedené v seznamu bibliografických záznamů.

Prohlašuji, že tištěná verze a elektronická verze soutěžní práce SOČ jsou shodné.

Nemám závažný důvod proti zpřístupňování této práce v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších předpisů.

V Liberci dne

Kateřina Ptáčková

Poděkování

Chtěla bych tímto poděkovat své vedoucí této středoškolské odborné práce paní RNDr. Aleně Havlíkové za obětavou pomoc a cenné rady při tvorbě této práce. Rovněž bych jí a paní Ing. Květoslavě Stejskalové CSc. tímto chtěla poděkovat za zprostředkování stáže v Ústavu fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského v Praze na oddělení analýzy dechu.

Velký dík patří paní Mgr. Kseniye Dryahine Ph.D. a prof. RNDr. Patriku Španělovi Dr. rer. nat. za množství informací a zkušeností, které jsem díky nim získala a mohla je ve své práci použít.

Anotace

Tato práce seznamuje čtenáře s problematikou laktóзовé intolerance, která se v dnešní době stala často diskutovaným tématem v oblasti výživy člověka. Laktóзовou intolerancí se rovněž zabývá otázka, zda-li je mléko pro dospělého člověka prospěšné, či nikoliv.

Hlavním tématem práce je analýza těkavých látek v dechu dobrovolníků po požití klasického mléka a následné porovnání s hodnotami po požití industriálně připraveného mlékem bez obsahu laktózy. Látky byly analyzovány metodou SIFT-MS.

Dílčím tématem je také příprava bezlaktóзовého mléka v laboratorních podmínkách.

Klíčová slova: laktóзовá intolerance, laktóza, laktáza, lidský dech, hmotnostní spektrometrie, SIFT-MS

Annotation

This project informs about an issue of lactose intolerance, which has become a frequently discussed topic in a field of human nutrition. Lactose intolerance is also a part of a greater topic whether or not milk is beneficial for adult population.

The main subject of this project constitutes of an analysis of volatile substances in breath of a group of volunteers after drinking normal or lactose-free milk. Substances were analyzed on a SIFT-MS machine. Other part of the project looks into preparation of lactose-free milk in laboratory conditions.

Key words: lactose intolerance, lactose, lactase, human breath, mass spectrometry, SIFT-MS

SEZNAM ZKRATEK	8
ÚVOD.....	9
1 LAKTÓZOVÁ INTOLERANCE	9
1.1 CHARAKTERISTIKA	9
1.2 LAKTÓZA	10
1.2.1 Výskyt v mléce	10
1.2.2 Laktóza v kravském mléce.....	11
1.2.3 Laktóza v průmyslu.....	11
1.3 LAKTÁZA	12
1.4 LAKTÓZOVÉ TOLERANCE VERSUS LAKTÓZOVÁ INTOLERANCE	12
1.4.1 Princip laktóзовé tolerance	12
1.4.2 Princip laktóзовé intolerance	13
1.5 PŘÍZNAKY LAKTÓZOVÉ INTOLERANCE	14
1.6 TYPY LAKTÓZOVÉ INTOLERANCE.....	14
1.6.1 Vrozená laktóзовá intolerance	14
1.6.2 Primární laktóзовá intolerance	14
1.6.3 Sekundární laktóзовá intolerance	15
1.7 LAKTÓZOVÁ INTOLERANCE A ALERGIE NA MLÉČNOU BÍLKOVINU.....	15
2 VZNIK A PREVALENCE LAKTÓZOVÉ INTOLERANCE	16
2.1 HYPOTÉZY VZNIKU LAKTÓZOVÉ TOLERANCE.....	16
2.1.1 Hypotéza vzniku v oblastech s nižší expozicí slunečního záření.....	16
2.1.2 Cookova a al-Torkiho hypotéza	16
2.1.3 Simoonsova a McCrankova hypotéza.....	17
2.2 PREVALENCE LAKTÓZOVÉ TOLERANCE	18
3 DIETNÍ OPATŘENÍ	19
3.1 OMEZENÍ PŘÍJMU LAKTÓZY.....	19
3.2 UMĚLÉ DODÁNÍ LAKTÁZY	19
3.3 INDUSTRIÁLNĚ UPRAVENÉ BEZLAKTÓZOVÉ VÝROBKY	20
3.3.1 Odstranění laktózy z mléčného výrobku.....	20
3.4 VÁPŇÍK	20
4 DIAGNOSTIKA LAKTÓZOVÉ INTOLERANCE	21
4.1 EXPOZIČNÍ TEST	21
4.2 LAKTÓZOVÝ TOLERANČNÍ TEST	21
4.3 TEST KYSELOSTI STOLICE	21
4.4 DECHOVÝ TEST	21
4.5 GENETICKÝ TEST.....	22
PRAKTICKÁ ČÁST	23
5 PŘÍPRAVA MLÉKA SE SNÍŽENÝM OBSAHEM LAKTÓZY	23
5.1 LABORATORNÍ PŘÍPRAVA	24
5.1.1 Použité chemikálie.....	24
5.1.2 Pomůcky.....	25

5.1.3	Postup práce.....	25
6	ANALÝZA TĚKAVÝCH LÁTEK POMOCÍ SIFT – MS	30
6.1	PRINCIP METODY SIFT-MS.....	30
6.2	MĚŘENÍ LÁTEK V HEADSPACE MLÉČNÝCH VÝROBKŮ	31
7	STANOVENÍ KONCENTRACE TĚKAVÝCH LÁTEK V DECHU	33
7.1	DOBROVOLNÍCI.....	33
7.2	PROTOKOL MĚŘENÍ DECHU.....	33
7.3	STANOVENÍ BĚŽNÉ KONCENTRACE LÁTEK V LIDSKÉM DECHU	34
7.4	OVLIVNĚNÍ HLADINY LÁTEK V DECHU PO POŽITÍ MLÉKA	35
8	DISKUZE	38
9	ZÁVĚR	39
10	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	40
11	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	43
12	SEZNAM TABULEK.....	44
	PŘÍLOHY.....	45

SEZNAM ZKRATEK

- DNA = deoxyribonukleová kyselina
- LI = laktózová intolerance
- pH = potential of hydrogen (překlad: potenciál vodíku)
- ppb = parts per bilion (překlad: počet dílů na miliardu)
- SIFT-MS = selected ion flow tube mass spectrometry (překlad: hmotnostní spektrometrie v proudové trubici s vybranými ionty)
- UHT = ultra-high temperature (překlad: vysokoteplotní)
- UV (záření) = ultraviolet (překlad: ultrafialové záření)
- ÚFCHJH = Ústav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského

ÚVOD

Laktózová intolerance je nepříjemná součást života podstatné části lidské populace. Tato práce ji popisuje a seznamuje čtenáře s možným řešením tohoto problému. Část práce je tak věnována neinvazivní metodě, která analyzuje produkty metabolismu z dechu testovaného a je možné tak zjistit mnoho informací o organismu, aniž by došlo k nepříjemnému, až bolestivému odběru tkání, nebo tělních tekutin.

Cílem této práce je představení problematiky laktózové intolerance a pozorování vlivu klasického mléka i industriálně upraveného mléka bez obsahu laktózy na dech dobrovolníků. Dobrovolníci se stali pracovníci oddělení analýzy dechu na Ústavu fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského v Praze, kde probíhal díky středoškolské stáži samotný výzkum. Látky byly analyzovány metodou hmotnostní spektrometrie SIFT-MS. Dalším cílem byla laboratorní příprava a následná analýza bezlaktózového mléka, s použitím aktivované práškové laktázy. Pro zjištění, zda-li je v upraveném mléce laktóza rozložena, je v práci rovněž zahrnuta i analýza vybraných zakoupených mléčných produktů klasických i zbavených laktózy, u nichž je prodejcem jasně definován obsah mléčného cukru. U těchto výrobků byly pozorovány změny hodnot vybraných těkavých látek a bylo zkoumáno, zda-li má na některé z nich laktóza vliv.

1 LAKTÓZOVÁ INTOLERANCE

1.1 Charakteristika

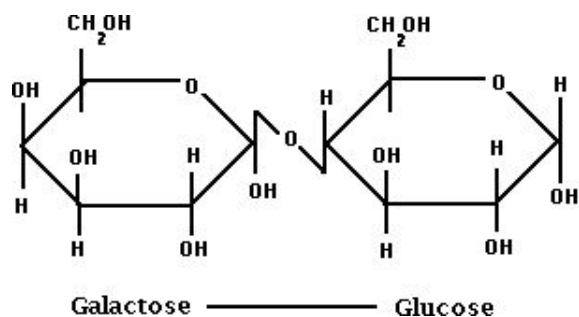
Laktózová intolerance, laktózová malabsorbce či nesnášenlivost vůči mléčnému cukru (dále jen LI) je neschopnost lidského organismu štěpit a následně laktózu, neboli mléčný cukr, trávit. Aby docházelo ke štěpení a následnému stravení mléčného cukru, je zapotřebí enzymu laktázy. Nedostatečnou tvorbu tohoto enzymu označujeme termínem hypolaktázie, či deficiencie laktázy.⁹

Enzym laktáza je nejdůležitější v novorozeneckém a kojeneckém období dítěte, kdy se tento enzym stará o vstřebávání nepostradatelného mateřského mléka, které je pro dítě primárním zdrojem energie. V případě, že neprobíhá tvorba laktázy u takto malého dítěte (tento typ LI nazýváme vrozená), je nutné zajistit mu industriálně upravenou výživu zbavenou mléčného cukru.⁸

S ukončením kojení dítěte je spojen jeho přestup na běžnou stravu, a z tohoto důvodu je tělo připraveno upustit od schopnosti mléko trávit. Člověk je však jediným savcem, který přijímá mléko jiných savců a celkově konzumuje mléko nejen v kojeneckém období, ale rovněž v období adultním.^{7,25} Po odstavení přirozeně klesá tvorba enzymu laktázy a u některých lidí se laktázy tvoří tak malé množství, že tělo mléčný cukr nerozkládá, a tudíž dochází k zažívacím a jiným problémům, které jsou v této práci popsány.

1.2 Laktóza

Disacharid laktóza (systematicky: 4-O- β -D-galaktopyranosyl-D-glukóza) je složen z jednoho monosacharidu glukózy (systematicky: α -D-glukopyranóza) a jednoho monosacharidu galaktózy (systematicky: β -D-galaktopyranóza). Tyto dvě molekuly (glukóza a galaktóza) jsou spojeny β -1,4-glykosidickou vazbou.¹⁰



Obrázek 1: strukturní vzorec laktózy²⁸

1.2.1 Výskyt v mléce

Laktóza se přirozeně vyskytuje v mléce všech savců, jedinou výjimkou je lachtaní mléko, kde se laktóza nenachází.¹ Koncentrace mléčného cukru v mléce je závislá na mnoha faktorech jako je například výživa, zdravotní stav a věk samice, či o jaký živočišný druh se jedná. Každé mléko je specifické svou koncentrací laktózy. Laktózově nejbohatší je mléko mateřské (lidské) se zhruba 7% koncentrací laktózy, nepatrně méně laktózy, tedy 6,7 % obsahuje mléko oslí a cca 6 % laktózy obsahuje koňské mléko.¹⁵

S největší pozorností je však nahlíženo na druhy mlék, které člověk běžně konzumuje. Hlavním zdrojem laktózy pro člověka je v dnešní společnosti mléko kravské, potažmo kozí a ovčí. Všechny tyto druhy mají velmi podobnou koncentraci mléčného cukru, jak je vidět v tabulce 1, kde je mimo již zmíněných druhů uvedeno ještě několik dalších.¹⁵

Tabulka 1: průměrný obsah laktózy v mléce různých druhů savců (g/100 g)¹⁵

SAVEC	KONCENTRACE LAKTÓZY (g/100 g)
člověk	7,1-7,2
osel	6,7
kůň	6
kráva	4,7
koza	4,8
ovce	4,6
velbloud	4,5

1.2.2 Laktóza v kravském mléce

Jak již bylo zmíněno, nejběžnějším zdrojem mléčného cukru ve výživě člověka, odstaveného od kojení, je mléko kravského dobytka. Mlékárenský průmysl se stará o všemožné zpracování tohoto živočišného produktu a transformuje ho do mléčných výrobků. Mléko je zpracováváno různými metodami. Typickým příkladem je výroba jogurtu, či tvarohu, kdy bakterie mléčného kvašení (např.: *Lactobacillus* sp, *Bifidobacteria*, *Streptococcus bulgaricus*), obsahující laktázu, postupně mléko fermentují a tím snižují obsah laktózy.¹⁴ Úprava čistého mléka tedy může zajistit změnu koncentrace laktózy. Nejbohatším zdrojem mléčného cukru je sušená syrovátka. Naopak většina dlouho zrajících sýrů jako parmezán, či camembert se svým zráním laktózy prakticky zbaví (odchází z mléka ve formě syrovátky) a i osoby s minimální tvorbou enzymu laktázy nemají problém s konzumací takovýchto výrobků. V tabulce 2 jsou uvedeny běžné mléčné výrobky (z kravského mléka) a jejich koncentrace laktózy.

Tabulka 2: obsah laktózy (g/100 g) ve vybraných mléčných výrobcích z kravského mléka³²

VÝROBEK	OBSAH LAKTÓZY (g/100 g)
sušená syrovátka	68
sušené odstředěné mléko	52
odstředěné mléko	4,8
polotučné mléko	4,7
plnotučné mléko	4,6
tvaroh (10-40 % tuku)	2-3,8
parmezán	0,9
camembert	stopové množství

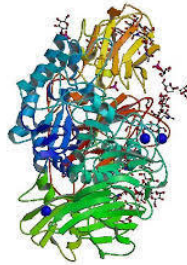
1.2.3 Laktóza v průmyslu

Byť je mléko zdaleka největším zdrojem mléčného cukru, je potřeba brát zřetel i na výrobky, kde není jeho výskyt jasně očekávatelný. Mimo mlékárenský průmysl nachází totiž laktóza své využití i v jiných odvětvích potravinářského průmyslu.

Díky své schopnosti vázat vodu je používána k vylepšení vlastností (jako např. vyšší pevnost, objem, či váha). Hojně ji nalezneme rovněž ve farmaceutickém průmyslu, kde se využívá jakožto nosná substance pro léky. Byť je laktóza sacharid, je potřeba zmínit, že její sladivost je pětikrát menší než klasický bílý cukr, tedy sacharóza.^{9,17}

1.3 Laktáza

Laktáza, β -galaktosidáza¹⁵, či laktáza-phlorizin hydroláza²⁵ – názvy označující enzym odpovědný za hydrolýzu laktózy v tenkém střevě. Laktáza je tvořena buňkami tenkého střeva (enterocyty) v kartáčovém lemu tenkého střeva (povrch enterocytů).¹⁴ Nalezneme ji ve vyšší části tenkého střeva, označovanou jako jejunum, neboli lačník.^{13,14}



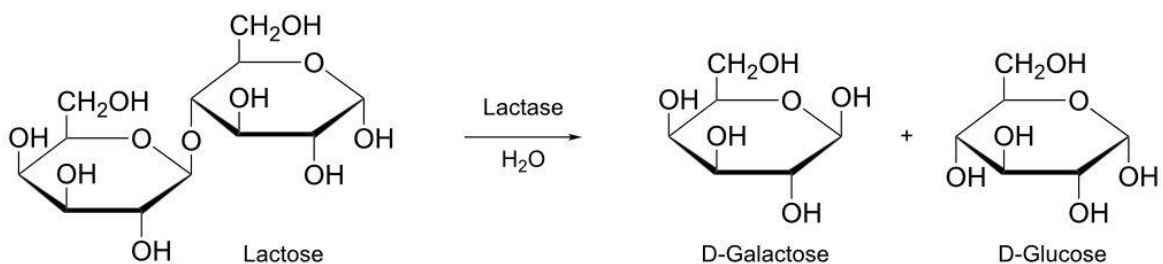
Obrázek 2: struktura enzymu laktáza³⁴

1.4 Laktózové tolerance versus laktózová intolerance

1.4.1 Princip laktózové tolerance

Po vysvětlení pojmů, se kterými je LI spojena, bude nyní popsán průchod mléčného cukru trávicím traktem u jedince s dostatečnou tvorbou laktázy a naopak u jedince s nízkou, až nulovou tvorbou tohoto enzymu.

Po požití produktu s obsahem mléčného cukru dochází ke standartnímu průchodu trávicím traktem. Jak již bylo zmíněno, laktáza se tvoří v buňkách sliznice tenkého střeva, kde také při dostatečné tvorbě štěpí mléčný cukr na 2 monosacharidy glukózu a galaktózu. Ty se volně vstřebávají střevními enterocyty do kardiovaskulárního systému. Monosacharid glukóza je využíván jakožto zdroj energie a monosacharid galaktóza jako součást glykolipidů a glykoproteinů.² V tenkém střevě dochází k takzvanému enzymatickému štěpení.⁹

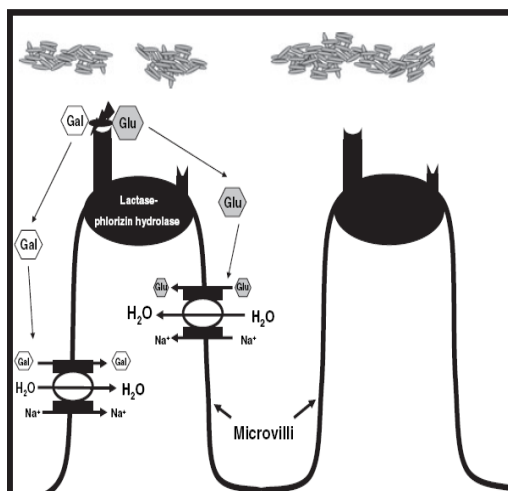


Obrázek 3: hydrolýza laktózy enzymem laktázou za přítomnosti vody³⁴

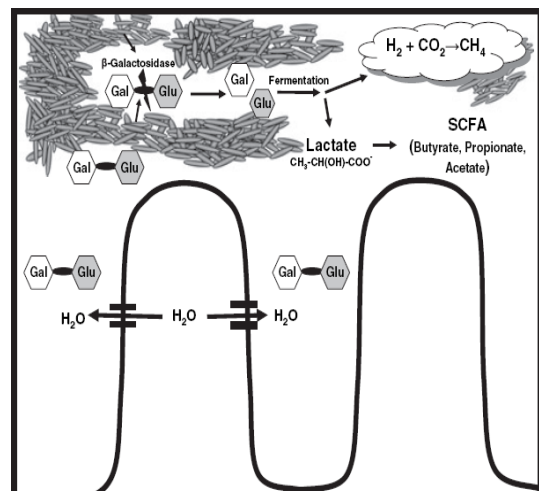
1.4.2 Princip laktóзовé intolerance

V případě, že laktóza není v tenkém střevě laktázou rozštěpena, přichází do poslední části tenkého střeva (které označujeme termíny kyčelník, či ileum) až do tlustého střeva, kde reaguje s bakteriemi mléčného kvašení.¹⁴ Bakterie začínají laktózu štěpit za vzniku plynů (vodíku – H_2 , methanu – CH_4 , oxidu uhličitého – CO_2), mastných kyselin s krátkým řetězcem (např. kyseliny máselné - $CH_3(CH_2)_2COOH$) a organických kyselin (kyseliny octové - CH_3COOH), kyseliny propionové - CH_3CH_2COOH).⁹

Vzniklé plyny se hromadí v tlustém střevě a zapříčiňují typické střevní potíže, které budou níže popsány v části 1.5 Příznaky laktóзовé intolerance. Kyseliny, vzniklé reakcí bakterií s laktózou zesilují tlak na konečník a způsobují průjem. Tyto produkty poté zapříčiňují typické střevní problémy, které označujeme za LI. V tlustém střevě dochází k anaerobnímu kvašení laktózy.^{2,9}



Obrázek 4: hydrolyza laktózy v tenkém střevě při laktóзовé toleranci²



Obrázek 5: proces rozkládání laktózy v tlustém střevě při laktóзовé intoleranci²

1.5 Příznaky laktóзовé intolerance

Příznaky neboli symptomy laktóзовé intolerance, se projevují po určité době po požití laktózy. Pro každého postiženého jedince je tato doba individuální, avšak průměrně se problémy začínají objevovat po 30 minutách až 3 hodinách.⁹ Intenzita a doba trvání bolestí závisí na množství požití laktózy, aktivitě enzymu a dalších faktorech, jako například stav střevní mikroflóry jedince.

Kvůli anaerobnímu kvašení v tlustém střevě a následnému vzniku plynů a kyselin, nastávají typické zažívací obtíže jako nevolnost, bolesti břicha, průjem, meteorismus (nafouknuté břicho), flatulence (odcházející plyny konečníkem), borborygmus (škroukání v břiše), břišní křeče, nadýmání, zvracení a další.¹⁴

V některých případech se však mohou vyskytovat i problémy jiného než střevního a žaludečního charakteru. Příkladem jsou bolesti hlavy a kloubů, malátnost, kožní vyrážky a pupínky, poruchy spánku spojené s pocitem vyčerpání a chronickou únavou a mnoho dalších obtěžujících příznaků.

1.6 Typy laktóзовé intolerance

Jak již bylo avizováno, LI se nevyskytuje pouze v jedné formě, ale ve třech. Jmenovitě jde o nedostatek laktázy vrozený, primární a sekundární.⁹

1.6.1 Vrozená laktóзовá intolerance

Vrozený, odborně řečeno kongenitální nedostatek laktázy se vyznačuje tím, že se laktáza v těle postiženého netvoří vůbec. Z tohoto důvodu se můžeme setkat i s označením alaktázie. Tato forma nedostatku laktázy je velmi vzácná. Projevuje se u dítěte již v prvních týdnech po narození vážnými průjmy a s nimi spojenou ztrátou tekutin. Jedná se o velký problém, který musí být neprodleně řešen, aby nedošlo k vážným poruchám fungování organismu, z důvodu podvýživy. Jelikož dítě není schopno laktózu trávit, musí mu být podávána industriálně upravená forma kojeneckého mléka bez obsahu mléčného cukru.⁹

Důvodem primární LI v takto útlém věku může být i nedokonalé vyvinutí střeva. V tomto případě existuje možnost, že se tvorba laktázy v průběhu času dostaví.⁹

1.6.2 Primární laktóзовá intolerance

Tento typ LI lze jednoznačně označit za nejčastější ze tří zmíněných forem. Většinou se vyskytuje až v adultním, tedy dospělém věku a ojediněle již u dětí a mladistvých.

Celkově se jedná o přirozený, fyziologický stav a trpí jím více než 75 % lidské civilizace. Rovněž jde o dědičný typ intolerance. S ohledem na tento fakt je pravděpodobný výskyt u potomků postiženého jedince.⁹

U většiny lidí, trpících tímto typem, není produkce laktázy nulová a postižený je schopen denně přijímat bez potíží okolo 12 g laktózy.⁴ Je však nutné, aby bylo toto množství ve stravě rozvrženo do celého dne.

1.6.3 Sekundární laktózová intolerance

Na rozdíl od primárního typu LI, není tato forma podmíněna geneticky. Vzniká totiž v reakci na určitá onemocnění. Typicky jde o celiakii, tedy nesnášenlivost pšeničné bílkoviny, odborně glutenu, či lepku. U jedince trpícího tímto autoimunitním onemocněním dochází k zánětům tenkého střeva, a to poté nedokáže produkovat dostatečné množství laktázy. Velmi často je tedy celiakie spojena právě s laktózovou intolerancí.¹⁶

Mezi další onemocnění zapříčiňující sekundární laktózovou intoleranci patří například Crohnova choroba (způsobující chronické záněty střev), či infekce různých částí zažívacího traktu.

Příčinou může být rovněž nedostatečná výživa, mentální anorexie a bulimie.⁹

1.7 Laktózová intolerance a alergie na mléčnou bílkovinu

Po vysvětlení sekundární LI, kde je poukazováno na různá onemocnění jako na spouštěče nedostatečného vstřebávání laktózy se nabízí odlišit LI (intoleranci na mléčný sacharid) od alergie na mléčnou bílkovinu (alergie na mléčný protein).

Hlavním rozdílem mezi LI a alergií na protein v mléce je reakce těla na přijatou látku. Zatímco problémem LI je nízká, až mizivá produkce enzymu s úkolem štěpit laktózu, při alergii na některou z bílkovin kravského mléka lidské tělo reaguje na alergen (zde bílkovinu) vytvářením protilátek.²³ Alergie je na rozdíl od LI imunologicky podmíněná nesnášenlivost. Jedinec postižený alergií na mléčnou bílkovinu ji není schopen zpracovat a stačí pouze malé množství k reakci s protilátkou a následnému vzniku potíží.

Jedná se o širokou škálu alergických příznaků. Typicky pozorujeme příznaky gastrointestinální (průjem, zvracení, nechutenství, krev ve stolici...), dermatologické (exémy, vyrážky, zarudnutí kůže, otoky, svědění...) a respirační (kašel, dušnost...)¹

Nejběžněji zmiňovanou bílkovinou v mléce je kasein, rovněž se zde nachází i α - lactalbumin a β - lactalbumin.³⁵ Poslední dva zmíněné proteiny jsou na rozdíl od kaseinu tepelně neodolné. V případě, že je postižený alergický pouze na jeden nebo oba proteiny neodolné teple, není pro něj problém mléko po jeho tepelné úpravě bez potíží strávit. Teplota, kdy tyto bílkoviny ztrácejí svůj účinek se pohybuje v rozmezí 65-70 °C.⁷

Jakmile je však lidský organismus zbaven schopnosti trávit kasein, nepomůže ani jeho přeavaření, a to z důvodu jeho tepelné rezistence. Pacient nesmí konzumovat mléko v jakékoli jeho podobě.

2 VZNIK A PREVALENCE LAKTÓZOVÉ INTOLERANCE

První záznam o LI můžeme nalézt ve spisech “otce medicíny“ - řeckého lékaře Hippokrata z doby 400 let před našim letopočtem¹⁹, kde popisuje její příznaky.

Ve starověkém Římě bylo mléko podáváno pacientům, u kterých bylo nutné vyvolat zvracení. Naopak v severských zemích bylo mléko domorodci pito ve své syrové podobě bez obtíží, tento fakt byl pro Římany nepochopitelný.²

Ve studii zabývající se analýzou DNA laktóзовě intolerantních jedinců z Finska je popsáno genetické opodstatnění vzniku LI. Ve všech vzorcích DNA testovaných osob byl přítomen tak zvaný variantní gen, který v tenkém střevě zapříčiňuje snížení tvorby laktázy. Analýza byla rovněž provedena u intolerantních osob z odlišných zemí, jako z: Německa, Francie, Spojených států amerických a Koreje. U všech byl nalezen tentýž variantní gen. Na tomto faktu je založená základní hypotéza, určující variantní gen u laktóзовě intolerantních jedinců s variantním genem jako původní přirozené zástupce, naopak laktóзовě tolerantní osoby jako ty, u kterých se vyskytuje genová mutace.² Z tohoto důvodu budou níže popsány teorie vzniku laktóзовé tolerance, nikoli intolerance.

2.1 Hypotézy vzniku laktóзовé tolerance

2.1.1 Hypotéza vzniku v oblastech s nižší expozicí slunečního záření

Tato hypotéza poukazuje na severské země, kde je rozšíření LI velmi nízké. Možným důvodem je menší množství dopadajících slunečních paprsků, tedy nižší ultrafialové záření, potřebné k produkci vitamínu D v kůži. Tento v tuku rozpustný vitamín, nejen že podporuje funkci imunitního i kardiovaskulárního systému, chrání organismus před infekčními respiračními chorobami i autoimunitními onemocněními, ale zároveň je nezbytný ke vstřebávání vápníku obsaženém například v mléce.

Laktóзовá tolerance může fungovat jako náhrada za nedostatečné UV záření. Tělo totiž využívá markantní množství přijatého vitamínu D ke vstřebání vápníku z mléka.^{2,19}

2.1.2 Cookova a al-Torkiho hypotéza

Hypotéza vzniku laktóзовé tolerance v aridních oblastech neboli Cookova a al-Torkiho hypotéza vzniku popisuje nezbytnou potřebu kočovníků v aridních (pouštních) oblastech trávit velbloudí mléko, které je pro ně jedním z nejdůležitějších zdrojů živin. V poušti, kudy kočovníci putují, je nutné využít ke zdroji přepravy, potažmo obživy organismus, který je schopen vydržet vysoké teploty, a právě velbloud je díky své schopnosti čerpat energii ze svých tukových zásob až po dobu dvou týdnů bez jakéhokoli příjmu potravy a vody ideální volbou. Tato teorie se týká například oblasti Arabského poloostrova.^{2,19}

2.1.3 Simoonsova a McCrankova hypotéza

Tato, vědci nejpodporovanější hypotéza, je označována jako kulturně-historická a vznikla ze dvou na sobě nezávislých výzkumů v sedmdesátých letech dvacátého století.

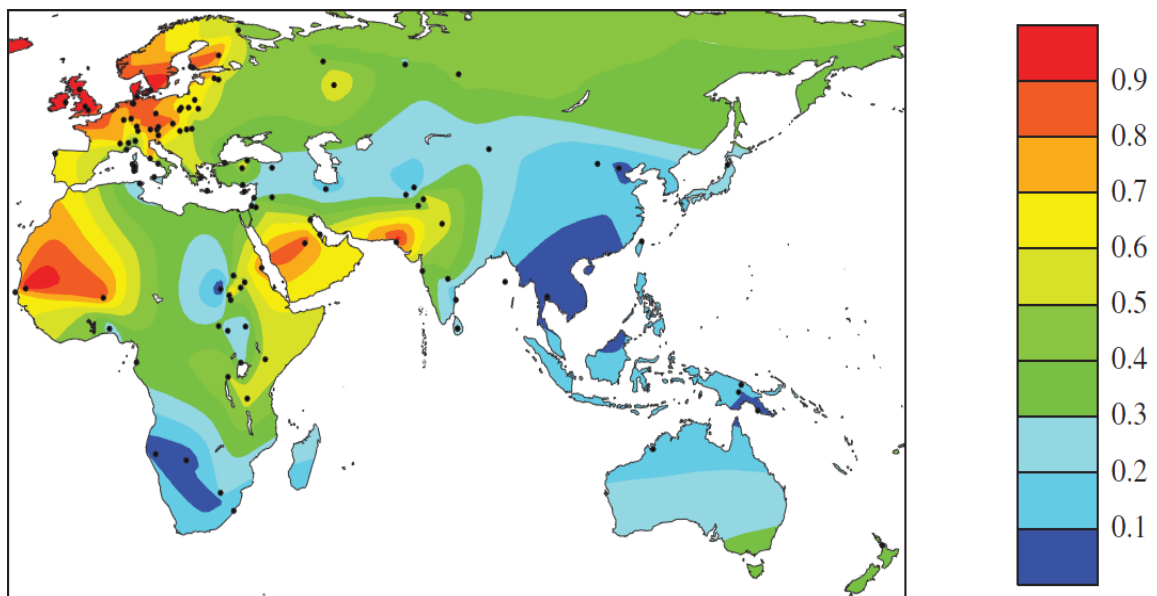
Vznik laktózy tolerance tato hypotéza spojuje s domestikací zvířat a následným pitím jejich mléka před zhruba 10 000 lety. Podle Simoonsona a McCranka, měla na vznik mutace genu a následný vývin laktózy tolerance velký vliv stavba jídelníčku obyvatel. Jakmile totiž mléko začali konzumovat pravidelně, byla zde velká pravděpodobnost tvorby laktázy nejen v kojeneckém období, ale i v dospělosti jedince.

Tato schopnost byla pro člověka velmi výhodná. Nejen že se mléko stalo bohatým zdrojem živin, ale pro jeho získání, tedy podojení, nebylo nutné zvíře zabíjet.

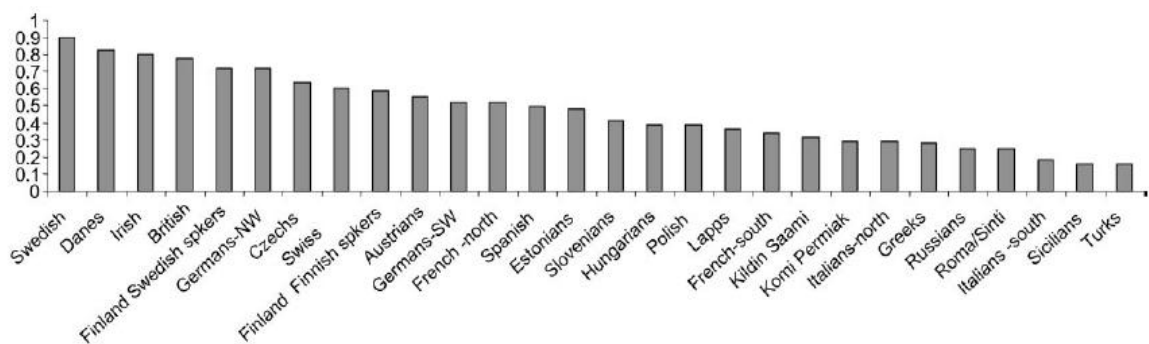
V oblastech, kde je chov hospodářských zvířat tradiční, a přesto zde nedošlo k mutaci genu je tato skutečnost přisuzována krátké době konzumace mléka. Typicky jde o Súdán, či Etiopii.^{2,19}

2.2 Prevalence laktóзовé tolerance

Jak bylo v předchozí části popsáno, hypotézy vzniku a následného šíření laktóзовé tolerance poukazují na nejednotnou světovou perzistenci (rozšíření). Severní státy, jako například Norsko, Švédsko, či Finsko, jsou zástupci s jednou z nejnižších hladin LI – tedy největším rozšíření genové mutace a následně laktóзовé tolerance ve své populaci (přibližně 95 % laktóзовě tolerantních obyvatel). Zde je tak enormní perzistence laktóзовé tolerance spojována s první hypotézou o nedostatečném ultrafialovém záření a kulturně-historickou hypotézou z důvodu dlouhodobé tradice chování skotu a s tím spojené požívání mléka. V oblastech s velkou intenzitou slunečního svitu a oblastech bez dlouhodobé tradice chovu zvířat na mléko je naopak hojně rozšířená LI.³²



Obrázek 6: prevalence laktóзовé tolerance ve světové populaci³²



Obrázek 7: klesající tendence výskytu laktóзовé tolerance ve vybraných státech³²

3 DIETNÍ OPATŘENÍ

Jak již bylo vysvětleno, laktózová intolerance v dospělosti je s největší pravděpodobností přirozený stav. Z tohoto důvodu ji tedy nelze pokládat za onemocnění.

LI však bezesporu ovlivňuje život postiženého, a z tohoto důvodu jsou doporučována různá dietní opatření.³⁴

3.1 Omezení příjmu laktózy

Zřejmým dietním řešením pro člověka s omezenou tvorbou laktázy je bezesporu snížení příjmu mléčného cukru, který způsobuje nepříjemné obtíže.

Člověk by měl ze svého jídelníčku zcela vyřadit potraviny vysoce bohaté na laktózu, jako je především sušené mléko a syrovátka. Naopak problém by neměl nastat s některými druhy sýrů, díky době zrání.

U fermentovaných výrobků je potřeba kontrolovat požité množství a mléčný cukr v nich obsažený (byť jejich zpracováním byla z mléka velká část laktózy převedena do syrovátky). Většina pacientů trpících LI je totiž schopna zpracovat okolo 12 g mléčného cukru denně (jak bylo detailněji popsáno v části: 1.6.2 Primární laktózová intolerance).

Kysané výrobky mohou být rovněž dobrou volbou, z důvodu přítomnosti živých kultur produkující laktázu. V produktu dochází k hydrolýze laktózy a spotřebitel poté požije již rozložený mléčný cukr.⁹

3.2 Umělé dodání laktázy

Umělé dodání enzymu potřebného ke štěpení mléčného cukru, tedy enzymová substituce, je další z variant dietního opatření. Syntetický enzym laktáza je přijímán ve formě industriálně připravených výrobků. Může jít o tablety, tobolky, žvýkačky, či kapky které člověk polyká před pokrmem s obsahem laktózy.^{9,34}

Enzym je uměle vyráběn z laktázy obsažené v živých bakteriích. V příbalovém letáku medikamentu by měla být vždy uvedena informace o množství laktózy, kterou je přípravek schopen rozložit.

Cílem enzymatické substituce je zmírnění nepříjemných příznaků. Jako u všech medikamentů je nutné dbát na kvalitu přípravku.

3.3 Industriálně upravené bezlaktóзовé výrobky

V dnešní době je další variantou přizpůsobení se laktóзовé intoleranci nahrazení obyčejných mléčných výrobků jejich upravenou formou. Běžně je možné zakoupit výrobky zbavené laktóзы. Výrobci těchto produktů označovaných jako bezlaktóзовé deklarují snížení laktóзы v produktu na $<0,1 \text{ g}/100 \text{ g}$.⁹

Chuť upraveného produktu se nepatrně změní, a to z důvodu rozložení nesladké laktóзы na sladkou glukóзу a galaktóзу. Upravený produkt mírně zesládne.

3.3.1 Odstranění laktóзы z mléčného výrobku

Nejčastější úprava je založená na přidání laktáзы do pasterovaného mléka. Mléko je po přidání enzymu při teplotě $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ stále promícháváno a celý proces ukončuje jeho tepelné ošetření. Druhou možností je přidání laktáзы do vysoce tepelně upraveného mléka (UHT). V tomto případě probíhá úprava totožně jako u pasterovaného mléka, avšak vysoce tepelně upravené mléko není zapotřebí na konci procesu tepelně ošetřit.³

3.4 Vápník

Mléko je všeobecně označováno jako nejběžnější zdroj vápníku pro běžně se stravujícího člověka. Jakmile je člověk trpící LI donucen omezit produkty obsahující mléko a do svého jídelníčku nezařazuje industriálně upravené bezlaktóзовé produkty, měl by přijímat jiné potraviny, které vápník obsahují. Doporučená denní dávka pro dospělého, zdravého člověka se pohybuje okolo 1000 mg. Dětem, dospívajícím, osobám s vyšší fyzickou zátěží, těhotným a kojícím ženám je doporučováno navýšení příjmu až na 1500 mg.¹²

V naprosté většině se vápník nachází v kostech a zubech. Nedostatečný příjem v dětství může zapříčinit odvápnění kostí, jejich měknutí a následný vznik rachitidy, známé jako křivice. Nejčastějším důsledkem v pokročilejším věku bývá vznik osteoporóзы. Při osteoporóзы se snižuje hustota kostí, naopak jsou náchylnější k lámavosti. Větší riziko vzniku nastává u lidí, kteří již v dětství nepřijímali dostatečné množství. Nedostatek vápníku také způsobuje různá onemocnění zubů.¹²

Bohatými zdroji vápníku jsou ve velké míře semena a ořechy. Využitelnost se u nich ovšem pohybuje okolo dvaceti procent a celkově jsou energeticky velmi bohaté. Aby vápník v nich obsažený pokryl celý denní příjem, musel by jich člověk sníst opravdu velké množství, proto se doporučuje nebrat je jako jediný možný zdroj. S využitelností je na tom podstatně lépe brukvovitá zelenina, která je však na rozdíl od ořechů a semen chudší na vápník. Špenát je rovněž velmi bohatý na vápník, avšak využitelnost je menší než 5 %. Abychom vykompenzovali vápník přijatý z 250 ml polotučného mléka, bylo by nutné zkonzumovat: 200 g mandlí, 400 g sezamových semínek, 500 g brukvovité zeleniny, či 1200 g špenátu.¹²

Z předchozích informací vyplývá, že nejdůležitějším aspektem příjmu makroelementů i mikroelementů je bohatá, různorodá a především vyvážená strava.¹²

4 DIAGNOSTIKA LAKTÓZOVÉ INTOLERANCE

Zjišťovacích metod je celá řada, některé z nich budou nyní popsány. Základním ukazatelem pro člověka, který má na LI podezření jsou typické obtíže se zažívacím traktem, popřípadě vyrážky a další příznaky LI. Na tomto principu je založen expoziční test.

4.1 Expoziční test

Jak již bylo avizováno, tento test si na sobě může člověk aplikovat sám. Expoziční test je založen na podání 1 litru mléka, které obsahuje okolo 50 g laktózy. Pokud se do 4 hodin objeví obtíže, je vysoce pravděpodobné, že je člověk laktóзовě intolerantní.

Fakticky stačí vypít hrnek mléka obsahující 12 g laktózy. Příznaky se v případě LI dostaví.²

4.2 Laktóзовý toleranční test

Tento test je založen na hladině glukózy v krvi po požití 50 g laktózy rozpuštěné ve 400 ml vody (případně 25 g ve 200 ml vody). Hladina glukózy je testována ihned po vypití, poté ve 30minutových intervalech po dobu 2 hodin. Důkazem nerozštěpení laktózy na glukózu a galaktózu je nárůst glukózy v krvi o méně než 14.4 mg/100 ml.²

4.3 Test kyselosti stolice

Tohoto způsobu se většinou využívá při testování LI u malých dětí. Když dítě trpící LI požije produkt s obsahem laktózy, v tlustém střevě dojde ke vzniku kyselin, které je možné ve stolici určit pH zkouškou.²

4.4 Dechový test

Dechový test je založen na testování vydechovaného vodíku. Princip je stejný jako u testování kyselosti stolice, v tomto případě se však nehledí na kyseliny vznikající při reakci nerozštěpené laktózy, ale na vodík, který při reakci většinou také vzniká.

Před provedením testu je vyžadováno, aby minimálně 12 hodin testovaný nic nekonzumoval. Kdyby tak neučinil, mohlo by dojít k ovlivnění výsledků vydechovaného vodíku, z důvodu reakce s jinými látkami.

Pacientovi je jako u laktóзовého tolerančního testu podáno 200 ml vody s rozpuštěnými 25 g laktózy, nebo dvojnásobné množství obou částí. Poté pacient vydechne každou půl hodinu do přístroje (většinou se jedná o plynový chromatograf), který množství vodíku zanalyzuje. V případě, že dojde k nárůstu vodíku o více než 20 mg/l s největší pravděpodobností se netvoří dostatečné množství laktázy.

Výsledky testu mohou být v některých případech zavádějící. Objevují se totiž pacienti, v jejichž střevech se nachází bakterie neschopné tvořit vodík, proto může být test negativní, a přesto se jedná o laktózově intolerantního jedince.²

4.5 Genetický test

LI lze určit i ze vzorku krve, či střevní biopsie. U laktózově intolerantního jedince je totiž přítomna nezmutovaná forma genu, zodpovědného za tvorbu enzymu. Souvislosti byly již výše v práci popsány v části, pojednávající o vzniku a prevalenci laktózové tolerance.

Genetický test se používá nejen ke stanovení LI, ale rovněž k odlišení primární a sekundární LI.²

PRAKTICKÁ ČÁST

Praktická část je věnována dvěma tématům. První z nich popisuje úpravu klasického mléka na mléko bez laktózy a následně je druhé téma zaměřené na testování dechu dobrovolníků po požití mléka s laktózou i bez laktózy. Do druhé části je rovněž zařazen popis principu metody SIFT-MS, kterou byly látky analyzovány.

5 PŘÍPRAVA MLÉKA SE SNÍŽENÝM OBSAHEM LAKTÓZY

Cílem této části je úprava klasického polotučného kravského mléka v jeho bezlaktózovou podobu. Postup úpravy je inspirován dvěma pracemi ze zveřejněných internetových zdrojů. Při této úpravě byl použitý stejné chemikálie jako u zveřejněných zdrojů^{11,21}, avšak jejich poměr byl po množství pokusů upraven tak, aby byl co nejideálnější pro přípravu mléka se sníženým množstvím laktózy.

Pro úpravu mléka byly vytvořeny gelové útvary, sloužící jako filtr s obsahem laktázy, potřebné pro rozložení laktózy v protékající tekutině. Prášková laktáza byla aktivována 1% roztokem alginátu sodného a z výsledného roztoku (alginátu sodného a práškové laktázy) byly pomocí injekční stříkačky vytvářeny kapky, které dopadaly do 2% roztoku chloridu vápenatého. Zde se kapky formovaly do gelovitých útvarů, připomínajících kuličky.

Útvary byly následně jeden po druhém přesunuty do otevřené injekční stříkačky v aparatuře k přefiltrování mléka. Tato aparatura byla složena ze stojanu, otevřené injekční stříkačky, pryžové hadičky, svorek a kádinky.

100 ml mléka bylo postupně nalito do otevřené injekční stříkačky obsahující gelovité kuličky. Díky laktáze obsažené v těchto útvarech byla laktóza v mléce postupně rozkládána. Po přefiltrování veškerého objemu byl do tekutiny vložen papírek sloužící jako glukózový test. Tím bylo zjištěno, jaké množství glukózy je v tekutině přítomno. Papírek byl vždy porovnán s papírkem z obyčejného mléka (který glukózu neprokazoval) a s papírkem z industriálně upraveného mléka bez laktózy, kde byla glukóza jasně přítomna. Tento proces byl opakován celkem sedmkrát, dokud nebylo u přefiltrovaného mléka dosaženo stejného výsledku jako u industriálně upraveného mléka, deklarujícího pouze mizivý obsah laktózy.

Celý postup práce je detailně popsán na následujících stranách.

5.1 Laboratorní příprava

5.1.1 Použité chemikálie

Použitými chemikáliemi byly laktáza, alginát sodný (E401), chlorid vápenatý (E509) a mléko.

Alginát sodný

Jedná se o sodnou sůl kyseliny alginové bez chuti a zápachu, označovanou jako E401. Toto aditivum, tedy látka, která ovlivňuje vlastnosti výsledného produktu se používá pro svou viskozitu jako želírující přípravek, stabilizátor a zahušťovadlo. Z důvodu své želírující schopnosti byl alginát sodný použit pro vytvoření gelu s enzymem laktázou.

Používán je především v potravinářském průmyslu a je získáván z hnědých řas.

Alginát sodný je alergenem a na skóre škodlivosti zastupuje stupeň 3, tedy stupeň označující aditivum jako nevhodné pro děti, alergiky, a osoby citlivé na chemické přídavky.

Má schopnost vázat se na stopové prvky, což může ovlivnit vstřebávání živin a následný vznik nadýmání. Rovněž má laxativní účinky.

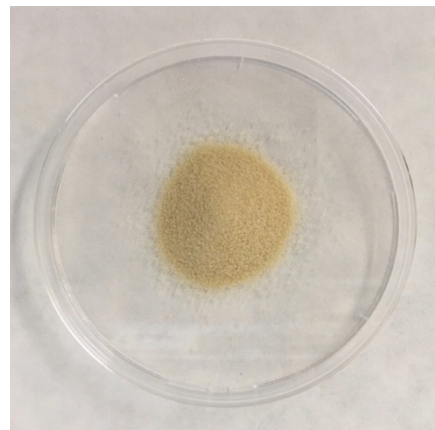
Přijatelná denní dávka pro dospělého, zdravého člověka činí až 25 mg na 1 kg tělesné hmotnosti.⁵

Chlorid vápenatý

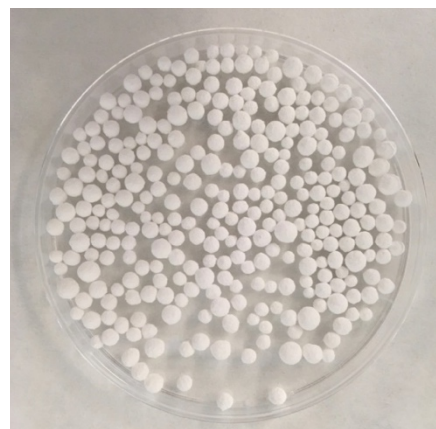
Chlorid vápenatý, tedy E509 je stejně jako alginát sodný aditivem bílé barvy. Jedná se o silně hygroskopickou látku, tedy látku, která pohlcuje vodu. Pro tuto vlastnost byla látka při procesu odstraňování laktózy z mléka použita, aby z roztoku alginátu sodného a enzymu laktázy odstranila vodu a zbyly pouze nakapané kapky gelu z injekční stříkačky.

Toto aditivum se také používá jako protispékavá a zpevňující látka. Je rovněž schopné upravovat pH. Těchto vlastností se využívá v potravinářství.

Na skóre škodlivosti zastupuje stupeň 1, což je definováno jako látka, která se vyskytuje v přírodě, ale je připravena synteticky. Výjimečně může způsobit srdeční, nebo žaludeční obtíže, avšak obecně se jedná o bezpečnou látku, která je vhodná jako přísada do většiny potravin.⁶



Obrázek 8: alginát sodný
(Foto autora práce)



Obrázek 9: chlorid vápenatý
(Foto autora práce)

5.1.2 Pomůcky

Použity byly 2 injekční stříkačky, pryžová hadička, laboratorní stojan, svorky, kádinky, váhy, ohřívací plocha, kopistka, sítko, papírky na glukózový test a vialky.

5.1.3 Postup práce

Do obyčejného mléka byl vložen papírek na glukózový test a totéž bylo provedeno s industriálně upraveným mlékem bez laktózy.



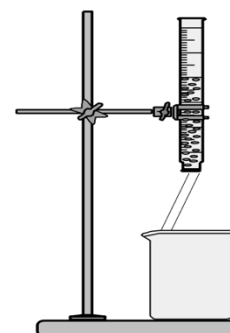
Obrázek 10: srovnání obsahu glukózy v klasickém a bezlaktózovém mléce *

Z 200 ml vody a 2 g alginátu sodného byl připraven 1% roztok, který byl následně za stálého míchání zahříván 1 hodinu, aby se ve vodě alginát sodný zcela rozpustil. Po uplynulé době byla nádoba s roztokem ze zdroje ohřevu odstavena a nechána vychladnout.



Obrázek 11: 1% roztok alginátu sodného *

Aparaturu byla sestavena podle obrázku. Je složena z laboratorního stojanu, otevřené injekční stříkačky, pryžové hadičky, svorek a kádinky.



Obrázek 12: aparatura pro úpravu mléka (Vytvořeno autorem práce v programu ChemSketch)

* Foto autora práce

Poté byl připraven 2% roztok chloridu vápenatého z 200 ml vody a 4 g chloridu vápenatého.



Obrázek 13: 2% roztok chloridu vápenatého *

V kádince bylo rozpuštěno 100 mg laktázy ve 2 ml vody a následně řádně promícháno.



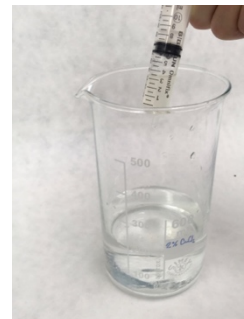
Obrázek 14: 1% roztok laktázy *

Do roztoku laktázy bylo nalito 8 ml vychladlého 1% roztoku alginátu sodného a následně byl roztok promíchán.



Obrázek 15: roztok laktázy a alginátu sodného *

Nově vzniklým roztokem laktázy a alginátu sodného byla naplněna injekční stříkačka a pomalu byly pomocí ní vytvářeny kapky, které dopadaly do 2% roztoku chloridu vápenatého



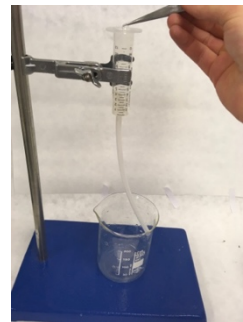
Obrázek 16: vytváření gelovitých útvarů *

Veškerý objem kádinky byl přelit přes sítko, díky kterému byly zachyceny vzniklé gelovité útvary.



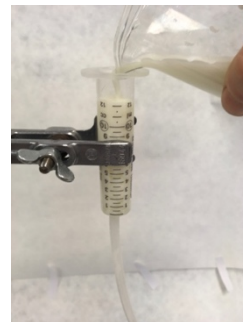
*Obrázek 17: zachycování gelovitých útvarů do sítka **

Gelovité útvary byly následně jeden po druhém přesunuty do otevřené injekční stříkačky v aparatuře.



*Obrázek 18: plnění injekční stříkačky gelovitými útvary **

Byl zahájen první proces postupného nalévání 100 ml mléka do otevřené injekční stříkačky.

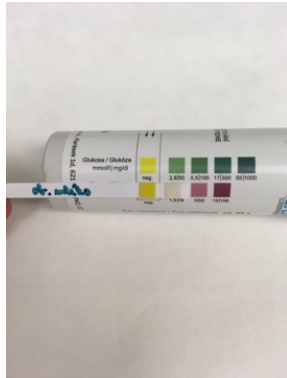


*Obrázek 19: vlévání mléka přes gelovité útvary v injekční stříkačce **

** Foto autora práce*

Do přefiltrovaného mléka byl vložen konec papírku na glukózový test, který byl následně porovnán s testem v klasickém i bezlaktózovém mléce.

Celý proces byl opakován, dokud test neodpovídal testu mléka bez obsahu laktózy (s uvedením minimálního množství laktózy na svém obalu)



Obrázek 20: glukózový test obyčejného mléka – nepřítomnost glukózy *



Obrázek 21: glukózový test po 1. úpravě mléka *



Obrázek 22: glukózový test po 2. úpravě mléka *



Obrázek 23: glukózový test po 3. úpravě mléka *



Obrázek 24: glukózový test po 4. úpravě mléka *



Obrázek 25: glukózový test po 5. úpravě mléka *



Obrázek 26: glukózový test po 6. úpravě mléka *

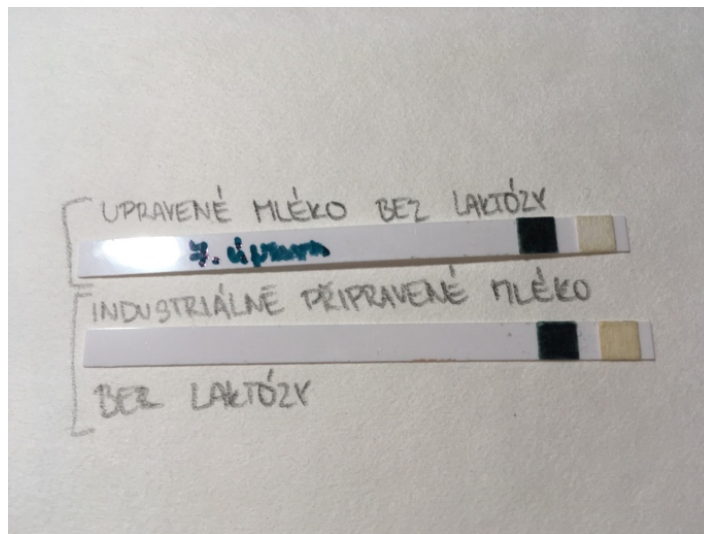


Obrázek 27: glukózový test po 7. úpravě mléka *

* Foto autora práce



Obrázek 28: srovnání glukózových testů *



Obrázek 29: srovnání glukózových testů industriálně připraveného bezlaktózového mléka a laboratorně připraveného mléka bez laktózy *

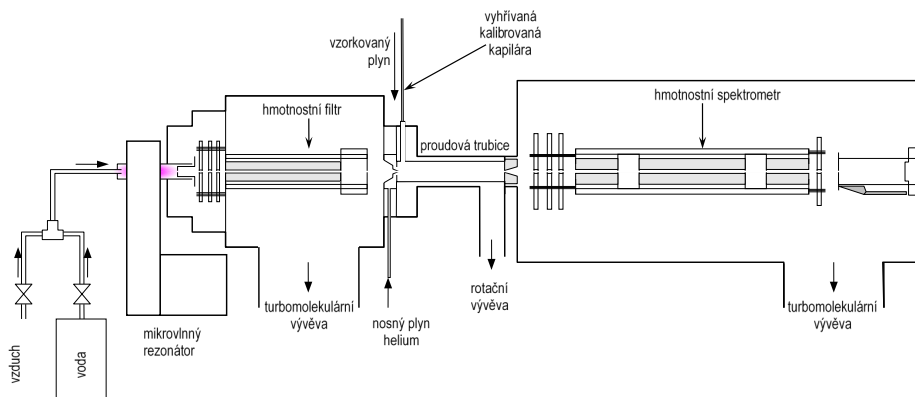
* Foto autora práce

6 ANALÝZA TĚKAVÝCH LÁTEK POMOCÍ SIFT – MS

6.1 Princip metody SIFT-MS

Analytická metoda, nazývaná hmotnostní spektrometrie v proudové trubici s vybranými ionty SIFT-MS (zkratka z anglického: *selected ion flow tube mass spectrometry*), je založena na chemické ionizaci molekul přítomných v plynném vzorku za pomoci prekurzorových (primárních) iontů během předem definovaného reakčního času.

Ze směsi vodní páry a vzduchu jsou v iontovém zdroji vytvářeny kladně nabitě ionty. Pomocí prvního kvadrupólového hmotnostního filtru je vybrán jeden druh iontu nazývaný prekurzor. Vybraný iont je vháněn do proudové trubice, kudy proudí nosný plyn helium. Sledovaný vzorek, kterým může být právě výdech, je pomocí vyhříváné kapiláry také vháněn do trubice obsahující prekurzory a nosný plyn. Zde dochází k chemické ionizaci molekul analytu, které jsou původně neutrální. Při tomto procesu jsou vytvářeny ionty charakteristické pro daný analyt přítomný v analyzovaném vzorku. Vzniklé ionty jsou po průchodu dalším kvadrupólovým hmotnostním spektrometrem detekovány násobičem. Následně počítač zpracovává výsledné spektrum.²⁰



Obrázek 30: princip metody SIFT-MS (Archiv ÚFCHJH)



Obrázek 31: přístroj zpracovávající metodu SIFT-MS (Archiv ÚFCHJH)

6.2 Měření látek v headspace mléčných výrobků

Těkavé látky přítomné v „headspace“ (prostor nad analyzovanou látkou v uzavřené nádobě) 10 různých mléčných výrobků byly skenovány v modu nazývaném full scan (viz. obrázek 33). V tomto případě hmotnostní spektrometr analyzuje všechny ionty v zadaném intervalu m/z (poměr hmotnosti ku náboji) a ve výsledku vznikají hmotnostní spektra.

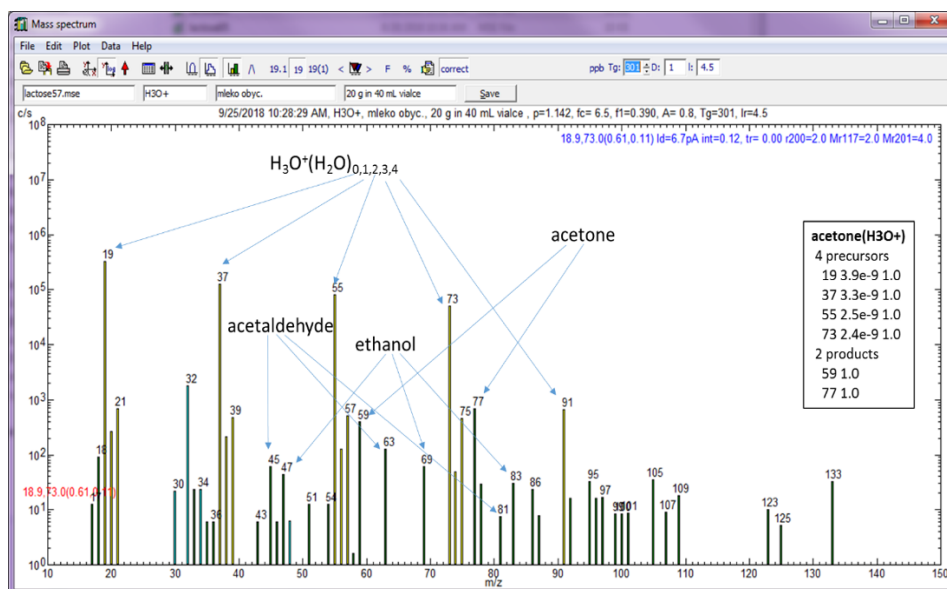
20 ml mléčného produktu bylo přesunuto do skleněných vialek a full scany v rozsahu 10 - 150 m/z byly zaznamenávány.



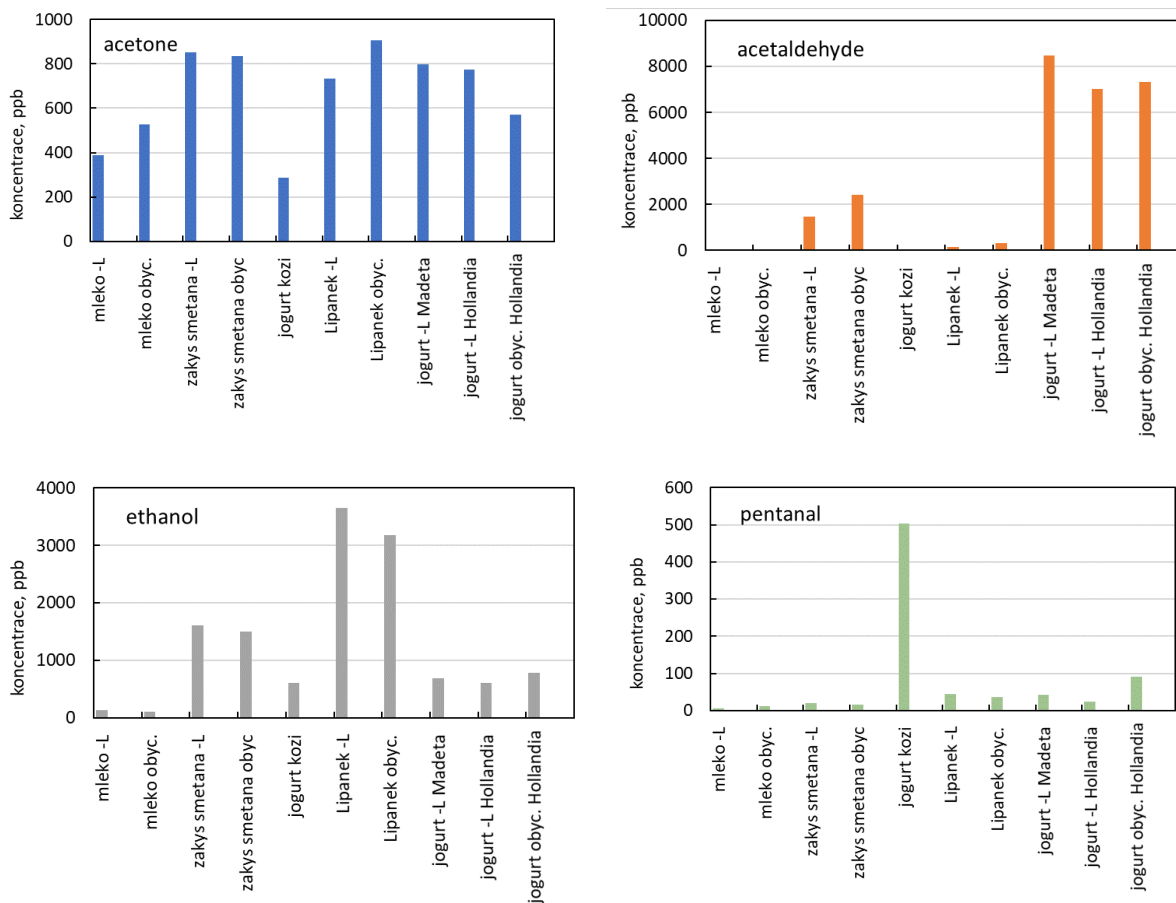
Obrázek 32: 10 testovaných mléčných výrobků (Foto autora práce)

Z fyzikálních parametrů, kterými jsou teplota a tlak v proudové trubici, rychlost čerpání vakuového systému a rychlost průtoku vzorkovacího plynu, je možné spočítat rychlost proudění nosného plynu pro danou proudovou trubici. V případě známé délky trubice je možné zjistit reakční čas chemické reakce prekurzorového iontu s molekulou plynného vzorku. Absolutní koncentrace těkavých látek ve vzorku se stanoví za použití kinetické knihovny, ve které jsou uvedeny rychlostní koeficienty reakce iontu s molekulou a molekulové hmotnosti hlavních produktů reakce.

Příkladem kinetické knihovny pro reakci acetonu s iontem H_3O^+ je uveden na obrázku 33. Koncentrace je vyjádřena v jednotkách ppb (z anglického „parts per billion“), které se používají pro vyjádření stopových koncentrací a vyjadřují počet částic látky na jednu miliardu částic plynu. Výpočet probíhá automaticky pomocí speciálního softwaru. Na obrázku 34 jsou porovnány výsledné koncentrace vybraných těkavých látek všech studovaných vzorků. Výsledky budou následně popsány v části diskuze.



Obrázek 33: příklad hmotnostních spekter ve formě full scanu (Záznam měření metodou SIFT-MS)



Obrázek 34: koncentrace vybraných látek v jednotlivých produktech v jednotkách ppb (Záznam měření metodou SIFT-MS)

7 STANOVENÍ KONCENTRACE TĚKAVÝCH LÁTEK V DECHU

7.1 Dobrovolníci

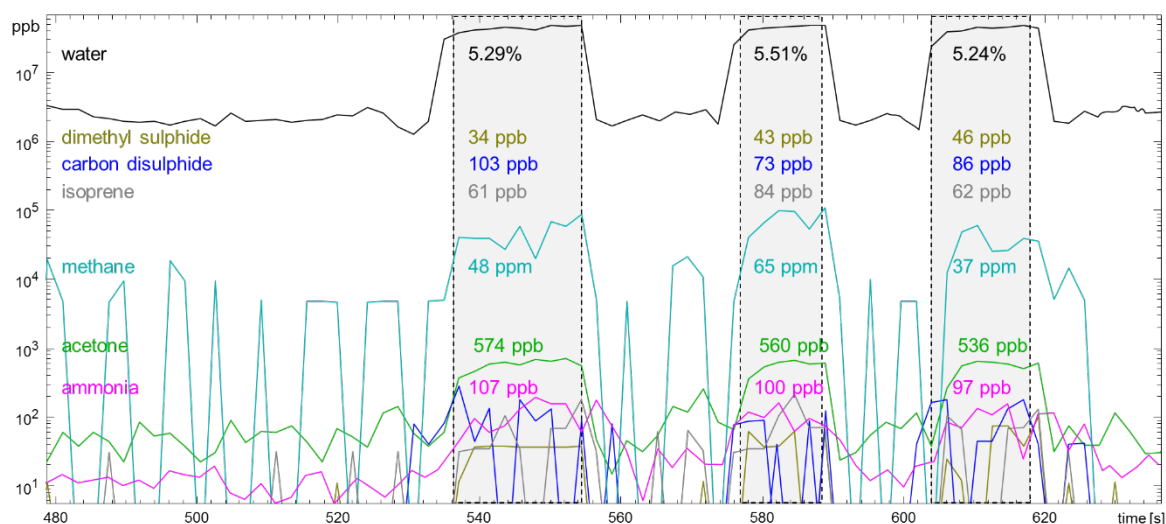
Dech 4 dobrovolníků různého věku i tělesných proporcí byl měřen nejprve bez požití jakékoli potravy, či nápojů, poté po podání 200 ml klasického mléka a při třetím měření, bylo dobrovolníku podáno 200 ml industriálně upraveného, bezlaktózoového mléka.

Dobrovolník	Pohlaví	Věk	Váha	Výška	BMI
1	žena	18	47 kg	163 cm	17,69
2	žena	39	72 kg	171 cm	24,63
3	muž	29	74 kg	170 cm	25,61
4	muž	44	83 kg	182 cm	25,06

7.2 Protokol měření dechu

Testovaný jedinec byl po obeznámení cíle a metod a následném podepsání informovaného souhlasu (viz. příloha) zařazen do studie, která je součástí praktické části této práce.

Každý dobrovolník používal individuální papírový náustek, který byl nasazen na konci vyhřívané trubice, propojující ústa dobrovolníka s přístrojem. Přístroj umožňuje sledovat hladiny vybraných těkavých látek v reálném čase.



Obrázek 35: znázornění 1 série 3 výdechů dobrovolníka 1 (Záznam měření dechu dobrovolníka 1)

Na obrázku 35 jsou znázorněny tři výdechy dobrovolníka číslo 1 (barevně odlišené šedou barvou) a pozadí laboratorního vzduchu mezi nimi. Koncentrace sledovaných látek je spočítána pro každý jednotlivý výdech. Z těchto tří výdechů je následně vypočítána průměrná hodnota, a ta je zaznamenána pomocí barevné tečky do grafu (viz. obrázek 37).

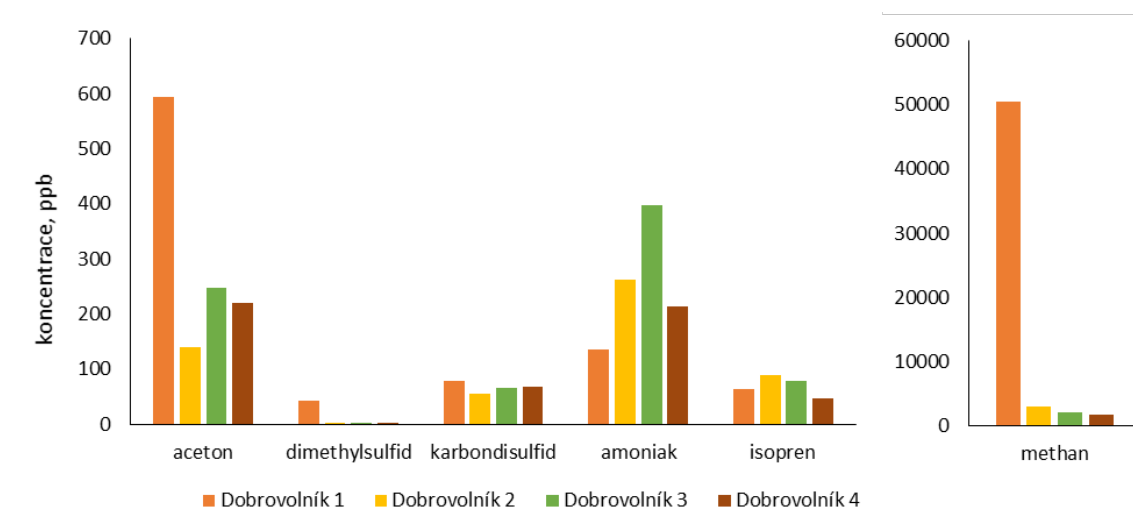
V první fázi experimentu byl dech dobrovolníků monitorován během přibližně 2 hodin. Před provedením měření nebyla testovanému jedinci podána žádná potravinová ani tekutina. Ani během měření testovaný nic nekonzumoval. Tímto byly stanoveny běžné hladiny látek pro jednotlivé dobrovolníky a jejich vývoj v čase.

Následně byl monitorován vliv požití mléka (klasického s obsahem laktózy i bezlaktózového) na koncentraci vybraných látek v dechu dobrovolníka.

Z tohoto důvodu byl každý jedinec požádán o 3 výdechy do přístroje zpracovávající metodu SIFT-MS nejprve před požitím mléka. Následně mu bylo nabídnuto 200 ml klasického mléka a při dalším měření mu bylo podáno rovněž 200 ml mléka v jeho odlaktózované úpravě. Dech byl pokaždé monitorován následujících 90 minut s intervalem 5-10 minut mezi trojicí výdechů.

7.3 Stanovení běžné koncentrace látek v lidském dechu

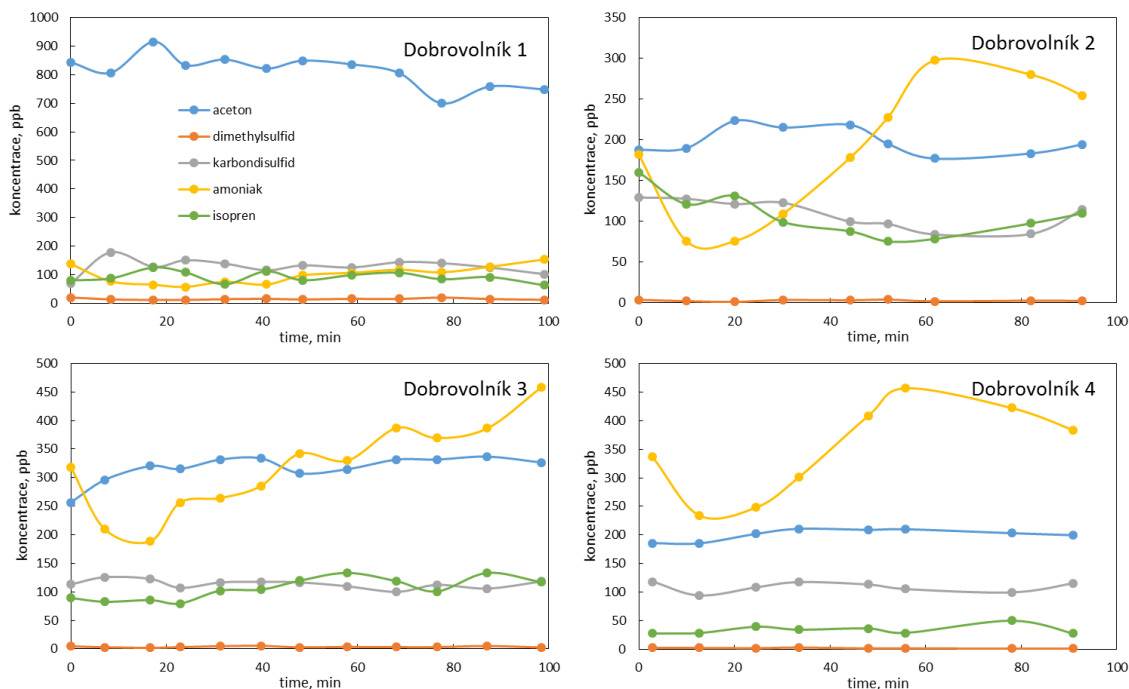
V první fázi měření byly stanovovány běžné koncentrace látek v dechu dobrovolníků, přičemž jim nebylo po dobu měření podáno nic ke konzumaci. Průměrné hodnoty každého dobrovolníka pro jednotlivé látky byly zaznamenány a následně srovnány s koncentrací látek u dalších testovaných jedinců. Na obrázku 36 jsou porovnány průměrné hodnoty vybraných těkavých látek všech dobrovolníků, kde je jasně patrná variabilita látek v dechu jednotlivých pozorovaných jedinců. Koncentrace methanu je výrazně vyšší, z tohoto důvodu, je tato látka separována od ostatních výsledků.



Obrázek 36: stanovení běžných hodnot vybraných látek v dechu dobrovolníků

7.4 Ovlivnění hladiny látek v dechu po požití mléka

Odlisný den probíhalo měření látek v dechu po požití klasického kravského mléka s obsahem laktózy. Testovaný dobrovolník byl požádán o 1. sérii 3 výdechů a poté mu bylo podáno 200 ml mléka, které vypil. Po 5 minutách byl požádán o další sérii 3 výdechů. Série výdechů prováděl zhruba po 5-10 minutách po dobu přibližně 2 hodin. Následně byly jako při průběhu 1. měření dechu bez konzumace mléka stanoveny průměrné hodnoty pro jednotlivé série výdechů a ty byly následně zaznamenány (v podobě tečky) do grafu, který znázorňuje změny koncentrace látek v dechu v průběhu času.



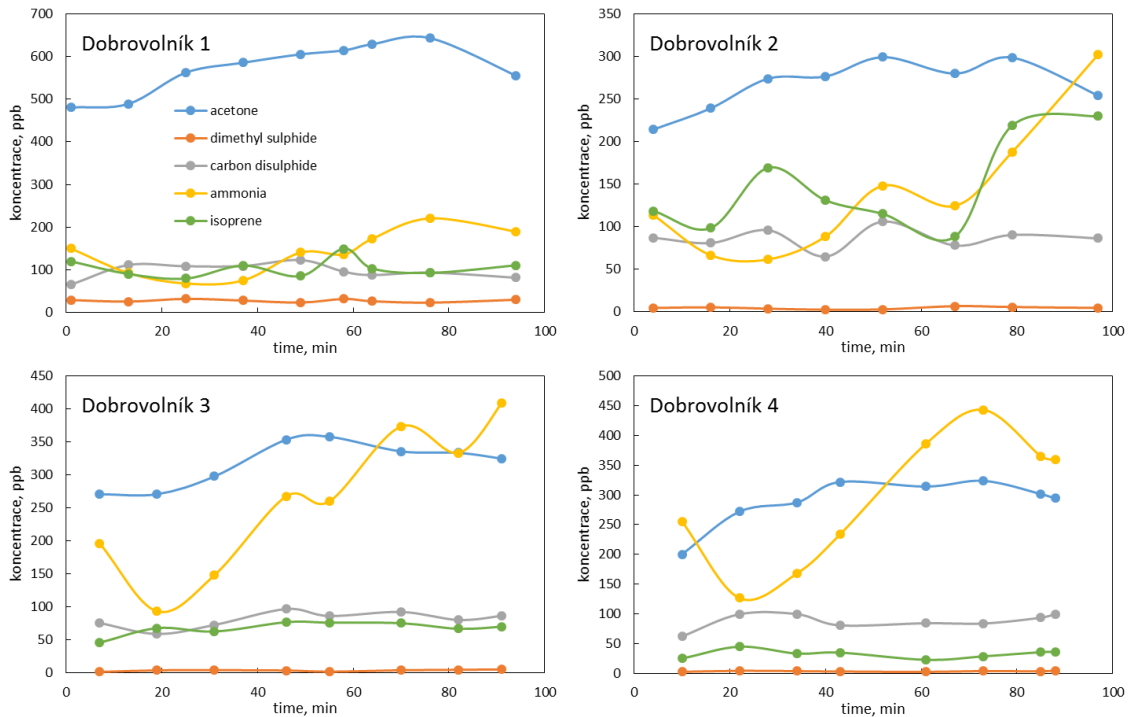
Obrázek 37: série 4 grafů zaznamenávající změny hodnot látek v dechu dobrovolníků po požití klasického mléka

KLASICKÉ MLÉKO

Rozdílné počáteční hodnoty látek ve srovnání s prvním testováním jsou pravděpodobně způsobeny odlišným stravováním před měřením.

U všech látek kromě amoniaku nebyly po požití mléka pozorovány výrazné změny.

Proces třetí fáze měření týkající se testování dechu po požití bezlaktózového mléka probíhal totožně jako při předešlém měření s klasickým mlékem s obsahem laktózy. Znovu byl dobrovolník požádán o tři výdechy a následně mu bylo podáno 200 ml industriálně upraveného mléka bez laktózy, po jehož vypití prováděl série 3 výdechů do přístroje po dobu přibližně 2 hodin s 5 – 10 minutovou pauzou mezi sériemi. Jako při předešlém měření byly výsledky vyhodnoceny a zaznamenány do grafu.

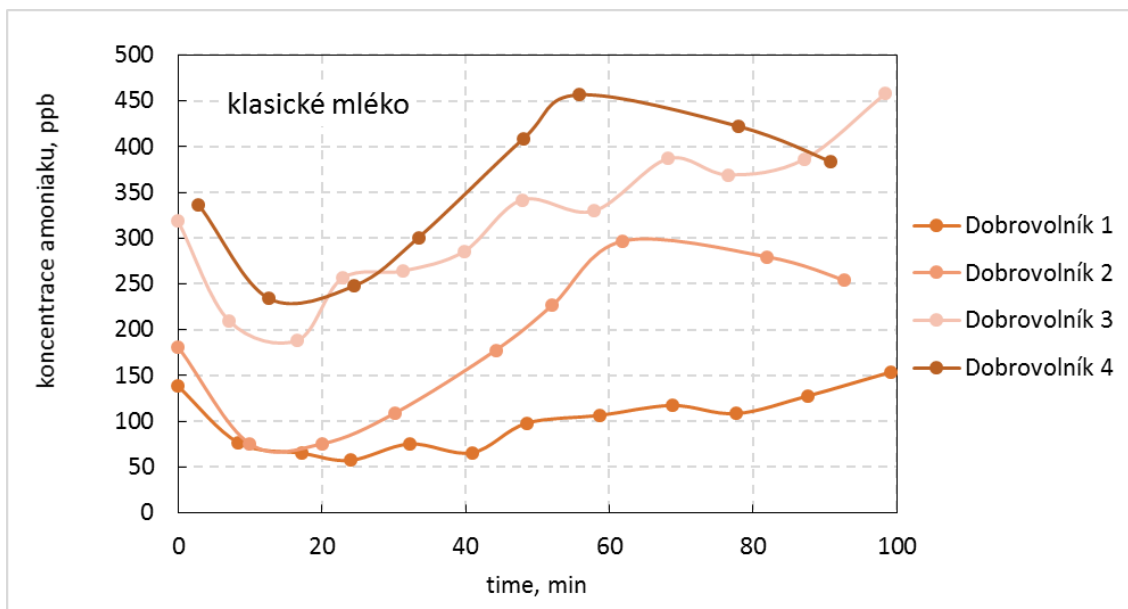


Obrázek 38: série 4 grafů zaznamenávající změny hodnot látek v dechu dobrovolníků po požití bezlaktóзовého mléka

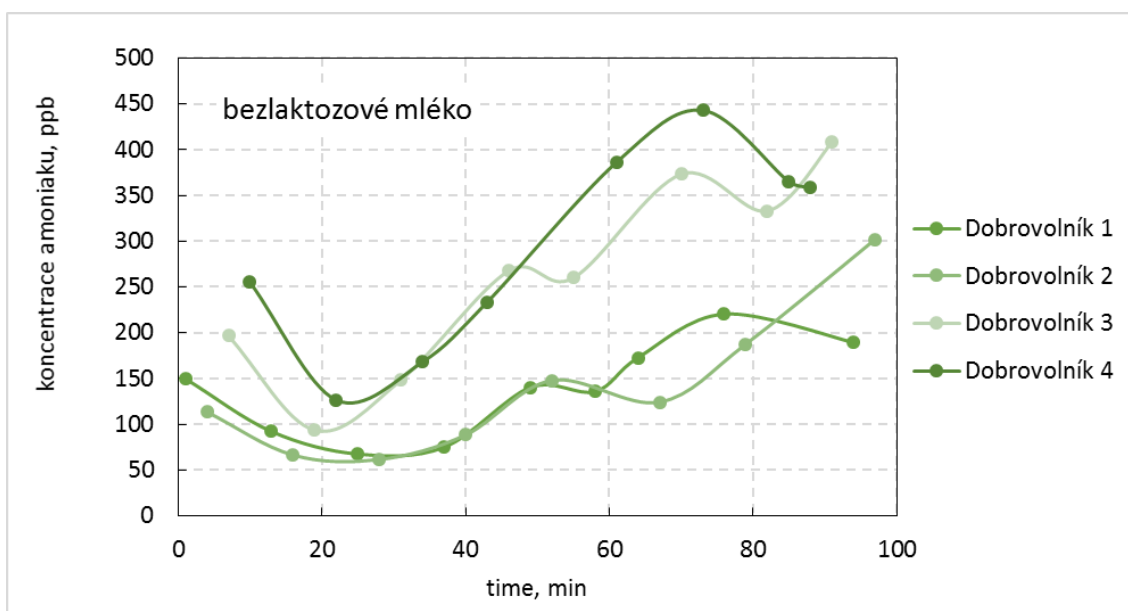
BEZLAKTÓZOVÉ MLÉKO

Výsledky testování změn koncentrací látek v dechu po požití bezlaktóзовého mléka rovněž neprokazují výraznější změny. Při 3. měření s bezlaktóзовým mlékem můžeme sledovat změny v hladinách koncentrací u isoprenu. Je pravděpodobné, že testovaný jedinec nebyl během měření v klidu a vyvíjel mezi sériemi výdechů nějakou fyzickou aktivitu, tento výsledek však není možné přisoudit požití bezlaktóзовého mléka.

U hladin koncentrací amoniaku došlo u všech testovaných jedinců po požití obou typů mlék k poměrně výraznému poklesu a následnému nárůstu.



Obrázek 39: graf změn hodnot amoniaku v dechu dobrovolníků po požití klasického mléka



Obrázek 40: graf změn hodnot amoniaku v dechu dobrovolníků po požití bezlaktózového mléka

8 DISKUZE

Při procesu odlaktózování klasického polotučného kravského mléka byl po sedminásobném opakování prolévání mléka přes gelovité útvary obsahující aktivovanou laktázu zaznamenán stejný výsledek glukózového testu jako u komerčně dostupného bezlaktózového mléka, kde výrobce zaručuje minimální výskyt laktózy. Toto testování však není možné prohlásit za jasně prokazující úplnou eliminaci laktózy v mléce a nebylo by ho tudíž možné použít pro testování výrobku určeného pro zákazníka. Z očividného nárůstu glukózy v mléce se však dá předpokládat výrazné snížení obsahu laktózy, která byla díky laktáze rozložena na glukózu a galaktózu.

V části zabývající se testováním 10 mléčných výrobků, byly pozorovány změny hodnot vybraných látek mezi klasickými produkty s obsahem laktózy a jejich odlaktózovanými formami a následně bylo zjišťováno, zda-li je pomocí metody SIFT-MS možné detekovat rozloženou laktózu v produktu. Z důvodu širokého spektra výsledků bylo stanoveno, že na celkový obsah látek v mléčných produktech má vliv mnoho faktorů, a tudíž není použita metoda ideální pro identifikaci mléčného cukru v potravině. Vznik alkoholů, esterů, a těkavých kyselin identifikuje bakteriální aktivitu v mléce, přičemž složení bakteriální populace ovlivňuje zastoupení těkavých látek v headspace. Růst koliformních bakterií v mléce je spojen s vysokými hladinami ethanolu, zatímco tvorba sloučenin, jako je acetaldehyd souvisí s růstem bakterií mléčného kvašení (např. *Lactococcus lactis*).²⁴ Aldehydy významně přispívají k intenzitě aromatu v mléce, které prošlo procesem fermentace (např. jogurt). Počáteční koncentrace acetaldehydu byly ve srovnání s jogurtem připraveným z kozího mléka vyšší u jogurtu, který byl připraven z kravského mléka. Jak je uvedeno v práci²² rozdílná hodnota acetaldehydu v kravském a kozím jogurtu je způsobena inhibicí threonin-aldolázy glycinem.

V konečné části testování dechu dobrovolníků byly metodou SIFT-MS stanoveny běžné hodnoty koncentrace vybraných látek pro dobrovolníky. Rozdílné hodnoty v dechu jednotlivých dobrovolníků mohou být zapříčiněny mnoha různými faktory. U testovaných látek, jako je dimethylsulfid, sirouhlík a isopren nebyly shledány veliké rozdíly mezi hodnotami dobrovolníků. V lidském dechu se vyskytují ve stopovém množství. Hladina acetonu v dechu znázorňuje rychlost metabolismu (která je mimo jiné spojována s věkem, váhou a výškou člověka). Toto tvrzení potvrzuje testovaný jedinec 1, jehož BMI (tedy index tělesné hmotnosti, udávající poměr váhy, výšky, věku a pohlaví) je nejnižší a rychlost metabolismu teoreticky nejvyšší. Průměrná hodnota acetonu v dechu dobrovolníka 1 je v porovnání s ostatními testovanými jedinci zdaleka nejvyšší. Zvýšení acetonu v dechu může být rovněž ukazatelem hladovění před provedením testování dechu, aplikování ketogenní diety, či neléčeného diabetu.^{29,30,31} Množství acetonu v dechu testovaného jedince 1 je i přes vyšší hodnoty stále v normě (ta je udávána v rozmezí od 100 do 1000 ppb).³¹ Množství amoniaku v dechu je ovlivněno složením bakteriální populace v ústech testovaného. Amoniak je vytvářen právě v ústech především bakterií *Helicobacter pylori*. Hladiny hodnot methanu v dechu jsou způsobeny složením bakteriální populace v trávicím traktu člověka, a tudíž by mohly teoreticky sloužit jako ukazatel laktózové intolerance u lidí,

v jejichž střevech se místo bakterií tvořících po reakci s nerozštěpeným mléčným cukrem vodík tvoří právě bakterie, které po totožné reakci tvoří namísto vodíku methan.^{29,30,31}

Při pozorování hodnot většiny vybraných látek v dechu po požití mléka nebyly zaznamenány výrazné změny. Jedinou látkou, kde došlo k výraznějším změnám byl amoniak. Bezprostředně po požití mléka (klasického i bezlaktózového) došlo k poklesu hodnot této chemické látky a následnému nárůstu. Jak je ve studii²⁷ popsáno, pokles může být způsoben zvýšením prokrvení portálního krevního oběhu, kdy játra těsně po konzumaci potravin spotřebovávají amoniak. Následný nárůst amoniaku v dechu je podle studie²⁷ zapříčiněn dusíkem v mléčné bílkovině, který se ve formě aminokyselin přenáší do jater a následně se díky krevnímu oběhu projeví v dechu ve formě amoniaku.²⁷

9 ZÁVĚR

V rámci praktické části práce se v laboratorních podmínkách povedlo připravit bezlaktóзовé mléko a za pomoci testu indikace glukózy potvrdit stejný výsledek jako u komerčně dostupného produktu. S ohledem na stupeň škodlivosti alginátu sodného, který dosahuje hodnoty 3, tedy aditivum nevhodné pro děti, alergiky, a osoby citlivé na chemické přídavky a rovněž na počet nutného opakování filtrace mléka, není tato varianta zbavení laktózy ideální a je možné prohlásit koupi komerčně upraveného výrobku za výhodnější.

V další části byly za pomoci metody SIFT-MS studovány těkavé látky v headspace mléčných výrobků a následně pozorovány rozdíly mezi fermentovanými a pasterovanými výrobky. Rovněž byl analyzován i odlišný druh mléka ve formě kozího jogurtu.

V lidském dechu byl pozorován vliv požití mléka na hladiny vybraných látek v dechu. Látky byly pozorovány v dechu dobrovolníků, kteří předem souhlasili s tímto výzkumem a podepsali informovaný souhlas pro provedení tohoto měření. Tento informovaný souhlas, který je v této práci zařazen do příloh, bude po dobu 5 let uchován v Ústavu fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského v Praze, kde výzkum probíhal. Jedinou látkou, která u všech vykazovala podobné výsledky byl amoniak, u něhož došlo po konzumaci mléka k poklesu a následnému nárůstu.

Podle studie vypracované v této práci je možné prohlásit, že laktóza nemá vliv na vybrané látky v lidském dechu.

10 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. BRONSKÝ, Jiří, NOVÁK, Vlastimil, ed. Alergie na bílkovinu kravského mléka. *ZAM: Zdravotnictví a medicína* [online]. Mladá fronta, 10.6.2010 [cit. 2018-11-21]. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina-priloha/alergiena-bilkovinu-kravskeho-mleka-452398>
2. BŘEZKOVÁ, Veronika. *Laktózová intolerance versus laktózová tolerance* [online]. Brno, 2009 [cit. 2018-11-10]. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/p76ks/bakalarska_prace.pdf. Bakalářská práce. Masarykova univerzita v Brně, Lékařská fakulta, Obor nutriční terapeut. Vedoucí práce Halina Matějová.
3. BUŠINOVÁ, Iva. Snižování a odstraňování laktózy z mléka a výrobků. *BEZLEPKOVADIETA: Poradce pro bezlepkovou dietu* Ing. Iva Bušinová [online]. Poradenské centrum pro celiakii a bezlepkovou dietu, 2013 [cit. 2018-11-25]. Dostupné z: <http://www.bezlepkovadieta.cz/pridruzene-alergie/2856-3/snizovani-a-odstranovani-laktozy-z-mleka-a-vyrobk>
4. ČURDA, Ladislav. Bezlaktózové potraviny: Potraviny s nízkým obsahem laktózy. In: *Společnost pro výživu* [online]. Praha: Společnost pro výživu [cit. 2018-11-10]. Dostupné z: <http://www.vyzivaspol.cz/wp-content/uploads/2016/01/curda.pdf>
5. E401 - Alginát sodný: Stabilizátor, zahušřovadlo a želírující látka. *Akcniceny.cz: Nejlepší nabídky z letáků* [online]. Praha: MAFRA, 2000 [cit. 2019-01-05]. Dostupné z: <https://www.akcniceny.cz/ecka-v-potravinach/e401-alginat-sodny/>
6. E509 - Chlorid vápenatý: Regulátor kyselosti. *Akcniceny.cz: Nejlepší nabídky z letáků* [online]. Praha: MAFRA, 2000 [cit. 2019-01-05]. Dostupné z: <https://www.akcniceny.cz/ecka-v-potravinach/e509-chlorid-vapenaty/>
7. FAJKUSOVÁ, Kristýna. *Je mléko vhodné a zdravé pro dospělého člověka?* [online]. Brno, 2009 [cit. 2018-10-29]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/th/lfy08/Bc.pdf?so=nx>. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta. Vedoucí práce Jindřich Fiala.
8. FOJÍK, Petr, Přemysl FALT, Ondřej URBAN, Pavel, Ludmila RICHTEROVÁ a Arpád BÓDAY. Intolerance laktózy. *Practicus* [online]. 12(5), 7-12 [cit. 2018-10-31]. Dostupné z: <http://www.practicus.eu/data/Practicus2013/practicus2013-05.pdf>
9. FRITZSCHEOVÁ, Doris a Pavla LUTOVSKÁ. *Intolerance laktózy*. Bratislava: Noxi, 2015. ISBN 978-80-8111-258-4.
10. HURLEY, Walter R. Milk Composition & Synthesis: Lactose. In: *Lactation biology website* [online]. Illinois: Walter R. Hurley, 2010 [cit. 2018-10-24]. Dostupné z: http://ansci.illinois.edu/static/ansc438/Milkcompsynth/milkcomp_lactose.html
11. INGLESFIELD, William. Making lactose-free milk with immobilised lactase enzyme. *William's biology blog* [online]. 2015, 11.10.2015 [cit. 2018-12-28]. Dostupné z: <http://williamsbiologyblog.weebly.com/blog/making-lactose-free-milk-with-immobilised-lactase-enzyme>

12. KLÍMOVÁ, Edita. *Alternativní zdroje bílkovin a vápníku při nesnášenlivosti laktózy* [online]. Brno, 2007 [cit. 2018-12-02]. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/y3mnv/Bakalarska_prace__Alternativni_zdroje_bilkovin_a_vapniku_pri_nesnasenlivosti_laktozy__1_.doc. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Fakulta sportovních studií, Katedra sportovní medicíny a zdravotní tělesné výchovy. Vedoucí práce Jana Juříková.
13. KOČÁREK, Eduard. *Biologie člověka*. Praha: Scientia, 2010. Biologie pro gymnázia. ISBN 978-80-86960-47-0.
14. KOHOUT, Pavel, Jana DOSTÁLOVÁ, Peter SZITÁNYI, Natália SZITÁNYI a Lucie RŮŽIČKOVÁ. *MLÉKO - přítel nebo nepřítel: Jak postupovat při nesnášenlivosti mléka*. Praha: Forsapí, 2016. ISBN 978-80-87250-31-0.
15. KOPÁČEK, Jiří. Laktózová intolerance, její příčiny, příznaky a nutriční řešení. *Mlékařské listy* [online]. 2017, 28(6), 11-16 [cit. 2018-10-29]. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2017/veda_165_s.11-16.pdf
16. LAŠTOVIČKOVÁ, Jitka. Celiakie. In: *Endocare* [online]. Praha: Endocare, 2011 [cit. 2018-11-11]. Dostupné z: <http://endokrinologie-obezitologie.cz/cs/clanky/nutricni-terapie/celiakie/>
17. LOMER, M.C.E., G.C. PARKES a J.D. SANDERSON. Review article: lactose intolerance in clinical practice-myths and realities. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* [online]. Blackwell Publishing, 2008, (27), 93-103 [cit. 2018-11-03]. Dostupné z: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.463.6513&rep=rep1&type=pdf>
18. LUŇÁČEK, Libor. Tenké střevo. *Fotografický interaktivní atlas člověka* [online]. Olomouc: Libor Luňáček, 2012 [cit. 2018-11-07]. Dostupné z: <http://www.atlasloveka.upol.cz/cs/cs02/cs0205/cs020507.html>
19. MAŇÁSKOVÁ, Dana. Celiakie a laktózová intolerance. In: *CISTRONICA: Inovativní vzdělávací programy pro farmaceutické pracovníky* [online]. Jihomoravský kraj: genderi.org, 2017, s. 1-14 [cit. 2018-11-24]. Dostupné z: <http://genderi.org/1-laktzov-intolerance.html>
20. POSPÍŠILOVÁ, Veronika. *Hmotnostní spektrometrie pro analýzu dechu v klinické diagnostice* [online]. Praha, 2012 [cit. 2018-11-29]. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie, Studijní obor: Klinická a toxikologická analýza. Vedoucí práce Kristýna Sovová.
21. POWELL T.E. Making Lactose-Free Milk: Teacher's manual and student guide. *Carolina* [online]. New York: Carolina Biological Supply Company, , 1-7 [cit. 2018-12-28]. Dostupné z: <https://www.carolina.com/teacher-resources/Document/making-lactose-free-milk-sample-teachers-manual/tr32973.tr>
22. ROURAY W. a H.N. MISHRA. Scientific and Technical Aspects of Yogurt Aroma and Taste: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2011, 10, 208 – 220 [cit. 2019-1-28].
23. RUSŇÁKOVÁ, Magdalena. Potravinová alergie a intolerance. *Toxicology* [online]. Patočka, 2016, 10.1.2016 [cit. 2018-11-15]. Dostupné z: <http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=851>

24. SILCOCK P., M. ALOTHMAN, E. ZARDIN, S. HEENAN, C. SIEFARTH, P.J. BREMER, a J. BEAUCHAMP. Microbially induced changes in the volatile constituents of fresh chilled pasteurised milk during storage. *Food packaging and shelf life*. 2014, 2, 81 – 90 [cit. 2019-1-28].
25. SKOUPILOVÁ, Hana. *Genetická podstata deficiencie laktázy v současné lidské populaci* [online]. Brno, 2012 [cit. 2018-10-29]. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/i0mg3/Geneticka_podstata_deficiencie_laktazy_v_soucasne_lidske_populaci_-_Hana_Skoupilova.pdf?so=nx. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, Oddělení genetiky a molekulární biologie. Vedoucí práce Eva Drozdová.
26. SLUKOVÁ, Marcela. *Výroba potravin a nutriční hodnota*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-947-1.
27. SMITH, David, Patrik ŠPANĚL a Simon DAVIES. *BREATH ANALYSIS AFTER PROTEIN-CALORIE MEAL: Trace gases in breath of healthy volunteers when fasting and after a protein-calorie meal: a preliminary study*. 30.10.1998, , 1584-1588 [cit. 2019-02-03].
28. STAROVIČOVÁ, Martina. *Chemia cukrów. Food-info* [online]. Wageningen: Wageningen University, 1999 [cit. 2019-01-28]. Dostupné z: <http://www.food-info.net/pl/products/sugar/chemistry.htm>
29. ŠPANĚL P., K. DRYAHINA, A. REJŠKOVÁ, T. CHIPPENDALE, a D. SMITH. Breath acetone concentration; biological variability and the influence of diet. *Physiological Measurement*. 2011, 32, N23 – N31 [cit. 2019-1-28].
30. ŠPANĚL P., K. DRYAHINA a D. SMITH. Acetone, ammonia and hydrogen cyanide in exhaled breath of several volunteers aged 4-83 years. *Journal of Breath Research*. 2007, 1, 011001 (4pp) [cit. 2019-1-28].
31. ŠPANĚL P., K. DRYAHINA a D. SMITH. The concentration distributions of some metabolites in the exhaled breath of young adults. *Journal of Breath Research*. 2007, 1, 026001 (8pp) [cit. 2019-1-28].
32. TĚŠÍKOVÁ, Markéta. *Deficiencie laktázy v současné české a moravské populaci* [online]. Brno, 2013 [cit. 2018-11-02]. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/eamho/definito_diplo.pdf. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav antropologie. Vedoucí práce Eva Drozdová.
33. V., T. a P. T. Laktózová intolerance. In: *Společnost pro výživu* [online]. Praha: Společnost pro výživu, 2014 [cit. 2018-11-10]. Dostupné z: <http://www.vyzivaspol.cz/odborne-sekce/dietni-a-klinicka-vyziva/pro-verejnost/vybrane-diety/laktozova-intolerance/>
34. WEBEROVÁ, Jiřina. *Laktózová intolerance: výskyt ve světové populaci a možnosti její diagnostiky* [online]. České Budějovice, 2016 [cit. 2018-10-31]. Dostupné z: https://theses.cz/id/mbq3kw/Bakalsk_prce_-_Weberov.pdf. Bakalářská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Dagmar Bystřická,.
35. ZUBERBIER, T. Cow's Milk Allergy. *ECARF* [online]. 2016 [cit. 2018-11-15]. Dostupné z: <https://www.ecarf.org/en/information-portal/allergies-overview/cows-milk-allergy/>

11 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: strukturní vzorec laktózy ²⁸	10
Obrázek 2: struktura enzymu laktáza ³⁴	12
Obrázek 3: hydrolýza laktózy enzymem laktázou za přítomnosti vody ³⁴	12
Obrázek 4: hydrolýza laktózy v tenkém střevě při laktózové toleranci ²	13
Obrázek 5: proces rozkládání laktózy v tlustém střevě při laktózové intoleranci ²	13
Obrázek 6: prevalence laktózové tolerance ve světové populaci ³²	18
Obrázek 7: klesající tendence výskytu laktózové tolerance ve vybraných státech ³²	18
Obrázek 8: alginát sodný (Foto autora práce)	24
Obrázek 9: chlorid vápenatý (Foto autora práce)	24
Obrázek 10: srovnání obsahu glukózy v klasickém a bezlaktózovém mléce *	25
Obrázek 11: 1% roztok alginátu sodného (Foto autora práce)	25
Obrázek 12: aparatura pro úpravu mléka (Vytvořeno autorem práce v programu ChemSketch)	25
Obrázek 13: 2% roztok chloridu vápenatého (Foto autora práce)	26
Obrázek 14: 1% roztok laktázy (Foto autora práce)	26
Obrázek 15: roztok laktázy a alginátu sodného (Foto autora práce)	26
Obrázek 16: vytváření gelovitých útvarů (Foto autora práce)	26
Obrázek 17: zachycování gelovitých útvarů (Foto autora práce)	27
Obrázek 18: plnění injekční stříkačky gelovitými útvary (Foto autora práce)	27
Obrázek 19: vlévání mléka přes gelovité útvary v injekční stříkačce (Foto autora práce) .	27
Obrázek 20: glukózový test obyčejného mléka – nepřítomnost laktózy (Foto autora práce)	28
Obrázek 21: glukózový test po 1. úpravě mléka (Foto autora práce)	28
Obrázek 22: glukózový test po 2. úpravě mléka (Foto autora práce)	28
Obrázek 23: glukózový test po 3. úpravě mléka (Foto autora práce)	28

Obrázek 24: glukózový test po 4. úpravě mléka (Foto autora práce).....	28
Obrázek 25: glukózový test po 5. úpravě mléka (Foto autora práce).....	28
Obrázek 26: glukózový test po 6. úpravě mléka (Foto autora práce).....	28
Obrázek 27: glukózový test po 7. úpravě mléka (Foto autora práce).....	28
Obrázek 28: srovnání glukózových testů (Foto autora práce).....	29
Obrázek 29: srovnání glukózových testů industriálně připraveného bezlaktózového mléka a laboratorně připraveného mléka bez laktózy (Foto autora práce).....	29
Obrázek 30: princip metody SIFT-MS (Archiv ÚFCHJH).....	30
Obrázek 31: přístroj zpracovávající metodu SIFT-MS (Archiv ÚFCHJH).....	30
Obrázek 32: 10 testovaných mléčných výrobků (Foto autora práce).....	31
Obrázek 33: příklad hmotnostních spekter ve formě full scanu (Záznam měření metodou SIFT-MS).....	32
Obrázek 34: koncentrace vybraných látek v jednotlivých produktech v jednotkách ppb (Záznam měření metodou SIFT-MS).....	32
Obrázek 35: znázornění 1 série 3 výdechů dobrovolníka 1 (Záznam měření dechu dobrovolníka 1).....	33
Obrázek 36: stanovení běžných hodnot vybraných látek v dechu dobrovolníků (Záznam měření dechu dobrovolníků).....	34
Obrázek 37: série 4 grafů zaznamenávajících změny hodnot látek v dechu dobrovolníků po požití klasického mléka (Záznam měření dechu dobrovolníků).....	35
Obrázek 38: série 4 grafů zaznamenávajících změny hodnot látek v dechu dobrovolníků po požití bezlaktózového mléka (Záznam měření dechu dobrovolníků).....	36
Obrázek 39: graf změn hodnot amoniaku v dechu dobrovolníků po požití klasického mléka (Vyhodnocení měření dechu dobrovolníků).....	37
Obrázek 40: graf změn hodnot amoniaku v dechu dobrovolníků po požití bezlaktózového mléka (Vyhodnocení měření dechu dobrovolníků).....	37

12 SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1: průměrný obsah laktózy v mléce různých druhů savců (g/100 g) ¹⁵</i>	10
<i>Tabulka 2: obsah laktózy (g/100 g) ve vybraných mléčných výrobcích z kravského mléka ³²</i>	11

PŘÍLOHY

INFORMOVANÝ SOUHLAS DOBROVOLNÍKA

s poskytnutím vzorků vydechovaného vzduchu za účelem studie těkavých látek v dechu před a po požití mléka v praktické části ročníkové práce.

Cílem praktické části ročníkové práce je zjistit, zda má mléko (klasické s obsahem laktózy i odlaktózované) vliv na změnu těkavých látek v dechu.

Výhodou této analytické metody prováděné na přístroji SIFT-MS je její neinvazivní charakter, nenáročnost pro dobrovolníka a rychlost odběru vzorku.

Pro tento účel bych Vás požádala o několik sérií tří výdechů se zhruba pěti minutovou přestávkou mezi sériemi do snímacího zařízení pro měření látek v reálním čase.

Odebraný vzorek bude označen číslem a bude obsahovat pohlaví, věk, výšku a váhu dobrovolníka.

Odběr vzorku bude prováděn s použitím jednorázových náustků

Studentka Gymnázia a SOŠPg Jeronýmova v Liberci

Kateřina Ptáčková

Souhlasím s odběrem vydechovaného vzduchu a použitím vzorků pro studium těkavých látek v dechu před a po požití mléka.

V Praze dne

.....

jméno a podpis dobrovolníka