

Mendelova univerzita v Brně  
Agronomická fakulta

# MLÉKÁRENSKÉ TECHNOLOGIE (návody do cvičení)

Prof. Ing. Květoslava Šustová, Ph.D.

**Mendelova univerzita v Brně  
Agronomická fakulta**

# **MLÉKÁRENSKÉ TECHNOLOGIE (návody do cvičení)**

**Prof. Ing. Květoslava Šustová, Ph.D.**

**Brno 2015**



**esf** evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

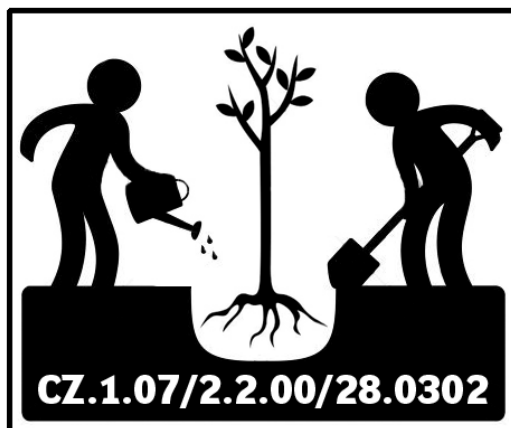


Mendelova  
univerzita  
v Brně

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



*Tato publikace je spolufinancována z Evropského sociálního fondu a státního rozpočtu České republiky.*

*Byla vydána za podpory projektu OP VK CZ.1.07/2.2.00/28.0302 Inovace studijních programů AF a ZF MENDELU směřující k vytvoření mezioborové integrace.*

© Prof. Ing. Květoslava Šustová, Ph.D.

ISBN 978-80-7509-248-9

## Obsah

<b>1. KONZUMNÍ MLÉKA</b> .....	<b>11</b>
<b>1.1 Odběr a příprava vzorků</b> .....	<b>12</b>
<b>1.2 Smyslové hodnocení</b> .....	<b>12</b>
<b>1.3 Průkaz záhřevu mléka</b> .....	<b>13</b>
1.3.1 Záhřev na teploty pod 80 °C .....	13
1.3.2 Záhřev na teploty nad 80 °C .....	15
1.3.3 Sterilizace nebo UHT záhřev .....	16
<b>1.4 Stanovení obsahu sušiny</b> .....	<b>17</b>
1.4.1 Referenční metoda.....	17
1.4.2 Technická metoda.....	17
<b>1.5 Stanovení obsahu tuku v mléce</b> .....	<b>17</b>
1.5.1 Acidobutyrometrická (Gerberova) metoda.....	17
1.5.2 Stanovení tučnosti odstředěného mléka .....	21
<b>1.6 Stanovení homogenizačního efektu</b> .....	<b>22</b>
1.6.1 Měření tučnosti vrstev .....	22
1.6.2 Měření velikosti tukových kuliček .....	22
<b>1.7 Stanovení alkoholové stability</b> .....	<b>23</b>
1.7.1 Alkoholový test .....	23
1.7.2 Alkoholové číslo.....	23
<b>1.8 Stanovení vápníku a hořčíku</b> .....	<b>24</b>
<b>1.9 Úprava tučnosti mléka</b> .....	<b>24</b>
<b>2. SMETANY</b> .....	<b>27</b>
<b>2.1 Odběr a příprava vzorků</b> .....	<b>27</b>
<b>2.2 Stanovení obsahu tuku</b> .....	<b>27</b>
2.2.1 Metody výplachová .....	27
2.2.2 Metoda podle Rødera .....	28
<b>2.3 Stanovení titrační kyselosti</b> .....	<b>29</b>
<b>2.4 Důkaz pasterace</b> .....	<b>29</b>
<b>2.5 Stanovení celkových bílkovin</b> .....	<b>29</b>
2.5.1 Formolová titrace.....	29
<b>2.6 Provozní výpočty</b> .....	<b>31</b>
<b>2.7 Výroba mascarpone</b> .....	<b>32</b>

<b>3. MÁSLA</b> .....	<b>33</b>
<b>3.1 Odběr a příprava vzorků</b> .....	<b>34</b>
<b>3.2 Smyslové hodnocení</b> .....	<b>34</b>
3.2.1 Vady másla .....	34
<b>3.3 Stanovení obsahu vody</b> .....	<b>35</b>
3.3.1 Technickou metodou .....	35
3.3.2 Stanovení obsahu vody přesnou metodou .....	36
<b>3.4 Stanovení vody, netuků a tuku z jedné navážky</b> .....	<b>36</b>
<b>3.5 Stanovení obsahu tuku</b> .....	<b>37</b>
<b>3.6 Stanovení velikosti vodních kapének</b> .....	<b>38</b>
<b>3.7 Stanovení peroxidů</b> .....	<b>39</b>
3.7.1 Důkaz peroxidů podle Bulíře.....	39
3.7.2 Stanovení obsahu peroxidů.....	39
3.7.3 Důkaz aldehydů .....	40
<b>3.8 Výpočet výtěžnosti másla</b> .....	<b>40</b>
<b>3.9 Výroba másla</b> .....	<b>41</b>
<b>3.10 Výroba ghee</b> .....	<b>42</b>
<b>4. ČISTÉ KULTURY</b> .....	<b>43</b>
<b>4.1 Smyslové hodnocení základních kultur</b> .....	<b>43</b>
<b>4.2 Charakteristika kultur dle kultivačních zkoušek</b> .....	<b>44</b>
<b>4.3 Stanovení životnosti a aktivity kultur</b> .....	<b>47</b>
4.3.1 Fenolový test .....	47
4.3.2 Reduktázová zkouška .....	48
4.3.3 Kysací aktivita .....	49
<b>4.4 Zjišťování přítomnosti bakteriofága</b> .....	<b>50</b>
<b>4.5 Stanovení biacetylu</b> .....	<b>50</b>
<b>5. FERMENTOVANÉ MLÉČNÉ VÝROBKY</b> .....	<b>52</b>
<b>5.1 Odběr a příprava vzorků</b> .....	<b>53</b>
<b>5.2 Smyslové požadavky</b> .....	<b>53</b>
<b>5.3 Stanovení titrační kyselosti</b> .....	<b>54</b>
<b>5.4 Stanovení kyseliny mléčné</b> .....	<b>55</b>
5.4.1 Výpočtem z titrační kyselosti .....	55
<b>5.5 Stanovení aktivní kyselosti</b> .....	<b>55</b>
<b>5.6 Stanovení sušiny</b> .....	<b>56</b>

5.6.1 Referenční metoda.....	56
5.6.2 Metoda sušení se ZnO .....	56
5.6.3 Rychlá provozní metoda.....	57
5.6.4 Pomocí analytických vah s infračervenou sušičkou.....	57
<b>5.7 Stanovení obsahu tuku acidobutyrometrickou metodou.....</b>	<b>57</b>
<b>5.8 Úprava mléka na výrobu jogurtů .....</b>	<b>58</b>
<b>5.9 Výroba jogurtu .....</b>	<b>59</b>
<b>5.10 Výroba sladkého jogurtu .....</b>	<b>60</b>
<b>5.11 Výroba nápoje ayran.....</b>	<b>60</b>
<b>5.12 Výroba sýru labneh .....</b>	<b>60</b>
<b>6. SYŘIDLA.....</b>	<b>63</b>
<b>6.1 Odběr a příprava vzorků.....</b>	<b>63</b>
<b>6.2 Posuzování kvality syřidla .....</b>	<b>63</b>
<b>6.3 Stanovení síly syřidla podle Soxhleta.....</b>	<b>64</b>
6.3.1 Klasická syřidla .....	64
6.3.2 Pepsinová syřidla.....	65
<b>6.4 Stanovení syřitelnosti mléka.....</b>	<b>65</b>
<b>6.5 Stanovení jakosti sýřeniny .....</b>	<b>66</b>
<b>6.6 Stanovení dávky syřidla potřebné na sýření.....</b>	<b>67</b>
<b>7. TVAROHY A SÝRY.....</b>	<b>68</b>
<b>7.1 Odběr, příprava a úschova vzorků .....</b>	<b>68</b>
<b>7.2 Smyslové hodnocení sýrů .....</b>	<b>69</b>
7.2.1 Postup při senzorickém hodnocení sýrů .....	70
<b>7.3 Charakteristika některých druhů sýrů .....</b>	<b>76</b>
7.3.1 Tvaroh.....	76
7.3.2 Čerstvé krémové a tvarohové sýry .....	76
7.3.3 Sýry s nízkodohřívanou sýřeninou .....	77
7.3.4 Sýry s vysokodohřívanou sýřeninou .....	78
7.3.5 Sýry s bílou plísní na povrchu (např. Hermelín, Camembert) .....	80
7.3.6 Sýry s plísní uvnitř hmoty (např. Niva, Roqueford).....	80
<b>7.4 Mikrobiální vady sýrů.....</b>	<b>80</b>
7.4.1 Hnidovitost sýrů .....	80
7.4.2 Pozdní duření sýrů.....	81
<b>7.5 Stanovení sušiny .....</b>	<b>81</b>

7.5.1 Referenční metoda.....	81
7.5.2 Technická metoda.....	82
7.5.3 Stanovení sušiny (obsahu vody) za použití analytických vah s infrazářičem .....	83
<b>7.6 Stanovení obsahu tuku .....</b>	<b>83</b>
7.6.1 Metoda podle van Gulika .....	83
7.6.2 Metoda podle Hammerschmidta.....	84
<b>7.7 Obsah tuku v sušině .....</b>	<b>84</b>
<b>7.8 Stanovení titrační kyselosti.....</b>	<b>84</b>
<b>7.9 Stanovení aktivní kyselosti .....</b>	<b>85</b>
<b>7.10 Stanovení obsahu chloridu sodného .....</b>	<b>85</b>
7.10.1 Přímou titrací .....	85
7.10.2 Potenciometrickou titrační metodou.....	86
<b>7.11 Stanovení železa a mědi v tvarohu .....</b>	<b>87</b>
7.11.1 Stanovení obsahu železa.....	87
7.11.2 Stanovení obsahu mědi.....	87
<b>7.12 Úprava mléka na výrobu sýrů.....</b>	<b>88</b>
<b>7.13 Stanovení výtěžnosti.....</b>	<b>89</b>
<b>7.14 Výroba sýru panýr .....</b>	<b>90</b>
<b>7.15 Výroba čerstvého sýru .....</b>	<b>91</b>
7.15.1 Vady čerstvých sýrů .....	95
<b>8. ZAHUŠTĚNÉ VÝROBKY .....</b>	<b>96</b>
<b>8.1 Odběr a příprava vzorků.....</b>	<b>96</b>
<b>8.2 Stanovení sušiny .....</b>	<b>97</b>
8.2.1 Referenční metoda.....	97
8.2.2 Rutinní metoda .....	97
<b>8.3 Stanovení obsahu tuku.....</b>	<b>97</b>
<b>8.4 Stanovení titrační kyselosti.....</b>	<b>98</b>
<b>8.5 Stanovení laktózy a sacharózy vedle sebe .....</b>	<b>98</b>
<b>9. SUŠENÉ VÝROBKY .....</b>	<b>100</b>
<b>9.1 Odběr a příprava vzorků.....</b>	<b>100</b>
<b>9.2 Stanovení obsahu vody.....</b>	<b>100</b>
9.2.1 Referenční metoda.....	100
9.2.2 Rutinní metoda .....	101
<b>9.3 Stanovení obsahu tuku Gerberovou metodou .....</b>	<b>101</b>

<b>9.4 Stanovení titrační kyselosti – referenční metody</b> .....	<b>102</b>
9.4.1 Sušená mléka .....	102
9.4.2 Sušené mléčné výrobky s přísadami.....	102
<b>9.5 Stanovení nečistot</b> .....	<b>103</b>
<b>9.5.1 Stanovení připálených částic a jiných nečistot filtrací</b> .....	<b>103</b>
<b>9.5.2 Stanovení nečistot sedimentací</b> .....	<b>104</b>
<b>9.6 Stanovení disperzibility sušených mlék</b> .....	<b>104</b>
<b>9.7 Stanovení sypné hmotnosti</b> .....	<b>105</b>
9.7.1 Volně sypaná hmotnost .....	105
9.7.2 Sypná hmotnost volně sklepaného prášku .....	106
9.7.3 Sypná hmotnost sklepaná .....	106
<b>9.8 Specifický objem sušených výrobků</b> .....	<b>106</b>
<b>10. MRAŽENÉ KRÉMY</b> .....	<b>107</b>
10.1 Odběr vzorků .....	107
10.2 Smyslové požadavky.....	108
10.3 Stanovení sušiny .....	108
10.3.1 Referenční metodou.....	108
10.3.2 Metodou s regulovaným infraohřevem .....	108
10.4 Stanovení obsahu tuku acidobutyrometricky (provozní metoda) .....	108
10.5 Stanovení kyselosti titrační metodou .....	108
10.6 Stanovení procenta našlehání.....	109
<b>11. HODNOCENÍ MIKROBIOLOGICKÉ KVALITY</b> .....	<b>110</b>
11.1 Odběr vzorků pro mikrobiologické vyšetření.....	110
11.2 Weinzirlův test.....	110
11.3 Kvasná zkouška .....	111
11.4 Mikroskopické určení druhu a složení mikroflóry ve vzorku.....	112
11.5 Kultivační vyšetření .....	112
11.5.1 Stanovení počtu mikroorganismů na agarových živných půdách plotnovou metodou .....	112
11.5.2 Mikrobiologické vyšetření pomocí mikrobitestů .....	116
11.5.3 Mikrobiologické vyšetření pomocí destičky PETRIFILM (náhrada Petriho misek) .....	118
11.5.4 Automatizované stanovení počtu mikroorganismů v mléce .....	121
11.6 Automatická metoda přímého počítání bakterií v mléce na přístroji Bactoscan. 122	



**11.7 Metoda měření změn bioluminiscence na základě změn ATP (přístroj Bactofoss)**

..... 122

**POUŽITÁ LITERATURA** ..... 123

## Seznam obrázků

Obrázek 1: Čerstvě vyrobené máslo po vyklopení z formy .....	42
Obrázek 2: Kefírové zrno – barva zrna je smetanová, velikost až růžiček kvěťáku .....	46
Obrázek 3: Modelová růstová křivka jogurtové kultury Rx kultivované při teplotě 42 °C, měřeno po půlhodinových intervalech .....	49
Obrázek 4: Zaočkování mléka tekutou jogurtovou kulturou. ....	60
Obrázek 5: Postup odkapávání sýru Labneh a hotový sýr .....	62
Obrázek 6: Synereze tj. uvolňování čiré syrovátky ze sýřeniny po pokrájení .....	67
Obrázek 7: Správné porcování sýrů podle <a href="http://www.cheesesociety.org/domain-nine-cheese-service/">http://www.cheesesociety.org/domain-nine-cheese-service/</a> . ....	72
Obrázek 8: Hnidovitost sýrů způsobená bakteriemi skupiny <i>Coli aerogenes</i> . ....	81
Obrázek 9: Pozdní duření sýrů způsobené bakteriemi máselného kvašení.....	81
Obrázek 10: Krájení sýřeniny při výrobě čerstvého sýru.....	93
Obrázek 11: Příklad senzorického formuláře pro kategorii čerstvé sýry .....	94

## Seznam tabulek

Tabulka 1: Mléko tekuté .....	11
Tabulka 2: Vady chuti a vůně mléka.....	13
Tabulka 3: Vyjádření výsledku zkoušky s dinatriumfenylfosfátem.....	14
Tabulka 4: Vyjádření výsledků zkoušky s p-fenylendiaminem .....	16
Tabulka 5: Korekce na hmotnostní procenta při použití 11 ml pipety na mléko .....	21
Tabulka 6: Hodnocení alkoholového testu.....	23
Tabulka 7: Smetany tekuté.....	27
Tabulka 8: Korekce na hmotnostní procenta tuku ve smetaně (pro butyrometr na smetanu o tučnosti 0 - 40 %) .....	28
Tabulka 9: Složení smetany při různé tučnosti .....	31
Tabulka 10: Vzájemné přepočty mezi litry a kg smetany .....	32
Tabulka 11: Máslo mlékárenské .....	33
Tabulka 12: Rozdělení másla podle velikosti vodních kapének .....	38
Tabulka 13: Hodnocení zkráceného fenolového testu .....	48
Tabulka 14: Zhodnocení reduktázové zkoušky.....	48
Tabulka 15: Hodnocení intenzity tvorby biacetylu .....	51
Tabulka 16: Druhy mikroorganismů v kysaných mléčných výrobcích .....	52

Tabulka 17: Vady reologických vlastností kysaných mléčných výrobků.....	53
Tabulka 18: Vady chuti a vůně kysaných mléčných výrobků .....	53
Tabulka 19: Senzorické hodnocení jogurtů.....	54
Tabulka 20: Přepočet titračních kyselostí .....	55
Tabulka 21: Hodnocení kvality sýřeniny .....	66
Tabulka 22: Klasifikace sýrů podle Vyhlášky Ministerstva zemědělství ČR č. 77/2003 Sb. v platném znění .....	68
Tabulka 23: Schéma hodnocení sýrů čerstvých a terminovaných .....	77
Tabulka 24: Schéma hodnocení sýrů z nízkodohřívané sýřeniny .....	78
Tabulka 25: Schéma hodnocení sýrů tvrdých z vysokodohřívané sýřeniny .....	79
Tabulka 26: Schéma hodnocení sýrů měkkých zrajících s plísní na povrchu.....	79
Tabulka 27: Schéma hodnocení sýrů s plísní uvnitř hmoty .....	80
Tabulka 28: Koeficienty „a“ pro jednotlivé typy sýrů a obsah tuku v sušině.....	89
Tabulka 29: Posouzení sensorické kvality čerstvého sýru.....	93
Tabulka 30: Zahuštěné mléčné výrobky neslazené.....	96
Tabulka 31: Zahuštěné mléčné výrobky slazené.....	96
Tabulka 32: Sušené mléčné výrobky .....	100
Tabulka 33: Obnovení sušeného mléka vodou .....	103
Tabulka 34: Fyzikální a chemické požadavky na jakost mražených krémů .....	107
Tabulka 35: Vyhodnocení kvasné zkoušky.....	111

## 1. KONZUMNÍ MLÉKA

Mezi konzumní mléka řadíme mléka o různé tučnosti, pasterovaná nebo trvanlivá ošetřená UHT záhřevem nebo sterilovaná v obalech, popř. mléka různě ochucená a fortifikovaná. Konzumním mlékem rozumíme mléko technologicky ošetřené a upravené na stanovený obsah tuku. Konzumním mlékem čerstvým rozumíme výrobky ošetřené pasterací. Jako trvanlivé mléko označuje výrobek, u kterého bylo zvýšení trvanlivosti dosaženo tepelným záhřevem nad 100 °C.

Tabulka 1: Mléko tekuté

Druh výrobku	Obsah tuku (v hmot. %)	Obsah sušiny tukuprosté (v % hmot.)	Hustota (g/l při 20 °C)	Obsah bílkovin (v % hmot.)
Mléko plnotučné	více než 3,5 včetně	více než 8,5 včetně	více než 1028,0 včetně	více než 2,9 včetně
Mléko plnotučné nebo selské nestandardizované	více než 3,5 včetně			
Mléko částečně odtučněné nebo polotučné	1,5 až 1,8			
Odtučněné mléko	více než 0,5 včetně			

### Pasterizované mléko musí

- být získáno ošetřením zahrnujícím krátkodobý záhřev na teplotu vysokou přinejmenším 71,7 °C po dobu 15 sekund nebo na **jakoukoli rovnocennou kombinaci teploty a času**, za účelem získání rovnocenného účinku,
- vykazovat negativní reakci ve fosfatázovém testu a pozitivní reakci v peroxidázovém testu. Je však povolena výroba pasterizovaného mléka, které vykazuje negativní reakci v peroxidázovém testu, a to za předpokladu, že na etiketě je uvedeno, že se jedná o mléko ošetřené „vysokou pasterizací“.

### UHT mléko musí

- být získáno ze syrového mléka krátkodobým záhřevem na teplotu vysokou přinejmenším 135 °C po dobu nejméně 1 sekundy za účelem zničení všech přítomných mikroorganismů a jejich spór.

## 1.1 Odběr a příprava vzorků

Základním předpokladem správného odběru vzorku je důkladné promíchání celého obsahu úchovných nádrží, tanků, nádob apod., z nichž se mají vzorky odebírat. Před odběrem je nutno míchat obsahem tak dlouho, až na stěně neulpívá žádná tuková vrstva. Vzorek se pak má odebírat v době míchání, kdy je tekutina v pohybu. U výrobků, plněných do prodejních obalů (malospotřebitelských) se odebírá podle jejich velikosti 1 či více neotevřených obalů. Potřebné homogenity vzorku před analýzou se dosahuje mícháním, přeléváním (nesmí však dojít ke zpěnění) a případným mírným zahřátím. Vzorky syrových, konzumních resp. ochucených mlék apod. se temperují na 20 – 25 °C (není-li v metodice předepsáno jinak). Vykazuje-li vzorek těžce dispergovatelnou usazeninu na stěnách (tukovou vrstvu), ohřívá se pomalu na 35 – 40 °C za mírného míchání. Následující ochlazení na 20 °C musí být co nejrychlejší, ale i při chlazení je třeba vzorkem míchat. U ochucených výrobků s přísadami je někdy nutno pro dosažení homogenity vzorek předem rozmixovat.

## 1.2 Smyslové hodnocení

Mléko posuzujeme vytemperované na 20 °C. Sensorické hodnocení se zaměřuje na zjišťování odchylek chuti, vůně, barvy a konzistence. Popisují se zjištěné odchylky a hledají se příčiny vzniku defektu, vady. Požadavky na sensorické vlastnosti syrového mléka jsou shrnuty v ČSN 57 0529.

**Barva:** bílá, popř. smetanově bílá

**Vůně:** čisté mléčná

**Vzhled:** homogenní tekutina bez nečistot, shluků

Vady mléka způsobené mikroorganismy

Nečistá – *Coli aerogenes*, *Alcaligenes faecalis*.

Sladová, karamelová až hořká – *Str. lactis* var. *maltigenes*.

Hořká chuť – *Micrococcus amari*, který vyvolává proteolytické změny bílkovin mléka. Také *Pseudomonas fluorescens* při dlouhém uchovávání mléka při nízkých teplotách a některé kvasinky a plísňe (*Torulopsis*, *Oospora*, *Penicillium*).

Mýdlovitá chuť – mléko uchovávané za chladu kromě hořké také mýdlovitou vyvolanou *Pseudomonas fluorescens*, také dřevitá chuť.

Kovová – i mikrobiální činností.

Spařený, zatuchlý zápach – když se nevychlazené mléko zavře v uzavřené nádobě rozkládají se bílkoviny činností např. *Alcaligenes*, *Escherichia*.

Sliznutí mléka – *Micrococcus freudenreichii*, zdrojem infekce může být i voda používaná na vyplachování nádob na mléko.

Tabulka 2: Vady chuti a vůně mléka

Popis vady	Příčiny vady
Vařivá, karamelová, pražená	Záhřev
Světelná, po slunečním světle	Indukce světlem
Zatuchlá, máselná, hořká, kozí	Lipolýza
Kyselá, hořká, ovocná, sladová, hnilobná, nečistá	Mikrobiální
Papírová, lepenková, dřevitá, kovová, olejovitá, rybinová	Oxidace
Krmivová, plevelná, chlévní	Přenos
Svíravá, hořká, prázdná, cizí, slaná, drsná, křídová	Směs příčin

### 1.3 Průkaz záhřevu mléka

Pasterace, sterilace, resp. UHT ohřev výrobků při vhodné kombinaci teploty a doby zaručuje zdravotní nezávadnost a zvyšuje trvanlivost surovin nebo výrobků. Podle Vyhlášky 203/2003 Sb., O veterinárních požadavcích na mléko a mléčné výrobky musí být pasterizované mléko získáno ošetřením zahrnujícím krátkodobý záhřev na teplotu vysokou přinejmenším 71,7 °C po dobu 15 sekund nebo na jakoukoli rovnocennou kombinaci, anebo pasteračním procesem, používajícím jiné kombinace času a teploty za účelem získání rovnocenného účinku. Kontrola dodržení těchto parametrů je provozně prováděna na základě zjišťování přítomnosti nebo aktivity enzymů, resp. změn ve složení a vlastnostech výrobku. Účinnost pasteračního ošetření by se měla prokazovat negativní reakcí ve fosfatázovém testu. Zkoušky na pasteraci slouží také k průkazu příměsí syrového mléka do mléka pasterovaného.

**Princip zjišťování zahřátí mléka:** chemický průkaz je založen na zjištění stupně rozkladu nativních enzymů buď peroxidázy nebo fosfatázy. Tyto enzymy se při zahřátí na určitou teplotu ničí v závislosti na čase.

#### 1.3.1 Záhřev na teploty pod 80 °C

**Princip:** enzym fosfatáza odštěpuje z fenylesteru fosforečné kyseliny fenol, jehož přítomnost se zjišťuje barevnou reakcí. Používá se pro kontrolu provedení záhřevu mléka na teploty 71 až 75 °C krátkodobě nebo 62 až 65 °C po dobu 30 minut. Podle stupně rozrušení nativního enzymu fosfatázy se usuzuje na výši záhřevu mléka či příměsí syrového mléka k mléku tepelně

ošetřenému. Tyto metody jsou schopné detekovat maximálně 0,1 % syrového mléka v pasterovaném produktu.

### 1.3.1.1 Metoda s dinatriumfenylfosfátem

#### Zkušební pomůcky a chemikálie:

- vodní lázeň na 37 °C,
- dinatriumfenylfosfát ( $\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Roztok dinatriumfenylfosfátu je nutno připravovat denně čerstvý. Příprava: 0,110 g dinatriumfenylfosfátu se rozpustí v 50 ml roztoku o pH 9,6 (9,2g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 13,6 g  $\text{NaHCO}_3$  se rozpustí ve vodě a doplní na 1 litr; konzervuje se několika kapkami chloroformu),
- dibromchinonchlorimid, roztok. Příprava:  $40 \pm 1$  mg 2,6 dibromchinonchlorimidu se rozpustí v 10 ml ethanolu. Možno jej až 1 měsíc skladovat, nesmí se však zbarvit,
- fenol, zásobní roztok. Příprava:  $10 \pm 1$  mg fenolu se rozpustí ve 100 ml dest. vody. Ke slepé zkoušce se používá zředěného roztoku: 1 ml zásobního roztoku se doplní destilovanou vodou na 50 ml.

**Postup zkoušky:** ze zkoušeného mléka se odměří do 2 zkumavek po 1 ml. Obsah jedné z nich (kontrolní) se zahřeje nad 85 °C a ochladí. Do obou zkumavek se přidá po 2 kapkách chloroformu a do kontrolní ještě 5 ml zředěného fenolového roztoku a 5 ml roztoku dinatriumfenylfosfátu. Do druhé zkumavky s mlékem se přidá 5 ml vody a 5 ml roztoku dinatriumfenylfosfátu. Potom se obě zkumavky s mlékem vloží do termostatu vyhřátého na 37 °C. Po jedné hodině se oba vzorky vychladí na 18 °C a ke každé se přidá po 4 kapkách dibromchinonchlorimidu. Po 10 minutách se zkoušený vzorek porovná se vzorkem kontrolním a podle intenzity modrého zbarvení vzniklého indofenolu se usuzuje na množství fenolu, uvolněného přítomnou fosfatázou.

Tabulka 3: Vyjádření výsledku zkoušky s dinatriumfenylfosfátem

Zabarvení	Hodnocení
sytě modré	syrové mléko
šedomodré	mléko zahřáté pod 71 °C krátkodobě nebo pod 62 °C dlouhodobě, příměs syrového mléka
růžovohnědé nebo barva kontrolního vzorku (nad 85 °C) dlouhodobě	mléko zahřáté nad 71 °C krátkodobě nebo nad 62 °C

### **Poznámky:**

- 1) Metoda je průkazná po tepelném ošetření mléka na pasterační teplotu. Při delším uchovávání mléka však může dojít k regeneraci fosfatázy vlivem mikrobiální činnosti. Za průkaznou se považuje zkouška v den, kdy bylo mléko tepelně ošetřeno a uchováno při teplotě do 10 °C. Zkouška prokazuje též příměs minimálně 1 % nepasterovaného mléka v mléce pasterovaném.
- 2) Fosfatázová činidla jsou citlivá na stopy fenolu, proto je nutné při pokusu dodržet úzkostlivou čistotu. Stopy fenolu mohou být zaneseny z nečisté pipety, gumové zátky, umělé hmoty nebo potu a ovzduší. Rušivě působí i sluneční světlo.
- 3) Chemikálie i roztoky musí být uchovávány v suchu a chladu a musí být chráněny před světlem.

### **1.3.1.2 Metoda Fluorophos**

Kromě předchozích, zhruba 70 let starých, kolorimetrických testů schopných rozlišit výsledky „ano“ a „ne“, je dnes používána metoda označovaná jako Fluorophos, která je založena na stejném chemickém mechanismu jako historické metody, ovšem uvolněné komponenty měří fluorescenčně, nikoli kolorimetricky. Fluorophos je testem kvantitativním. Je schopen změřit příměs až 0,003 % syrového mléka (30x citlivější oproti historickým testům). Přirozená hranice alkalické fosfatázy (ALP) v syrovém kravském mléce je okolo 500,000 mU/l (jednotky, ve kterých měří Fluorophos). V průběhu pasterace je ALP inaktivována a pasterované mléko vykazující hodnoty vyšší než 350 mU/l (limit v EU) je považováno za nedostatečně tepelně ošetřené. Ovšem už u hodnot přesahujících 100 mU/l musí následovat prověření možných příčin a nápravná opatření. Běžné jsou naměřené hodnoty APL mezi 20 – 30 mU/l.

### **1.3.2 Záhřev na teploty nad 80 °C**

**Princip:** enzym peroxidáza odštěpuje z peroxidu vodíku kyslík, který dává modré zbarvení s p-fenylendiaminem.

**Činidla:** - 1 % roztok peroxidu vodíku,  
- p-fenylediamin, směs s mořským pískem 1+1 (hmotn.).

**Postup zkoušky:** do zkumavky se odpipetuje 5 ml mléka, přidá se na špičku nože směs p-fenylendiaminu s pískem, promíchá, přidají se 1 až 2 kapky 1 % roztoku peroxidu vodíku a znovu promíchá. Přesně za 2 minuty se vyhodnotí vzniklé zbarvení.



Tabulka 4: Vyjádření výsledků zkoušky s p-fenylendiaminem

Zabarvení	Hodnocení
tmavomodré	syrové mléko
šedě modré	zahřátí mléka pod 80 °C nebo příměs syrového mléka
bílé nebo velmi slabě šedé	mléko zahřáté nad 80 °C

**Spolehlivost zkoušky:** metoda je průkazná po tepelném ošetření mléka nad 80 °C. Při delším uchovávání mléka však může dojít k regeneraci peroxidázy vlivem mikrobiální činnosti. Za průkaznou se považuje zkouška v den, kdy mléko bylo tepelně ošetřeno a uchováváno při teplotě pod 10 °C. Prokazuje též příměs nejméně 1 % nepasterovaného mléka v mléce pasterovaném. Mléko nesmí být k rozboru konzervováno.

### 1.3.3 Sterilizace nebo UHT záhřev

**Princip:** proteiny sterilovaného mléka tvoří se síranem amonným nerozpustnou sraženinu, filtrát je zcela čirý. V případě, že se tento filtrát po opakovaném ohřevu zakalí, jedná se o UHT mléko (tzv. Aschaffenburgův test).

**Chemikálie:** - síran amonný – pevný  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

**Postup práce:** k 20 ml mléka se přidají 4 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  a po 1 min. třepání a 4 min stání se přefiltruje přes hustý filtr. 5 ml filtrátu, který musí být čirý, temperujeme 5 min. ve zkumavce ve vroucí vodní lázni a pak se posoudí změny čirosti proti světlu žárovky.

**Hodnocení:** zůstane-li filtrát čirý – negativní test na zákal – je to průkazem konvenční sterilizace (min. 115 °C po dobu 13 minut nebo jiná kombinace teplota/doba). Pokud se filtrát při opakovaném ohřevu zakalil, jedná se o UHT záhřev (min. 135 °C po dobu 1 s nebo jiná kombinace teplota/doba).

**Poznámka:** vzhledem k tomu, že test na zákal podle Aschaffenburga je závislý na denaturaci bílkovin mléčného séra teplem a není vždy schopen bezpečně rozlišit UHT mléko od sterilovaných mlék, zkoušejí se další rozlišovací metody. Pozornost je věnována Maillardově reakci, denaturaci bílkovin mléčného séra (kupř. stanovením procenta jejich denaturace), inaktivaci enzymů, destrukci vitaminů, identifikaci a stanovení látek, vznikajících sdruženými reakcemi, např. stanovení laktulózy apod.

## 1.4 Stanovení obsahu sušiny

### 1.4.1 Referenční metoda

**Princip:** podstatou je sušení do konstantní hmotnosti při  $102 \pm 2$  °C. Za konstantní hmotnost se pokládá úbytek do 0,5 mg (resp. 1 mg) nebo zvýšení proti předchozímu vážení.

**Pomůcky:** váženka s víčkem ( průměr 4 – 8 cm).

**Postup práce:** do předem vysušené a zvážené váženky (s odečtem 0,1 mg) se naváží 3 ml vzorku (u vzorků s nižší sušinou 5 ml), pak se 2 hod. suší při  $102 \pm 2$  °C a po vychlazení v exikátoru zváží. Sušení se opakuje v 1 hod. intervalech do dosažení konstantní hmotnosti.

**Výpočet:** obsah sušiny vypočteme z hmotnosti naváženého vzorku (a) a hmotnosti vysušeného vzorku (b):

$$\text{Sušina (\%)} = \frac{100 \cdot b}{a}$$

**Poznámka:** pro ulehčení sušení možno použít křemičitého písku. (Písek má mít zrnění 180 až 500 mesh, musí být propraný konc. HCl a vodou, vysušený a vyžiháný. Vhodnost písku se ověřuje slepým pokusem s 2 až 3 ml dest. vody). Do váženky se vloží krátká skleněná tyčinka k promíchávání a přidává se 20 až 25 g písku. Vzorek se tyčinkou s pískem dokonale promíchá a toto se opakuje v počátcích sušení několikrát.

### 1.4.2 Technická metoda

**Princip:** je totožný jako u referenční metody. Vzorek se předem vysráží pokapáním ethanolem nebo kyselinou octovou.

**Pomůcky:** misky z hliníkové folie.

**Postup práce:** do hliníkové misky o průměru 6 až 8 cm se odváží podle odhadovaného obsahu sušiny 5 až 10 ml mléka (s odečtem 0,01 g), vzorek se pokape několika kapkami ethanolu nebo kyseliny octové a opatrně se promíchá. Následně se 2 hod. suší při  $102 \pm 2$  °C a po vychlazení v exikátoru zváží. Sušení možno opakovat v 1 hod. intervalech do dosažení konstantní hmotnosti, obvykle je však sušení po dobu 2 hodin dostačující.

**Výpočet:** je totožný jako u referenční metody.

## 1.5 Stanovení obsahu tuku v mléce

### 1.5.1 Acidobutyrometrická (Gerberova) metoda

**Princip:** obsah tuku v mléce je podíl tuku, který se oddělí v butyrometru po rozpuštění fosfolipidického obalu tukových kuliček působením kyseliny sírové (dle Gerbera)

za podmínek metody. Odečtený obsah tuku v g na 100 ml mléka nutno přepočítat na obsah tuku v g na 100 g mléka.

#### **Pomůcky:**

- butyrometr,
- pipeta na mléko, 11 ml,
- poloautomatická byreta na kyselinu sírovou (10 ml  $\pm$  0,2 ml),
- poloautomatická byreta na amylalkohol (1 ml  $\pm$  0,05 ml),
- odstředivka na butyrometry,
- vyhřívací lázeň s možností udržení teploty v rozmezí  $\pm$  2 °C, dostatečně hluboká tak, aby svisle ponořené butyrometry (zátkou dolů) byly zcela ponořeny.

#### **Chemikálie:**

- Gerberova kyselina sírová o hustotě 1,817  $\pm$  0,003 g/cm<sup>3</sup> při 20 °C (90 – 91 %), bezbarvá, maximálně světle nahnědlá, při slepém pokusu nesmí oddělovat látky tukové povahy;
- amylalkohol o hustotě 0,808 až 0,818 g/cm<sup>3</sup> při 20 °C, bezvodý, prostý furfuralu, sekundárního a terciárního amylalkoholu. Nesmí oddělovat látky tukové povahy ani při slepém pokusu s vodou za 24 hod.

**Postup zkoušky:** do butyrometru se odměří poloautomatickou byretou 10 ml kyseliny sírové (Gerberovy) a mléčnou pipetou se přidává po stěně 11 ml mléka tak opatrně, aby se obě kapaliny nesmísily. Pipeta se drží svisle pod úhlem 45 °C. Špička pipety se přiloží ke stěně butyrometru tam, kde hrdlo přechází v rozšířenou část tak, aby se nesmočilo samotné hrdlo butyrometru. Jakmile mléko z pipety vyteklo, počká se asi 3 sekundy. Pipeta se od stěny odtrhne a zbytek mléka ve špičce pipety se nevyfukuje. Nakonec se opatrně přidá 1 ml amylalkoholu, butyrometr se uzavře pryžovou zátkou a obsah butyrometru se prudce protřepe, až jsou veškeré bílkoviny mléka rozpuštěny a nezůstávají v butyrometru žádné bílé částičky. Potom se obsah butyrometru dobře promísí převrácením butyrometru a posunutím zátky se upraví stav v butyrometru tak, aby hladina sahala až k nejvyššímu dílku stupnice, případně i několik dílků nad poslední rysku. Tím se zajistí, že po odečtení a vytemperování bude celý sloupec tuku v rozmezí stupnice a zamezí se chybám, které mohou vzniknout, je-li tukový sloupec po odstředění příliš posunován. Po protřepání butyrometru se ještě za horka vkládá do odstředivky (zátkou dolů) a odstředuje při 1100 otáčkách za minutu. Butyrometry nutno rozložit v odstředivce tak, aby zatížení odstředivky bylo rovnoměrné. Jestliže klesne teplota během odstředování u butyrometrů pod 65 °C, je nutno butyrometry opět vložit do vodní lázně a zahřát na 65 až 68 °C, přičemž hladina vody musí dosahovat až nad horní okraj tukového

sloupce, aby veškerý tuk byl rovnoměrně rozehtříván na předepsanou teplotu. Butyrometry se vyhřívají po dobu 3 až 5 minut a poté se odečte obsah tuku. Spodní konec tukového sloupce se mírným pohybem zátky posune tak, aby se kryl s nejbližší ryskou, která označuje celé procento tuku a odečte se nejnižší bod menisku tukového sloupce. Při odečítání musí mít tuk opět teplotu  $65 \pm 2$  °C. Butyrometr se při odečítání drží ve svislé poloze a meniskus, kde se tuk odečítá, musí být ve výši očí. Odečítá se s přesností poloviny nejmenšího dílku stupnice butyrometru a výsledek se zaokrouhlí na dvě desetinná místa. V případě, že dojde při posouvání tukového sloupce k jeho porušení rozstříknutím nebo odtržením kapek tuku, je nutno butyrometr opět vyhřát a znovu odstředit, aby došlo ke spojení tuku.

**Výpočet:** obsah tuku v g na 100 ml mléka (x) se vypočte podle vztahu

$$x = b - a$$

a - procento objemové, které odpovídá dolní hladině tukového sloupce butyrometru,  
b - procento objemové, které odpovídá spodnímu menisku horní hladiny tukového sloupce butyrometru.

Spolehlivost zkoušky: přesnost – 0,05 %, shodnost – 0,1 %.

#### **Poznámky:**

1. U mléka s obsahem tuku pod 1 % se použije precizních butyrometrů, které mají stupnici škály dělenou po 0,01 %. Pracovní postup zůstává nezměněn, avšak podle butyrometru se odpipetuje jednoduché nebo dvojnásobné množství mléka a výsledky se odečítají přímo na škále butyrometru. Metoda má charakter orientační. Rozdíl mezi výsledky souběžných stanovení nemá být vyšší než 0,01 %.
2. U mléka homogenizovaného se po odečtení obsahu tuku butyrometr opět zahřívá ve vodní lázni 3 až 5 minut a znovu odstředí. Odstředování se opakuje tak dlouho, až se obsah tuku nezvyšuje, nejvýše však čtyřikrát. Jestliže stoupne obsah tuku ještě mezi třetím a čtvrtým odstředěním, je nutno rozbor opakovat. Platí nejvyšší zjištěná hodnota.
3. Mléko, které je sražené nebo nakyslé, se ztekutí přidávkem 10 % amoniaku v poměru 10 : 1 (obj.) a směs se důkladně promíchá. Dále se postupuje jako u mléka sladkého. Výsledek se násobí 1,1. Výsledek je pouze orientační.

4. U vzorků, které byly silněji konzervovány formaldehydem nebo dvojchromanem draselným, se bílkoviny těžko v kyselině sírové rozpouštějí a obsah butyrometru se musí důkladně protřepat za stálého přihřívání ve vodní lázni až do úplného rozpuštění, kdy již nejsou zřetelné žádné bílé částičky. Právě u vzorků delší dobu skladovaných je rozpuštění bílkovin obtížnější, dochází k vytvoření bílých částiček (shluků).

5. Obsah tuku stanovený acidobutyrometrickou metodou pomocí mléčné pipety na 11 ml mléka je nutno přepočítat na obsah tuku v g ve 100 g mléka (y). Původní hodnota je v g tuku na 100 ml mléka (x), tj. obsah tuku ve 103 g mléka.

$$y = \frac{x + 0,04}{1,04}$$

Místo výpočtu možno použít korekční tabulky na přepočet (tab. 5).

6. Pomocí acidobutyrometrické metody lze stanovit obsah tuku i v jiných mléčných výrobcích. Podle obsahu tuku je možno použít vždy butyrometru o vhodném rozsahu stupnice a stanovení obsahu tuku ve smetaně a sušeném mléce je kromě speciálního tukoměru nutno použít i modifikovaného postupu stanovení

butyrometr na mléko dle ČSN 25 7631	rozsah 0 – 4,0 obj. %
butyrometr na mléko dle ČSN 70 6677	rozsah 0 – 6,0 obj. %
butyrometr na mléko dle ČSN 70 6677	rozsah 0 – 7,0 obj. %
butyrometr na smetanu dle ČSN 70 6684	rozsah 0 – 20,0 obj. %
butyrometr na sušené mléko dle ČSN 25 7632	rozsah 0 – 35,0 obj. %

7. Je možné použít speciální kalibrovanou pipetu o objemu 10,75 ml. Odečtený výsledek na butyrometru se pak vyjadřuje přímo v hmotnostních procentech (g tuku na 100 g mléka) a není již nutné provádět převod z objemových procent.

Tabulka 5: Korekce na hmotnostní procenta při použití 11 ml pipety na mléko

Čtení na butyrometru v %	Oprava na hmotnostní v %	Čtení na butyrometru v %	Oprava na hmotnostní v %
0,11 – 0,36	+0,03	3,74 – 3,99	- 0,11
0,37 – 0,61	+0,02	4,00 – 4,25	- 0,12
0,62 – 0,87	+0,01	4,26 – 4,51	- 0,13
0,88 – 1,13	0,0	4,52 – 4,77	- 0,14
1,14 – 1,39	- 0,01	4,78 – 5,03	- 0,15
1,40 – 1,65	- 0,02	5,04 – 5,29	- 0,16
1,66 – 1,91	- 0,03	5,30 – 5,55	- 0,17
1,92 – 2,17	- 0,04	5,56 – 5,81	- 0,18
2,18 – 2,43	- 0,05	5,82 – 6,07	- 0,19
2,44 – 2,69	- 0,06	6,08 – 6,33	- 0,20
2,70 – 2,95	- 0,07	6,34 – 6,59	- 0,21
2,96 – 3,21	- 0,08	6,60 – 6,85	- 0,22
3,22 – 3,47	- 0,09	6,85 – 7,11	- 0,23
3,48 – 3,73	- 0,10		

### 1.5.2 Stanovení tučnosti odstředěného mléka

**Princip:** stanovení je obdobné jako u plnotučného mléka (viz 1.5.1.). Vzhledem k nízkému obsahu tuku se však používá speciálních tukoměrů, u nichž je stupnice dělena přesněji (0,02 až 0,01 %) a odměřuje se dvojnásobné množství všech roztoků.

**Pomůcky:** kromě speciálních tukoměrů totožné jako u mléka.

**Postup práce:** do speciálního tukoměru se odměří 20 ml kyseliny sírové podle Gerbera, 21,5 ml mléka a 1 ml amylalkoholu. Na rozdíl od mléka se tukoměry po odstředění opakovaně ohřívají při 65 °C po dobu 5 minut a znovu se odstředí 5 minut a opět temperuje na uvedenou teplotu. Při odečítání je směrodatný horní okraj tukového menisku.

**Vyhodnocení výsledků:** rozdíl dvou souběžných výsledků nemá být vyšší než 0,01 %, rozdíl dvou laboratoří max. 0,02 %.

## 1.6 Stanovení homogenizačního efektu

### 1.6.1 Měření tučnosti vrstev

**Princip:** měří se tučnost vyvstálé smetanové vrstvy mléka ve válcích po skladování v chladničce za podmínek metody.

**Postup práce:** do válce na 100 ml o průměru 3 cm s dolním vypustním kohoutem a s dělením od 15 ml do výše 90 ml (tj. 6x15) se nalije 90 ml vzorku o známé (změřené) tučnosti. Válec s mlékem se vloží do chladničky na 24 nebo 48 hodin. Kohoutem se pak odpustí vzorek až na horní vrstvu, která se pak ve válci důkladně protřepe s případným nahřátím tak, aby se veškerý ulpěný tuk spojil s mlékem. Stanoví se obsah tuku ( $t_1$ ) stejnou metodou jako u neskladovaného vzorku ( $t_0$ ).

$$\text{Homogenizační efekt (\%)} = \frac{t_0 \cdot 100}{t_1}$$

### 1.6.2 Měření velikosti tukových kuliček

**Princip:** po přidavku barviva rozpustného v tucích a zředění vzorku se měří mikroskopicky, za použití okulárového měřítka, velikost tukových kuliček.

**Činidla:** - Sudan III, roztok 0,3 % ve směsi stejných dílů ethanolu a glycerinu,  
- želatina, 2 % roztok.

#### **Příprava: a) ve vzorcích zředěných vodou**

Do 100 ml odměrné baňky se odměří 5 ml dobře promíchaného vzorku mléka a doplní destilovanou vodou do 100 ml. Po promíchání se smíchá na podložním sklíčku kapka zředěného vzorku s kapkou roztoku Sudanu III, nechá 10 až 15 minut, přikryje krycím sklíčkem a mikroskopuje.

#### **b) po fixaci v roztoku želatiny**

K 10 ml želatiny teplé 20 – 25 °C se přidá 0,5 ml vzorku a 0,25 ml roztoku Sudanu III. Po promíchání se směs nanese na podložní sklíčko a po ztuhnutí mikroskopuje.

**Postup práce:** mikroskopuje se za použití okulárového měřítka. Velikost tukových kuliček se měří v různých polích a zaznamená se i celkový počet změřených tukových kuliček (100 – 500).

**Hodnocení:** výsledek se vyjádří buď jako četnost v jednotlivých velikostních intervalech nebo jako střední průměr.

Pro homogenizaci mléka s obsahem tuku 2 až 4 % se za vynikající homogenizační efekt považuje velikost tukových kuliček v rozmezí 0,4 - 0,9  $\mu\text{m}$ , dobrý 0,9 - 1,0  $\mu\text{m}$ , uspokojivý pro velikost do 1,0 - 1,1  $\mu\text{m}$  a špatný pro velikost v rozmezí 1,1 - 1,4  $\mu\text{m}$ .

**Poznámka:** pro nižší, resp. vyšší obsah tuku v mléce je nutno úměrně použít větší, resp. menší množství původního vzorku.

## 1.7 Stanovení alkoholové stability

**Princip:** alkoholová stabilita je dána minimální procentickou koncentrací ethanolu, který po přidavku k mléku způsobí jeho koagulaci. Mléko, koagulující při nižší koncentraci ethanolu, je méně stabilní i při záhřevu. Vyjadřuje se jako alkoholový test nebo alkoholové číslo.

### 1.7.1 Alkoholový test

**Činidla:** ethanol 96 %, denaturovaný 2 % lék. benzínu, zředíme destilovanou vodou na požadované koncentrace (65, 70, 75 a 80 obj. %). Před použitím nutno roztoky zneutralizovat roztokem NaOH do slabě růžového zbarvení na fenolftalein.

**Postup práce:** do zkumavek odměříme 1 ml zkoušeného mléka a přidáme po 1 ml zředěného ethanolu. Vznik sraženiny hodnotíme ihned a po 5 min. (V některých případech je prováděn i tzv. dvojitý test, tj. přidají se 2 díly ethanolu.)

Tabulka 6: Hodnocení alkoholového testu

-	nesraženo
+	jemné vločky
++	hrubší vločky
+++	hrubé vločky, případně i vysrážená bílkovina a uvolněná syrovátka

### 1.7.2 Alkoholové číslo

**Princip:** podle řady autorů alkoholový test nepřihlíží k rozdílům mezi mléky o různé stabilitě a je doporučováno stanovení alkoholového čísla, kde mechanismus působení ethanolu je podobnější působení vysoké teploty.

**Činidla:** ethanol, 96 %, denaturovaný 2 % lék. benzínu před použitím zneutralizovaný NaOH na fenolftalein do slabě růžového zbarvení.



**Postup:** do baňky odměříme 5 ml mléka a z byrety přidáváme neutralizovaný 96 % ethanol. Po každém přídávku protřepeme a pozorujeme vznik sraženiny. Při vytvoření jemných vloček zapíšeme spotřebu alkoholu jako tzv. alkoholové číslo.

## 1.8 Stanovení vápníku a hořčíku

### Chemikálie:

- Chelaton III, odměrný roztok  $c = 0,01 \text{ mol.l}^{-1}$  (přesně 3,7225 g Chelatonu III rozpustíme v odměrné baňce na 1000 ml a doplníme dest. vodou, nutno faktorovat),
- KOH, roztok  $c = 4 \text{ mol.l}^{-1}$  (odvážíme 224,5 g KOH a rozpustíme v destil. vodě, po ochlazení přelijeme do odměrné baňky na 1000 ml a doplníme destil. vodou po rysku),
- směsný indikátor fluorexon (0,95 g fluorexonu se rozetře s 0,05 g fenolftaleinu a 100 g KCl),
- směsný indikátor eriochromčern (1 g eriochromčerně T nebo PT se rozetře se 100 g KCl),
- amoniakální pufr pH 10 (5,4 NH<sub>4</sub>Cl a 350 ml 25 % amoniaku doplníme v odměrné baňce na 1000 ml).

**Stanovení vápníku:** do titrační baňky odměříme přesně 1 ml zkoušeného vzorku, přidáme malé množství destilované vody (aby nedošlo k vysrážení), přidáme 5 ml roztoku KOH a potom doplníme dest. vodou asi na 50 ml. Přidáme na špičku nože fluorexonu a titrujeme Chelatonem III do vymizení žlutozelené fluorescence – **spotřeba<sub>1</sub>**.

**Stanovení hořčíku a vápníku:** do titrační baňky odměříme přesně 1 ml vzorku, přidáme 2 ml amoniakálního pufru, zředíme dest. vodou na 30 až 50 ml a přidáme na špičku nože eriochromčern do vínově červeného zabarvení. Titrujeme Chelatonem III do světle modrého zbarvení – **spotřeba<sub>2</sub>**.

### Výpočet:

$$\text{obsah Ca (g.l}^{-1}\text{)} = \text{spotřeba}_1 \cdot \text{faktor} \cdot 0,401$$

$$\text{obsah Mg (g.l}^{-1}\text{)} = (\text{spotřeba}_2 - \text{spotřeba}_1) \cdot \text{faktor} \cdot 0,234$$

**Poznámka:** při stanovení v syrovátce musí být syrovátka čirá.

## 1.9 Úprava tučnosti mléka

### a) při vyšší tučnosti – přidavek odstředěného mléka

$$\text{bilanční vzorec} \quad (l_m + l_o) \cdot t_v = l_m \cdot t_m + l_o \cdot t_o$$

- kde:  $l_m$  - litry mléka před úpravou  
 $l_o$  - litry odstředěného mléka, které je nutno přidat  
 $t_m$  - tučnost mléka před úpravou  
 $t_v$  - požadovaná tučnost výsledná  
 $t_o$  - tučnost ředěného mléka

Z upraveného bilančního vzorce vypočteme přídavek odstředěného mléka

$$l_o = l_m \cdot \frac{(t_m - t_v)}{(t_v - t_o)}$$

### Příklad výpočtu:

U 1000 l mléka byla naměřena tučnost 3,70 %. Toto mléko musíme upravit na obsah tuku 3,50 % odstředěným mlékem o tučnosti 0,03 %. Vypočtěte, kolik litrů odstředěného mléka je nutno přidat.

$$l_o = 1000 \cdot \frac{(3,70 - 3,50)}{(3,50 - 0,03)} = 57,6 \text{ litrů}$$

K 1000 l mléka nutno přidat 57,6 litrů odstředěného mléka.

### b) při nižší tučnosti – přídavek smetany

$$\text{bilanční vzorec} \quad (l_u - l_s) \cdot t_m + l_s \cdot t_s = l_u \cdot t_v$$

- kde:  $l_u$  - litry mléka upravovaného  
 $l_s$  - litry smetany, které je nutno přidat  
 $t_m$  - tučnost mléka před úpravou  
 $t_v$  - požadovaná tučnost výsledná  
 $t_s$  - tučnost smetany

Po úpravě vzorce nutno přidat smetany:

$$l_s = l_u \cdot \frac{(t_v - t_m)}{(t_s - t_m)}$$

**Příklad výpočtu:**

Upravte 1000 l mléka o tučnosti 1,90 % na obsah tuku 2 % smetanou o tučnosti 35 %.  
Vypočtete, kolik litrů smetany je nutno přidat.

$$l_s = 1000 \cdot \frac{(2,00 - 1,90)}{(35,00 - 1,90)} = 3,02 \text{ litrů smetany}$$

K úpravě tučnosti je nutno přidat 3 litry smetany.

**Poznámka:** při úpravě tučnosti smetany (zejména „šlehačky“) není vhodné snižovat obsah tuku  
přídavkem odstředěného mléka, ale plnotučného mléka nebo smetany.

## 2. SMETANY

Smetany patří také mezi tekuté mléčné výrobky a většina metod analýz je shodná s analýzami mléka. Proto jsou uvedeny pouze metody jejichž provádění nebo interpretace jsou odlišné proti analýzám mléka. Předpokládá se ovládnutí analýz a hodnocení syrového a pasterovaného mléka s cílem získání znalostí metod, specifických pro hodnocení smetany. Konzumní smetanou rozumíme tekutý mléčný výrobek upravený na obsah tuku nejméně 10 % hmotnostních. Konzumní smetanou čerstvou rozumíme stejně jako u mléka výrobky ošetřené pasterací. Trvanlivá smetana je výrobek, u kterého bylo zvýšení trvanlivosti dosaženo tepelným záhřevem nad 100 °C.

Tabulka 7: Smetany tekuté

Druh výrobku	Obsah mléčného tuku v % hmot.
Smetana	nejméně 10,0
Smetana ke šlehání	nejméně 30,0
Smetana vysokotučná	nejméně 35,0

### 2.1 Odběr a příprava vzorků

Před rozbořením a navažováním k vlastním analýzám se musí vzorek vždy znovu důkladně promíchat několikanásobným přeléváním, které se však musí provádět tak opatrně, aby se smetana nezpěnila. Je-li vzorek smetany zpěněný nebo obsahuje-li vysrážený nebo ztuhlý tuk, zahřeje se pomalu ve vodní lázni na 40 °C, přičemž se zvolna míchá krouživým pohybem. Zahřívá se tak dlouho, až je smetana odpěněná a tuk homogenně rozptýlen. Pak se pomalu ochladí na 20 °C za stálého míchání kroužením. Těsně před každým odměřováním či odvažováním k rozboru je nutné znovu vzorek důkladně promíchat, aby nedošlo k vyvstání tukové vrstvy.

### 2.2 Stanovení obsahu tuku

**Princip:** obsah tuku ve smetaně je podíl tuku stanovený, po rozpuštění bílkovin v kyselině sírové a přidavku amylalkoholu, odstředěním v butyrometru a odečtením na stupnici butyrometru. Vyjadřuje se buď v g na 100 g nebo 100 ml smetany.

#### 2.2.1 Metody výplachová

**Pomůcky:**

- byturometry na smetanu se stupnicí pro 0-20, 0-40 % a 30-55 % tuku,
- pipeta podle Köhlera, vyplachovací na 5 ml,

- pipeta na vodu 5 ml.

**Činidla:** viz čl. 1.5.1.

**Postup práce:** podle předpokládané tučnosti smetany se zvolí příslušný butyrometr. Do butyrometru se odměří 10 ml kyseliny sírové dle Gerbera (viz čl. 1.5.1.). Pipeta na smetanu se vypláchne vodou a zbytek, který zůstal ve špičce se otre. Takto ovlhčenou pipetou se nasaje zkoušený vzorek smetany tak, aby smetana nesahala v nasávací trubici výše než asi 5 mm nad objemovou rysku. Pak se upraví objem při svislé poloze pipety tak, aby horní meniskus splynul s objemovou ryskou. Smetana, která ulpěla zvenčí na špičce pipety, se opatrně otre filtračním papírem. Smetana se vypustí do butyrometru tak, aby se nesmočilo jeho hrdlo. Do pipety na vodu se nasaje 5 ml vody asi 50 °C teplé, špička pipety s vodou se zasune do horního konce smetanové pipety a voda se do ní zvolna vypouští tak, aby veškeré zbytky smetany ulpělé na stěnách se spláchly do butyrometru. Pak se přidá 1 ml amylalkoholu, butyrometr se uzavře pryžovou zátkou a ostře protřepe až do rozpuštění veškerých bílkovin. Další postup je stejný jako u mléka. U butyrometru do 55 % musí být spodní část tukového sloupce vždy na nule. Odečítá se s přesností poloviny nejmenšího dílku stupnice. Výsledek se odečítá v objemových procentech (g ve 100 ml). Přepočet na hmotnostní procenta možno provést podle tabulky 8.

Tabulka 8: Korekce na hmotnostní procenta tuku ve smetaně (pro butyrometr na smetanu o tučnosti 0 - 40 %)

Čtení na butyrometru (%)	Oprava na hmotnostní procenta
12,0 – 26,5	-0,1
26,6 – 32,0	0,0
32,1 – 35,5	+ 0,1
35,6 – 38,5	+ 0,2
38,6 – 40,0	+ 0,3

### 2.2.2 Metoda podle Rödera

**Pomůcky:** - butyrometry na smetanu podle ČSN 25 7633 IIA, IIB se stupnicí pro 0 – 20 %, 0 – 40 % a 30 – 55 % tuku.

**Činidla:** - zředěná kyselina sírová ( 1,550 g.cm<sup>-3</sup>), ostatní viz mléko čl. 1.5.1.

**Postup práce:** pracuje se s butyrometry, které jsou na obou koncích otevřené. 5 g vzorku se navažuje do skleněného pohárku v zátce, s přesností 5 mg. Zátka s pohárkem se zasune do butyrometru a horním otvorem se po stěně přidává 15 – 17 ml zředěné H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a opatrně

se promíchá bez převrácení. Butyrometr se ohřívá ve vodní lázni 80 °C teplé bez uzavření horního otvoru tak dlouho, až se bílkoviny rozpustí (v co nejkratší době). Pak se přidá 1 ml amylalkoholu a tolik zředěné H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, aby sahala asi 5 % pod očekávaný obsah tuku v hrdle. Horní otvor butyrometru se uzavře malou zátkou a dále se postupuje jak je popsáno u mléka. Při odečítání musí být spodní část tukového sloupce na nule. Odečet udává hmotnostní procenta (g ve 100 g).

### 2.3 Stanovení titrační kyselosti

**Princip:** kyselost smetany je udána spotřebou odměrného roztoku NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) při titraci 100 g smetany na indikátor fenolftalein (FFT). Udává se v SH na 100 g smetany. Postup je totožný jako mléka, pouze vzorek smetany (50 g) se navažuje s přesností 0,1 g. Při výrobě másla je vhodnější vyjádřit titrační kyselost smetany mléčného plasmatu ( $K_{p1}$ ), tj. beztukové části smetany. Vypočte se z titrační kyselosti smetany ( $K_s$ ) a obsahu tuku ( $t_s$ ) podle vzorce:

$$K_{p1} = \frac{K_s \cdot 100}{100 - t_s}$$

### 2.4 Důkaz pasterace

**Princip:** po přidání p-fenylendiamin-quajakolu a peroxidu vodíku se nepasterovaná smetana zbarví fialově až modře, kdežto smetana pasterovaná nezmění barvu.

#### Činidla:

- činidlo p-fenylendiamin s quajakolem – 1 g p-fenylendiaminu se rozpustí v 15 ml vody a smísí s roztokem quajakolu (2 g kryst. quajakolu ve 135 ml 95 % ethanolu),
- peroxid vodíku, roztok 1 %.

**Postup práce:** do zkumavky se nalije asi 5 ml smetany, smísí se s 2 kapkami 1 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a pak se přidají 2 kapky činidla. Směs se důkladně protřepe. Posuzuje se během 1 – 2 minut. Syrová smetana se zbarví fialově až výrazně modře, zahřátá na teplotu vyšší než 80 °C zůstává bílá.

### 2.5 Stanovení celkových bílkovin

#### 2.5.1 Formolová titrace

**Princip:** formaldehyd, přidaný k mléku se váže na volné aminoskupiny bílkovin za vzniku methylderivátů. Tím dojde k opětovnému zvýšení titrační kyselosti neutralizovaného mléka, které je za podmínek metody úměrné obsahu bílkovin.

#### Činidla:

- odměrný roztok NaOH ( $c = 0,143$  nebo  $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ ),
- fenolftalein (FFT), lihový roztok 1 %,
- formaldehyd, 40 % zneutralizovaný těsně před použitím louhem na FFT do slabě růžového zbarvení,
- šťavelan draselný, nasycený roztok (40 g do 100 ml),
- síran kobaltnatý, roztok 5 % (12,5 g do 250 ml).

### Provedení:

**Příprava standardního roztoku mléka:** do titrační baňky s 25 ml mléka odměříme 1 ml nasyceného roztoku šťavelanu draselného a 0,5 ml síranu kobaltnatého – barevný standard pro titraci.

- a) **Stanovení s roztokem NaOH ( $c = 0,143 \text{ mol.l}^{-1}$ ):** do titrační baňky se odměří 25 ml mléka, přidá 1 ml roztoku fenolftaleinu a 1 ml roztoku šťavelanu draselného. Po 2 minutách se směs neutralizuje roztokem NaOH ( $c = 0,143 \text{ mol.l}^{-1}$ ) do růžového zbarvení, které má stejnou intenzitu jako standardní roztok. K neutralizovanému vzorku se přidá 5 ml neutrálního formaldehydu a po 2 minutách se opět titruje roztokem NaOH ( $c = 0,143 \text{ mol.l}^{-1}$ ) do barevného tónu srovnávacího roztoku. **Spotřeba roztoku NaOH při druhé titraci odpovídá obsahu bílkovin v mléce. Obsah bílkovin x 0,778 udává orientačně obsah kaseinu.**
- b) **Stanovení s roztokem NaOH ( $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ ):** do titrační baňky se odměří 10 ml mléka, 1 ml 1% FFT, 1 ml šťavelanu a po 2 minutách titruje roztokem NaOH ( $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ ) do zbarvení srovnávacího roztoku. Pak se přidá 5 ml neutralizovaného formaldehydu, zamíchá a po 2 minutách titrujeme znovu do zbarvení jako má standard. **Ze druhé spotřeby se vypočte obsah bílkovin.**

### Výpočet:

$$\text{celkový obsah bílkovin (\%)} = \frac{\text{spotřeba}_2 \cdot \text{faktor}_{\text{NaOH}} \cdot 1,94}{\text{hustota (g/cm}^3\text{)}}$$

Orientačně je možno vypočítat i obsah kaseinu:

$$\text{obsah kaseinu (\%)} = \frac{\text{spotřeba}_2 \cdot \text{faktor}_{\text{NaOH}} \cdot 1,514}{\text{hustota (g/cm}^3\text{)}}$$

**Poznámka:** jedná se rutinní metodu. Obsah bílkovin se může lišit proti Kjeldahlově metodě i o více než 0,2 %, zejména pokud bude v mléce jiné poměrové zastoupení bílkovinných frakcí. Stanovení je také možno provádět pouze u čerstvého mléka s kyselostí max. do 8 SH.

## 2.6 Provozní výpočty

Při odstředování mléka je třeba vypočítat množství smetany, kterou získáme ze zpracovávaného mléka. V závislosti na požadovaném obsahu tuku ve smetaně ( $t_s$ ), tučnosti mléka po odstředění ( $t_o$ ) a tučnosti původního mléka ( $t_m$ ) vypočteme množství smetany ( $x$ ) v litrech z 1000 l mléka podle vzorce:

$$x = \frac{1000 \cdot (t_m - t_o)}{(t_s - t_o)}$$

Pro výrobní přepočty je také důležité znát kromě obsahu tuku ve smetaně i obsah tukuprosté sušiny. Obsah tukuprosté sušiny ve smetaně ( $x$ ) tvoří zhruba 9 % z celkového obsahu vody ve smetaně a lze ji tedy vypočítat za známého obsahu tuku smetany ( $t_s$ ) podle vzorce:

$$x = (100 - t_s) \cdot 0,09$$

Zastoupení jednotlivých složek tukuprosté sušiny pro základní obsahy tuku ve smetaně jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka 9: Složení smetany při různé tučnosti

Složka (%)	Obsah tuku ve smetaně (%)						
	10	15	20	25	30	35	40
Voda	81,8	77,3	72,9	68,5	64,1	59,6	55,3
Sušina	18,2	22,7	27,1	31,5	35,9	40,4	44,7
TPS	8,2	7,7	7,1	6,5	5,9	5,4	4,7
Bílkoviny	3,4	3,2	3,0	2,8	2,6	2,4	2,0
Laktóza	4,2	3,9	3,6	3,3	3,0	2,7	2,4
Popeloviny	0,6	0,6	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3

Pro výrobní přepočty je důležitým kritériem také vztah mezi objemem a hmotností smetany s různým obsahem tuku. Základní údaje jsou uvedeny v následující tabulce.



Tabulka 10: Vzájemné přepočty mezi litry a kg smetany

Obsah tuku ve smetaně (%)	Hmotnost 100 l smetany (kg)	Objem 100 kg smetany (l)
15	101,7	98,30
20	101,2	98,80
25	100,7	99,30
30	100,2	99,80
35	99,7	100,30
40	99,2	100,80

## 2.7 Výroba mascarpone

Mascarpone je čerstvý smetanový krém z kravské smetany s obsahem tuku 70-75 %. Vzhledem k vysokému obsahu laktózy má Mascarpone nasládlou chuť. Používá se zvláště pro přípravu sladkostí, z nichž snad nejslavnější je Tiramisu. Následující recept je na výrobu přibližně 0,45 kg Mascarpone.

**Suroviny:** 1 litr smetany ke šlehání (30 % tuku), 1 lžice bílého vinného octa nebo citrónové šťávy (případně kyselina citrónová).

**Postup výroby:** kovovou misku vložte do většího hrnce, aniž by se dotýkala dna. Nalijte vodu do hrnce tak, aby se mohla miska od ní ohřívat, misku vyndejte a vodu v hrnci přiveďte k varu. Smetanu vlijeme do misky, vložte zpět do hrnce a zahřívejte tak, aby teplota smetany nepřesáhla 85 °C (kontrolujte teploměrem). Opatrně vmíchejte ocet či kyselinu a pokračujte v opatrném míchání dokud se smetana nesrazí. Odstavte hrnc z ohně, zakryjte a nechte sraženinu zpevnit asi 10 min. Připravte si sítko či cedník s velkým kávovým filtrem a nebo na hrnc napněte husté plátno a to tak, že bude trochu prověšené a vše scedíte. Ponechte mascarpone do zchladnutí v chladnější místnosti v cedníku nebo v plátně přikrytém kouskem mikrotenu. Vložte na 24 hodin do chladničky, kde se dokončí odkapání hotového krému. Uchovávejte v chladničce, kde vydrží několik dnů.

### 3. MÁSLA

Máslo se svým složením výrazně odlišuje od ostatních mlékárenských výrobků. Je to mléčný výrobek ze smetany obsahující výhradně mléčný tuk ve formě emulze vody v tuku. Kontinuální fázi tvoří volný tuk, ve kterém jsou jako disperzní fáze přítomny neporušené tukové globule a kapénky podmásli, resp. praci vody, obsahující další složky tukuprosté sušiny, které mohou obsahovat také značné množství mikroorganismů, způsobujících jeho rychlé mikrobiální kažení. Proto je důležité sledovat nejen celkový obsah vody v másle, ale také velikost vodních kapének, obsah netuků a u tuku také jeho kvalitu, a to jak v mléce jako surovině, tak i ve zpracovávané smetaně.

Máslo obsahuje min. 80 % mléčného tuku, ale méně než 90 %, max. 16 % vody, max. 2 % mléčných netuků.

Máslo čerstvé – skladované při teplotě 6 až 8 °C max. 20 dnů od data výroby.

Máslo stolní – skladované až 24 měsíců při teplotě –18 °C a nižší.

Tabulka 11: Máslo mlékárenské

Druh výrobku	Obsah tuku (v % hmot.)	Obsah tukuprosté sušiny (v % hmot.)	Obsah vody (v % hmot.)
Máselný tuk nebo mléčný tuk bezvodý	více než 99,3		méně než 0,5 včetně
Máselný koncentrát	více než 90,0		
Čerstvé máslo, máslo a stolní máslo	90,0 až 80,0	více než 2,0 včetně	méně než 16,0 včetně
Máslo se sníženým obsahem tuku tzv. „máslo třičtvrtětučné“	62,0 až 60,0		
Máslo s nízkým obsahem tuku nebo „máslo nízkotučné“	41,0 až 39,0		

**Poznámka:** vyrábějí se také speciální druhy másla např.

- máslo se smetanovým zákysem – obsahuje min. 75 % mléčného tuku;
- solené máslo – vyrábí se ze sladké smetany, obsahuje méně než 80 % tuku;
- přepuštěné máslo – vyráběné tavením másla při teplotě nad 100 °C;
- sušené máslo – vyráběné sprejovým sušením;
- syrovátkové máslo – máslo vyrobené ze smetany získané odstředěním syrovátky;
- ochucené máslo (kakaem, medem, čokoládou, bylinkami apod.).

### 3.1 Odběr a příprava vzorků

Ze spotřebitelského balení se odebírá takový počet kusů, aby celková hmotnost byla nejméně 150 g. U většího balení se použije nože nebo ocelové struny k odříznutí vzorku z bloku. Z kontejnerů nebo většího balení se odebere vzorek vrtem diagonálně tak, aby nebozez procházel středem a nepronikl spodním povrchem. Odebrané vrty se vkládají do vzorkovnic, které mají být naplněny více než z poloviny, ale méně než ze tří čtvrtin, aby bylo umožněno dokonalé promíchání při přípravě vzorku. Vrty mohou být případně baleny do Al-fólie a vkládány do vzorkovnic větších rozměrů. Vzorkovnice by neměly propouštět světlo, teplota během přepravy by měla být 0 až 4 °C. Vzorky másla se nekonzervují, uchovávají se při teplotě 0 až 5 °C. S rozbořem by se mělo započít do 24 h. Pokud se vzorky zmrazí, mohou se některé analýzy provádět i za delší dobu. Před vlastním rozbořem se vzorky zahřejí na 35 °C, dobře rozmíchají do homogenní konzistence. Oddělí se cca 0,5 cm povrchové vrstvy vzorku. Obsahuje-li máslo volnou vodu, nebo je-li vzorek nestejnorodý, oddělí se část vzorku pro chemický rozbor (asi polovina), vpraví do širokohrdlé láhve, uzavře zátkou, roztaví při teplotě max. 40 °C ve vodní lázni, aby právě změkkl a bylo možné jeho promíchání k dosažení homogenního stavu, aniž by došlo k porušení emulze. Za stálého protřepávání a míchání se pak vzorek vychladí ve studené vodě až do úplného ztuhnutí. Z takto připraveného vzorku másla se pak navažuje na jednotlivá stanovení.

### 3.2 Smyslové hodnocení

Máslo se hodnotí při teplotě 14 až 18 °C.

**Barva:** stejnorodá, přirozeně nažloutlá, u stolního másla až žlutá, na řezu matně lesklá.

**Chut' a vůně:** lahodně příjemná, výrazná po sladké nebo kyselé smetaně, čistá, aromatická, jemná, u stolního másla může být ovlivněna dlouhodobým skladováním, ale bez pachutí, u másla se zákysem slabě až výrazně nakyslá.

**Konzistence:** snadno roztíratelná, přiměřeně tuhá, tažná, stejnorodá, celistvá. Voda dobře zahrněná, na řezu se neobjevují kapičky vody nebo podmáslí.

#### 3.2.1 Vady másla

##### Chyby konzistence másla

- Měkká, mazlavá – když nebyla smetana před stloukáním dostatečně vychlazená a stloukala se při vysoké teplotě. Také při vyšším obsahu kyseliny olejové (v létě).

- Tvrdé, krátké, drobné – při příliš nízkých teplotách stloukání, při vysoké obsahu palmitové kyseliny (v zimě).

### Chyby chuti a vůně másla

- Hořká chuť – po znečištěném krmivu nebo mikroorganismech *Str. caseiamari*, kvasinky *Torulopsis*, bakterie s peptonizační schopností.
- Příchut' po krmivu – chuťové látky z krmiva (např. po řepě na podzim), nekvalitní siláž nebo bakterie *E. coli* a *Pseudomonas fluorescens*, plísně *Oospora*.
- Kvasničná – činností kvasinek.
- Žluknutí másla – vznikají aldehydy, ketony, volné mastné kyseliny a jejich estery.
- Chuť po starém másle – výskyt za horkého počasí vyvolaná špatnou kvalitou smetany, také dlouhým skladováním másla při kolísání teplot.
- Rybí příchut' – oxidací tuku a lecitinu za přítomnosti kyseliny mléčné a těžkých kovů.
- Mýdlovitá – tvorbou mýdla z máslového tuku působením alkálií.
- Lojovatění – nastává oxidací kyseliny olejové na kyselinu dioxiolejevou, která má lojovitou chuť. Lojovatění se projevuje charakteristickou nepříjemnou chutí a zápachem po starém loji a bílou barvou. Rychle postupuje za světla, urychluje ho již nepatrné množství kovů a jejich solí (Cu, Fe, Mn).

Podle bývalé ČSN 58 0310 se hodnotilo máslo 100 bodovým systémem:

Chuť 50 bodů, vůně 15 bodů, vypracování másla 15 bodů, konzistence 10 bodů, vnější vzhled barva a balení 10 bodů.

Výběrové – min. 95 bodů, z toho 45 za chuť

I. jakost – min. 85 bodů, z toho 40 za chuť

II. jakost – min. 55 bodů, z toho 30 za chuť

## 3.3 Stanovení obsahu vody

### 3.3.1 Technickou metodou

**Princip:** zkoušený vzorek másla se zahřívá v kelímku až do vypaření vody a vzniku žlutohnědého zabarvení sedliny (bílkoviny).

**Pomůcky:** - speciální máslařské váhy,

- hliníkový kelímeček a kelímkové kleště.

**Pracovní postup:** na máslařských vahách se odváží chladný, suchý kelímek a naváží se 10 g vzorku. Potom se nad kahanem nebo na vařiči opatrně vypuzuje voda ze vzorku tak dlouho, až roztavené máslo přestane šumět a sedlina na dně mírně zhnědne. Kelímek se nechá vychladnout a zváží se.

**Výsledek:** a) Při používání máslařských vah udává poloha jezdce na vahadle přímo váhová procenta vody ve vzorku.

b) Při použití technických vah se procentické množství vody ve vzorku vypočte tím, že se stonásobný úbytek na váze dělí navážkou:

$$\% \text{ vody v másle} = 100 \cdot \frac{a - b}{\text{navážka v gramech}}$$

a – kelímek se vzorkem

b – kelímek se vzorkem po vysušení

Rozdíl mezi dvěma stanoveními nemá být větší než 0,2 %.

### 3.3.2 Stanovení obsahu vody přesnou metodou

**Princip:** vzorek se suší při  $102 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$  a vážením se zjistí úbytek hmotnosti.

**Postup:** váženka se suší při  $102 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$  1 hodinu. Po vychladnutí v exikátoru se zváží s přesností na 0,1 mg. Do misky se naváží 2 – 6 g vzorku s přesností na 0,1 mg. Váženka se znovu suší 1 hod a dále vždy po 30 min., přičemž se vždy ochladí a zváží dokud se nedosáhne konstantní hmotnosti (rozdíl hmotnosti nepřesahuje 0,5 mg).

**Výpočet:** použije se stejný vzorec jako u stanovení obsahu vody technickou metodou:

$$\% \text{ vody v másle} = \text{úbytek v gramech} \cdot 100 / \text{navážka v gramech}$$

### 3.4 Stanovení vody, netuků a tuku z jedné navážky

#### a) Stanovení vody

Do předem vysušené a zvážené váženky (průměr min. 5 cm, výška min. 2,5 cm) se naváží 2 až 6 g vzorku s přesností na 1 mg. Suší se při  $102 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$  po dobu 2 hodin a dále pak v intervalech 30 minut se suší až do konstantní hmotnosti.

$$\% \text{ vody} = \frac{(a - b) \cdot 100}{a}$$

a – navážka vzorku v g

b – hmotnost vzorku po vysušení v g

#### b) Stanovení netuků

Do váženky s vysušeným vzorkem se přidá 10 až 15 ml petroléteri (bod varu 30 až 60 °C) nebo hexanu k rozpuštění tuku. Předem se vysuší kelímek s porézním dnem (póry 16 až 40 μm) a zváží. Kelímek se umístí na odsávačku a opatrně se do něj převede minimálně pětinásobným promýváním petroléteri veškerý podíl z váženky. Váženka i porézní kelímek se dále promývají min. 25 ml rozpouštědla, aby se odstranil veškerý tuk. Po usušení na vzduchu se porézní kelímek suší při 102 ± 2 °C 30 minut do konstantní hmotnosti (pokud nelze z váženky odstranit veškeré netuky, je nutno i váženku vysušit a zjištěný obsah netuků připočítat).

$$\% \text{ netuků} = \frac{c \cdot 100}{a}$$

a - navážka vzorku v g

c - hmotnost netuků po vysušení v g

**Poznámka:** netuky možno po rozpuštění tuků zachytit i na vysušený a předem zvážený filtrační papír. Promývání rozpouštědlem je nutno provádět tak dlouho, až jsou odstraněny poslední zbytky tuku – kapka filtrátu nesmí zanechat na klíženém bílém papíře mastnou skvrnu po odpaření rozpouštědla. Filtrační papír po odpaření rozpouštědla na vzduchu se vloží do skleněné zvážené vysoušečky a vysuší do konstantní váhy při 102 ± 2 °C. Zároveň se po odpaření zbytků rozpouštědla na vzduchu vysuší i váženka, ve které se máslo sušilo a rozpouštělo. Množství netuků se sečte, výpočet je pak stejný jako v předchozím vzorci. Rozdíl dvou souběžných stanovení nemá být větší než 0,05 %.

#### c) Obsah tuku v másle

Vypočte se z rozdílu obsahu vody a netuků podle vzorce

$$\% \text{ tuku} = 100 - (\% \text{ vody} + \% \text{ netuků})$$

### 3.5 Stanovení obsahu tuku

**Princip:** po rozpuštění netukových částí másla koncentrovanou kyselinou sírovou, přidavku amylalkoholu a odstředění se zjistí obsah tuku.

**Činidla:** totožná jako u stanovení tuku v mléce.

**Pomůcky:** tukoměry na máslo (se stupnicí od 70 do 90 %, příp. do 100 % - stupnice má kruhový průřez).

**Postup práce:** do skleněné váženky, umístěné na gumové zátce, se naváží 5 g másla s přesností 0,01 g a vpraví se do tukoměru. Horním otvorem se přidá 10 ml Gerberovy kys. sírové ( $1,817 \text{ g.cm}^{-3}$ ), 5 ml dest. vody, 1 ml amylalkoholu, horní otvor se uzavře zátkou a tukoměr se zahřívá ve vodní lázni  $65 \text{ }^\circ\text{C}$  teplé za protřepávání do roztavení másla. Pak se přidá horním otvorem tolik kyseliny sírové až je horní meniskus u čísla 90. Po promíchání převrácením, temperování při  $65 \text{ }^\circ\text{C}$  a odstředění se tukoměr ještě jednou temperuje před odečítáním obsahu tuku. Obsah tuku lze stanovit s přesností na celá procenta, odhademna polovinu procenta.

**Poznámka:** z obsahu tuku a vody v másle lze také dopočítat obsah netuků.

### 3.6 Stanovení velikosti vodních kapének

**Princip:** podle metody upravený vzorek másla se mikroskopuje a v zorném poli se proměřuje velikost vodních kapének.

**Pomůcky:** mikroskop, okulár s dělením, podložní a krycí sklíčka, methylenová modř prášková.

**Postup práce:** vzorek másla zabalený v Al-fólii (k zabránění odparu vody) se vytemperuje na pokojovou teplotu. Na podložní sklíčko se nanese asi  $1 \text{ cm}^3$  másla, lehce posype jemně rozdrčenou methylenovou modří, přikryje krycím sklem a ihned zatíží po dobu 1 minuty 100 g závažím. Tlakem vystoupí vodní kapénky, které mají zřetelný kulovitý tvar a modrou barvu. Tuk lze pozorovat jako svítivá jezírka u nichž nelze zaostřit žádný okraj. Vzduchové bubliny jsou potaženy silným černým okrajem. Na základě měření velikosti vodních kapének v pěti zorných polích se rozděluje máslo do následujících tříd:

Tabulka 12: Rozdělení másla podle velikosti vodních kapének

Třída	Velikost vodních kapének
I.	dobré rozdělení vody – všechny kapénky mají velikost menší než $10 \text{ }\mu\text{m}$
II.	dostatečné rozdělení vody – většina kapének je pod $10 \text{ }\mu\text{m}$ , jednotlivé kapénky větší (do $20 \text{ }\mu\text{m}$ )
III.	špatné rozdělení vody – převážná část kapének větší než $10 \text{ }\mu\text{m}$ a u jednotlivých kapének i $30$ a více $\mu\text{m}$

**Poznámka:** vzorek by se neměl před měřením stlačovat (např. při odběru) a také při přípravě vzorku se mohou jednotlivé kapénky spojovat.

### 3.7 Stanovení peroxidů

#### 3.7.1 Důkaz peroxidů podle Bulíře

**Princip:** peroxidicky vázaný kyslík uvolňuje za podmínek metody z jodidu draselného jód.

**Činidla:** - jodid draselný, roztok 20 % v 96 % ethanolu,  
- škrob, roztok 1 %, čerstvě připravený.

**Postup práce:** asi 1 ml tuku se protřepe ve zkumavce s 2 ml roztoku KJ po 1 minutě se přidá 15 ml vody. Po protřepání se přidá 1 ml roztoku škrobu. V přítomnosti peroxidů vznikne modrofialové zabarvení od uvolněného jódu.

#### 3.7.2 Stanovení obsahu peroxidů

**Princip:** množství peroxidicky vázaného kyslíku se vyjadřuje běžně počtem ml roztoku thiosíranu sodného na 1000 g zkoušeného tuku nebo v  $\mu\text{g}$  peroxidicky vázaného kyslíku na g tuku.

**Činidla:** - kyselina octová,  
- chloroform,  
- jodid draselný, čerstvě připravený nasycený roztok,  
- thiosíran sodný ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ), odm. roztok  $c = 0,01 \text{ mol.l}^{-1}$ ,  
- škrobový maz, čerstvě připravený roztok 1 %.

**Postup práce:** 5 g tuku se rozpustí ve směsi 25 ml kyseliny octové a 25 ml chloroformu. Přidá se 1 ml nasyceného roztoku KJ a důkladně promíchá. Přesně za 1 min. se přidá 100 ml vody a titruje odměrným roztokem thiosíranu s přídatkem 1 ml škrobového mazu do odbarvení. Škrobový maz se přidává až před koncem titrace. Obdobně se provede slepý pokus.

**Výpočet:** množství peroxidů vyjádřené ml odměrného roztoku thiosíranu na kg tuku (x) se vypočte podle vzorce:

$$x = \frac{b \cdot c \cdot 1000}{a}$$

a - navážka tuku v g

b - rozdíl ml  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  při titraci a slepém pokusu

c – koncentrace odm. roztoku  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

**Poznámka:** peroxidové číslo, tj.  $\mu\text{g}$  peroxidicky vázaného kyslíku v 1 g tuku = množství peroxidů  $\cdot 8$ .



### 3.7.3 Důkaz aldehydů

#### 3.7.3.1 Podle Fellenberga

**Princip:** aldehydy, jako rozkladné produkty tuku, reagují se Schiffovým činidlem za vzniku červeného až modrofialového zbarvení.

**Činidla:** - Schiffovo činidlo (příprava: 2 ml 20 % NaHSO<sub>3</sub> a 100 ml 0,1 % vodného roztoku fuchsínu se nechá stát do odbarvení asi 1 hodinu, pak se přidá 1 ml konc. HCl a roztok se uchovává v zabroušené lahvi).

**Postup práce:** přibližně 1 ml tuku se rozpustí v 1 ml petroléru a smísí se s 2 ml Schiffova činidla. Přítomnost aldehydů se po 15 minutách projeví červeným až modrofialovým zbarvením. Současně se dělá slepý pokus.

#### 3.7.3.2 Kreisova zkouška s floroglucinem

**Princip:** epihydrinaldehyd, vznikající oxidací dvojných vazeb mastných kyselin reaguje s floroglucinem za vzniku barevné reakce.

**Činidla:** - floroglucin, roztok 0,1 % v ethyléteru,  
- kyselina chlorovodíková, konc.

**Postup práce:** ve zkumavce se třepou 2 ml tuku se 2 ml konc. HCl cca 1 minutu. Pak se přidá 2 ml 0,1 % floroglucinu, znovu se protřepe a po ustání se pozoruje zbarvení vodné vrstvy. Čerstvý tuk dává zbarvení nažloutlé, přítomnost epihydrinaldehydu se projeví červeným až fialovým zbarvením.

### 3.8 Výpočet výtěžnosti másla

Výtěžnost másla se posuzuje podle množství hotového másla vyrobeného ze 100 kg smetany. V praxi se výtěžnost másla vyjadřuje jako spotřeba tukových jednic (tj.) na výrobu 1 kg másla. Skutečně dosažený výtěžek másla se porovnává s teoretickým výpočtem na podkladě množství a tučnosti zpracovaného mléka. Na výtěžnost másla má vliv obsah tuku v másle, stupeň odsmetanění a ztráty tuku v podmásli, dále též obsah vody v másle. Skutečně získaný výtěžek při výrobě másla se nemá výrazně lišit při správné práci od vypočítané výtěžnosti.

Stupeň odsmetanění (stupeň stloukání) - rozumí se tím procentické množství tuku, které přejde ze smetany do másla.

**Příklad:** Vypočítejte stupeň odsmetanění, jestliže použijeme 19 840 kg smetany o tučnosti 40 %, odpadá 9 982 kg podmásli o tučnosti 0,5 %.

Nejdříve vypočítáme množství tuku ve smetaně v gramech:

19 840 kg smetany obsahuje.....7 936 kg tuku

Odečteme ztráty v podmáslí:

v 9 982 kg podmáslí se ztrácí.....49,91kg tuku

Do másla tedy přešlo.....7 886 kg tuku

Výpočet stupně stloukání:

$$7936 : 7886 = 100 : x$$

$$x = 99,37 \%$$

Stupeň stloukání je 99,37 %.

**Poznámka:** Výpočet výtěžnosti másla můžeme provést podle některého z následujících vzorců:

$$m = 1,18 t$$

$$m = 1,2 (t - 0,21)$$

$$m = 1,155 (t - 0,1)$$

$$m = t + t / 9$$

m - výtěžnost v kg másla ze 100 kg mléka;

t - procentický obsah tuku v mléce.

### 3.9 Výroba másla

Na domácí výrobu másla je potřeba smetana o tučnosti alespoň 31 %, sklenice s těsným víkem, případně šlehací stroj. Sklenice musí být dostatečně velká, přibližně o objemu 1 litr pokud chceme stloukat 250 ml smetany.

**Postup výroby:** do sklenice se vlije smetana ohřátá na teplotu 10 až 12 °C. Poté se začne sklenicí třepat střídavými směry. Po krátké době je vidět vznik pěny. Sklenicí se třepe ještě dalších několik minut až do vzniku máselného zrna (hrudky mléčného tuku o velikosti 4 až 7 mm), které plave v podmáslí. Podmáslí se slije a může se např. zakysat smetanovou kulturou na lahodný kysaný nápoj. Do sklenice s máslovým zrnem se nalije ledová voda a 1-3 x se krátce propere, aby se odstranily zbytky podmáslí. Při více propláchnutích riskujeme, že se z másla vyplaví cenné senzorycké složky mléčné plazmy (bílkoviny a laktóza) a máslo bude mít prázdnou chuť. Šleháním se do máslové hmoty dostávají vzduchové bubliny a je třeba docílit rovnoměrného rozmístění vody v másle a zmenšení kapének vody. Následně po vylití veškeré vody se tedy máslo důkladně prohněte. Tento proces je významný z hlediska

trvanlivosti másla, protože velké kapky vody by byly dobrým zdrojem živin pro bakterie. Procesem hnětení hmotu zpracujeme do jednodlité. Při hnětení se může přidat sůl v množství přibližně ¼ čajové lžičky na 250 g smetany, případně česnek, bylinky, med, marmeláda a další přísady. Je možné postupovat i tak, že použijeme sítko s většími otvory (např. sítko na halušky), kterým vzniklé máslo protlačíme, tím se také stane jednodlitější. Jakmile máslo protlačíme přes sítko, rukama spojíme hmotu dohromady. Takto připravené máslo se vloží do formiček, případně kelímků a uloží do ledničky.



Obrázek 1: Čerstvě vyrobené máslo po vyklopení z formy

### 3.10 Výroba ghee

Název ghee [ghí] pochází z jazyku Sanskrt. Ghee je pročištěné přepuštěné máslo, původně vyráběné z másla buvolího, které se hojně využívá v indické kuchyni. Protože se při přípravě ghee používá vysokých teplot, má výraznou vůni, často popisovanou i jako ořechovou. Ghee se používá místo rostlinných olejů pro smažení.

**Postup výroby:** ve vhodné nádobě rozpustíme máslo, ale nesmíme ho vařit ani škvařit. Lžící sbíráme pěnu, která se pomalu tvoří na hladině. V nádobě zbude zlatohnědé ghee, které scedíme přes hustě tkanou látku. Pročištěné máslo necháme ztuhnout. V lednici vydrží několik měsíců. Po zamražení je ghee možné skladovat beze změny kvality až jeden rok.

## 4. ČISTÉ KULTURY

Fermentované neboli zakysané mléčné výrobky původně vznikaly kvašením přirozenou cestou, tj. působením mikroflóry obsažené v syrovém mléce. Mikroflóra byla typická pro danou oblast. Postupně se zaváděním těchto výrobků do mlékárenských provozoven, se přešlo na používání ušlechtilých mléčných bakterií a kvasinek, které svou činností resp. svými enzymy rozkládají laktózu, mléč. bílkoviny, výjimečně i tuk. Těmito fermentačními procesy vznikají nové látky charakteristické pro daný výrobek – změni se konzistence, chuť, vůně i aroma. V současnosti jsou základem výroby zakysaných mlékárenských výrobků řízené mikrobiologické procesy mléčného kysání, případně i alkoholového kvašení. Z toho důvodu musí mléko svými vlastnostmi a složením tvořit vhodné podmínky pro rozvoj a aktivitu přidávaných **čistých mlékařských kultur (ČMK)**.

### 4.1 Smyslové hodnocení základních kultur

Základní posouzení kvality kultury můžeme provádět jak u matečných kultur, tak i u provozních zákysů smyslově. Kromě typických znaků chuti, vůně a konzistence jsou uvedeny i možné závady.

#### **Smetanová kultura**

**Chuť:** čistá, výrazně aromatická, smetanová, správně kyselá

Závady: - smetanová nevýrazná

- nepatrně aromatická nebo bez aroma
- slabě kyselá (nedokysaná) nebo silně překysaná
- cizí příchut' – jogurtová, zatuchlá, plesnivá, kvasničná, jiná cizí příchut'

**Vůně:** čistá, výrazně aromatická

Závady: - slabé nebo žádné aroma, cizí pach

**Film:** homogenní, kompaktní, ulpívá 1 minutu na stěnách

Závady: - film se místy trhá ihned po promíchání

- film se trhá ihned po rozmíchání
- na stěně vůbec neulpívá

#### **Jogurtová kultura**

**Chuť:** typická, čistá, výrazně aromatická, jogurtová, správně kyselá

Závady: - slabě aromatická nebo bez aroma

- slabě (nedokysaná) nebo silně kyselá (překysaná)

- smetanová, peptonizace, zatuchlost, případně jiná cizí chuť

**Vůně:** čistá, aromatická

Závady: - slabě aromatická nebo zcela bez aroma

- cizí pach

**Film:** typický, jogurtový

Závady: - smetanový

- řídký, mléčný, silně se ihned trhá

- neulpívá vůbec na stěně

### **Acidofilní kultura**

**Chuť:** typická, výrazně kyselá

Závady: - nevýrazná

- cizí chuť

**Vůně:** typická, silně kyselá

Závady: - nevýrazná

- cizí

**Film:** mírně se trhá

### **Kefírová kultura**

**Chuť:** slabě ořechová až tvarohově natrpklá, slabě kvasničná, příjemně dráždivá

Závady: - nevýrazná

- příliš kyselá

- silně kvasničná, štiplavá

- trpká, hořká, sýrovitá, popř. jiná cizí chuť

**Vůně:** slabě kvasničná, typická

Závady: - silně kvasničná, štiplavá

- ostře kyselá

## **4.2 Charakteristika kultur dle kultivačních zkoušek**

Kultivační zkouškou, kterou můžeme provádět i v provozní laboratoři, v podstatě zjišťujeme základní vlastnosti kultury, které jsou pro praxi nejdůležitější. Zkouškou, která je poměrně rychlá, zjišťujeme rychlost srážení, charakteristiku sraženiny, dosaženou kyselost, chuťové vlastnosti, příp. i obsah aromatických látek apod.

**Pracovní postup:** v baňkách vysterilujeme 100 ml mléka, vychladíme na kultivační teplotu, zaočkujeme hodnocenou kulturou a inkubujeme za optimálních podmínek do sražení. Po sražení, kdy se vytvoří nepatrný vlasový proužek syrovátky mezi mlékem a vyvstátou smetanou, se kultura vychladí na 10 °C a provedou se základní zkoušky a smyslové hodnocení. Podmínky kultivačních zkoušek a výsledky analýz pro vybrané kultury jsou uvedeny v následujícím textu.

### **Smetanová kultura**

Charakteristika kultury po kultivaci 16 až 20 hodin při 21 až 23 °C (mléko zaočkováno 1 % kultury):

- a) čistě mléčně kyselá a aromatická chuť i vůně
- b) hustá konzistence
- c) titrační kyselost 36 až 42 SH
- d) mikroskopický preparát – hustá mikroflóra diplokoků a streptokoků v poměru 4:1 až 1:1.

Tyto výsledky dává i kultura, uchovávaná při chladničkových teplotách, není-li starší než 6 dní.

### **Jogurtová kultura**

Charakteristika kultury po kultivaci 2,5 až 4 hodiny při 43 °C (mléko zaočkováno 1 % kultury):

- a) čistě aromatická kyselá jogurtová chuť i vůně
- b) hustá konzistence, po promíchání tvoří film na skle praménky
- c) titrační kyselost vyšší než 40 SH
- d) mikroskopický preparát – dostatečně hustá mikroflóra tyčinek a streptokoků v poměru 1:2 až 2:1.

Kultura stará 3 dny a uchovávaná při chladničkových teplotách dává stejné výsledky. Pokud se kultura nesrazí do 8 až 12 hodin, nemá zpravidla ani po oživení dobré vlastnosti.

### **Acidofilní kultura**

Charakteristika kultury po kultivaci 15 hodin při 37 °C (mléko očkováno 1 % kultury):

- a) čistě kyselá chuť a vůně
- b) hustá jogurtová konzistence
- c) titrační kyselost 60 až 70, ale i 90 SH

- d) mikroskopický preparát – hustá mikroflóra krátkých a středně dlouhých tyčinek
- e) začátek doby srážení bývá patrný již po 6 až 8 hodinách

Tyto výsledky dává i kultura stará 6 dnů, uchovávaná při chladničkových teplotách.

### **Kefírová kultura**

Charakteristika kultury po kultivaci 48 hodin při 15 až 20 °C (mléko zaočkováno 5 až 10 % kultury v sodovkových lahvích)

- a) chuť a vůně po kyselině mléčné a uhličitě se slabou kvasničnou příchutí
- b) hustší konzistence
- c) titrační kyselost 45 až 55 SH i více
- d) značný obsah oxidu uhličitého, takže objem proti původnímu mléku je až o 1/3 větší
- e) mikroskopický preparát – hustá mikroflóra diplokoků, tyčinek a kvasinek v poměru 7:2:1 až 2:7:1 (nejméně vhodný poměr, kefir je řidší konzistence, prázdnější a kyselejší).

Uvedené výsledky dává i kultura stará 3 dny, uchovávaná při chladničkových teplotách.



Obrázek 2: Kefírové zrno – barva zrna je smetanová, velikost až růžiček kvěťáku

### **Ementálská kultura**

Výsledky kultivační zkoušky po kultivaci 15 hodin při 37 až 42 °C (mléko zaočkováno 1 % kultury):

- a) čistě kyselá chuť a vůně
- b) hustá jogurtová konzistence
- c) kyselost 50 až 70 SH

- d) hustá mikroflóra krátkých a středně dlouhých tyčinek i diplokoků a streptokoků v poměru 2:1 až 1:2, nejlépe 1:1
- e) začátek srážení za 5 až 8 hodin

Tyto výsledky musí dát i kultura stará 3 dny, uchovávaná při chladničkových teplotách.

#### **Kultura *Lbc. casei***

Výsledky kultivační zkoušky (očkováno 1 % při 30 °C a době kultivace 30 až 48 hodin):

- a) čistě kyselá chuť a vůně
- b) hustá konzistence
- c) kyselost 40 až 55 SH
- d) hustá mikroflóra krátkých a středně dlouhých tenčích tyčinek, většinou spojená ve streptobaktéria

Tyto výsledky dává i kultura stará 3 dny, uchovávaná při chladničkových teplotách.

#### **Kultura *Str. thermophilus***

Výsledky kultivační zkoušky (očkováno 1 % při 37 až 42 °C po inkubaci 15 hodin):

- a) čistě kyselá chuť a vůně
- b) hustá konzistence
- c) kyselost 30 až 40 SH
- d) mikroflóra převážně diplokoková, méně streptokoková, v poměru 9:1 až 7:3

Tyto výsledky dává i kultura stará 6 dní, uchovávaná při chladničkových teplotách.

### **4.3 Stanovení životnosti a aktivity kultur**

Okamžitý stav čistých mlékařských kultur lze jednoduše provozně hodnotit např. reduktázovou zkouškou (čím dříve se zaočkované mléko s methylenovou modří odbarví, tím vyšší je reduktázová aktivita kultury), nebo po přidavku nízkých koncentrací antibiotik případně fenolu (čím větší rozdíl v dosažené titrační kyselosti proti kontrole, tím více je kultura oslabena). Průběh kysacích křivek je také závislý na aktivitě přítomných mikroorganismů.

#### **4.3.1 Fenolový test**

- Činidla:** - roztok fenolu, 50 % roztok krystalického fenolu v ethanolu (2 ml tohoto roztoku odpovídají 1 g fenolu),
- odměrný roztok NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ ),
  - fenolftalein, 2 % roztok v ethanolu.



**Postup práce:** do kuželovitých baněk (150 nebo 250 ml) se 100 ml sterilního mléka, vytemperovaného na předepsanou kultivační teplotu, přidáme u zkráceného fenolového testu v tab. 13 uvedenou koncentraci fenolu, pak baňky zaočkujeme 1 % zkoušené kultury a po promíchání umístíme v termostatu při kultivační teplotě pro příslušný druh kultury. Vyhodnocení provedeme podle následující tabulky.

Tabulka 13: Hodnocení zkráceného fenolového testu

Druh kultury (zákysu)	Přídavek fenolu (ml)	Podmínky kultivace		Minimální požadovaná kyselost (SH)
		Teplota (°C)	Doba (hod)	
Smetanová	0,4	21 – 23	16	25 – 30
Jogurtová	0,6	41 – 43	4	25
Acidofilní	0,8	37	16	30 – 35
Kefírová	0,6	21 – 23	48	25
Ementálská	0,8	40 – 42	16	20 – 30
<i>Lbc. casei</i>	0,4	30	48	25 – 30
<i>Str. thermophilus</i>	0,6	37	16	30

#### 4.3.2 Reduktázová zkouška

**Princip:** čím vitálnější je kultura, tím rychleji se mléko obarvené methylovou modří odbarví. Výsledek však také ovlivňuje zastoupení mikroorganismů, ze kterých se kultura skládá.

**Činidla:** methylenová modř (5 ml nasyceného roztoku smícháme se 195 ml destilované vody).

**Pracovní postup:** do sterilní zkumavky odpipetujeme 0,25 ml roztoku methylenové modři, přidáme 10 ml mléka, zaočkovaného zkoušenou kulturou (příp. i mléko na kysané výrobky, sýry apod.), zazátkujeme a po promíchání inkubujeme při optimální teplotě pro zkoušenou kulturu za nepřístupu světla. Sledujeme, za jak dlouho se obsah zkumavky odbarví. Odbarvování probíhá odspodu a je ukončeno, jestliže je zkumavka odbarvena ze 4/5.

Tabulka 14: Zhodnocení reduktázové zkoušky

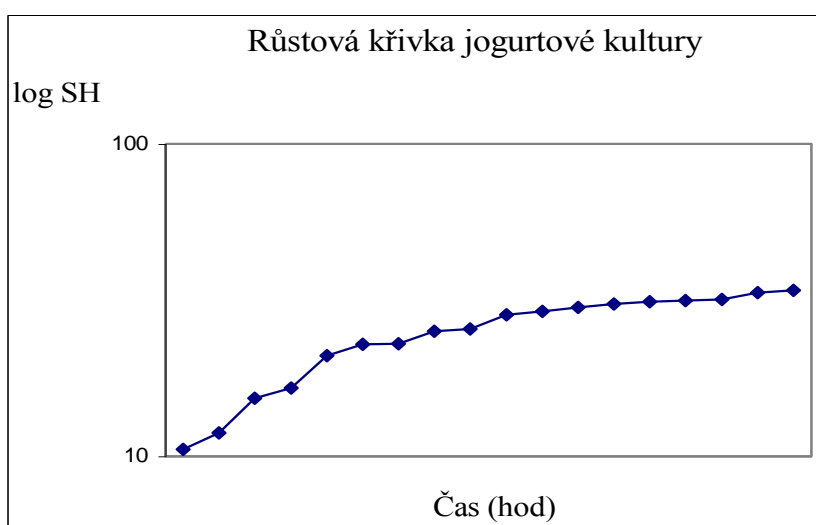
Doba odbarvení	Pravděpodobný počet zárodků v 1 ml
po více než 4 hodinách	méně než 100 000
od 2 do 4 hodin	100 000 až 1 000 000
od 1 do 2 hodin	1 000 000 až 7 000 000
od 20 min. do 1 hod.	7 000 000 až 20 000 000
do 20 min.	více než 20 000 000

### 4.3.3 Kysací aktivita

**Princip:** růst a metabolická aktivita čistých mlékařských kultur je závislá nejen na kvalitě mléka, ale i na jejich vitalitě. Vitalitu čistých kultur lze sledovat i podle průběhu kysací křivky. Naočkujeme-li určité množství mikroorganismů do vhodného živného media, lze jejich následný růst rozdělit do tří definovaných fází: lag fáze před začátkem buněčného dělení, exponenciální či logaritmická (log) fáze růstu, (ve které se buňky dělí konstantní rychlostí) a stacionární fáze, kdy buněčné dělení ustává. Vitalitu čistých mlékařských kultur lze sledovat i podle rychlosti tvorby kyselin – kysací aktivity. Kysací aktivita je demonstrována na jogurtové kultuře Rx.

**Pracovní postup:** do kuželovité baňky o objemu 750 až 1000 ml odměříme 500 ml sterilovaného (resp. pasterovaného) mléka, vytemperovaného na 43 až 45 °C, zaočkujeme 1 % hodnocené jogurtové kultury a po promíchání inkubujeme při uvedené teplotě. Ihned po zaočkování mléka odebereme 50 ml mléka a pak cca v 1/2 hodinových intervalech budeme odebírat vždy po 50 ml mléka (vzhledem ke srážení mléka je vhodnější odběr provádět válečkem) až do 4 hodin inkubace (celkem tedy 9 vzorků). Ihned po odběru stanovíme u odebraných vzorků mléka titrační kyselost. Výsledky vyhodnotíme graficky.

**Poznámka:** Z průběhu kysací křivky lze hodnotit jednak délku lag fáze v minutách a jednak rychlost tvorby kyselin v log fázi (SH/hod). U jogurtové kultury Rx můžeme kromě toho zjistit titrační kyselost po 3,5 hodinách (210 minut) inkubace, která odpovídá kysací schopnosti mléka.



Obrázek 3: Modelová růstová křivka jogurtové kultury Rx kultivované při teplotě 42 °C, měřeno po půlhodinových intervalech

#### 4.4 Zjišťování přítomnosti bakteriofága

Bakteriofágy mohou značně ovlivňovat aktivitu čistých mlékařských kultur a tím zhoršovat jak technologii výroby, tak i kvalitu sýrů a kvasných mléčných výrobků.

**Příprava syrovátky** – z mléka, resp. zákysu, podezřelého na přítomnost bakteriofága se připraví okyselením nebo syřidlem syrovátka, která se přefiltruje, příp. i odstředí.

**1. Převařená syrovátka** – připravená syrovátka se převaří nebo steriluje. V této syrovátce je bakteriofág inaktivován.

**2. Syrovátka s přítomným bakteriofágem** – syrovátka se připravuje dvěma způsoby:

a) syrovátka se jen zhruba přefiltruje a přidá se do ní chloroform (toxický pro bakterie, ale ne pro bakteriofága). Po protřepání a alespoň jedné hodině stání odsajeme vývěvou chloroform;

b) syrovátku důkladně vyčistíme filtrací a odstředěním a pak sterilně filtrujeme přes Seitzův filtr nebo Berkefeldovu svíčku (odstranění bakterií).

**Pracovní postup:** k mléku, zaočkovanému 1 až 2 % sledované kultury přidáme 3 % sledované syrovátky. Do jedné baňky převařenou a do druhé s přítomným bakteriofágem. Obě zkumavky inkubujeme podle druhu kultury při optimální teplotě a buď změříme pH u obou vzorků příp. stanovíme titračně kyselost, nebo pouze zjišťujeme, zda je mléko sraženo. V případě rozdílů lze předpokládat přítomnost bakteriofága.

**Poznámka:** při silné kontaminaci bakteriofágem, resp. při jeho vysoké aktivitě stačí přidávat jen 0,3 % syrovátky nebo si ředěním syrovátky ve sterilním mléce (1+9) můžeme stanovit titr bakteriofága. Pokud by inhibici způsobovala přítomnost cizorodých inhibičních látek (antibiotika, konzervační nebo dezinfekční látky apod.), tak bude i převařená syrovátka bez bakteriofága inhibovat.

#### 4.5 Stanovení biacetylu

**Princip:** biacetyl (diacetyl) typická aromatická látka smetanového zákysu, tvoří s kreatinem v alkalickém prostředí růžové zbarvení, jehož intenzita je úměrná koncentraci.

**Pracovní postup:** do zkumavky vpravíme zhruba 2 ml zkoušené kultury a převrstvíme stejným množstvím 40 % NaOH. Pak přidáme na špičku nože kreatinu a obsah dobře promícháme. Po 1/2 hodinovém stání odečítáme intenzitu na povrchu vzniklého růžového zbarvení.

Tabulka 15: Hodnocení intenzity tvorby biacetylu

Hodnocení	Zabarvení	Hodnocení kultury
+	nepatrné růžové	velmi málo aromatická
++	slabě růžové	slabě aromatická
+++	středně růžové	středně aromatická
++++	silně růžové	silně aromatická
+++++	velmi silně růžové	velmi silně aromatická

**Poznámka:** pro porovnání smetanových kultur je toto hodnocení dostačující. Koncentraci biacetylu možno stanovit fotometricky po oddestilování.

## 5. FERMENTOVANÉ MLÉČNÉ VÝROBKY

Fermentované (kysané) mléčné výrobky jsou vyráběny kysáním mléka, smetany, podmáslí nebo jejich směsi za použití mikroorganismů mléčného kvašení uvedených v tab. 16. Ve finálním výrobku musí být živé mikroorganismy v množství odpovídajícím druhu kysaného výrobku.

Tabulka 16: Druhy mikroorganismů v kysaných mléčných výrobcích

Název kysaného výrobku	Použitá kultura	Mléčná mikroflóra výrobku v 1 g
Acidofilní mléko	<i>Lactobacillus acidophilus</i> a další mezofilní, příp. termofilní kultury bakterií mléčného kvašení	$10^6$ <i>Lactobacillus acidophilus</i>
Jogurty	protosymbiotická směs <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> a <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	$10^7$
Kysané mléko, včetně smetanového zákysu, podmáslí, kysané smetany	monokultury nebo směsné kultury bakterií mléčného kvašení	$10^6$
Kefir	zákys připravený z kefirových zrn, jehož mikroflóra se skládá z kvasinek zkvašujících laktózu <i>Kluyveromyces marxianus</i> i nezkvašující laktózu <i>Saccharomyces unisporus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Sacchyromyces exiguus</i> a dále <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> a <i>Aerobacter</i> , rostoucí ve vzájemném společenství	$10^6$ bakterie mléčného kvašení $10^4$ kvasinky
Kefirové mléko	zákys skládající se z kvasinkových kultur rodu <i>Kluyveromyces</i> , <i>Torulopsis</i> nebo <i>Candida valida</i> a mezofilních a termofilních kultur bakterií mléčného kvašení v symbióze	$10^6$ bakterie mléčného kvašení $10^2$ kvasinky
Kysaný mléčný výrobek s bifidokulturou	<i>Bifidobacterium</i> sp. v kombinaci s mezofilními a termofilními bakteriemi mléčného kvašení	$10^6$ bifidobakterie

## 5.1 Odběr a příprava vzorků

Odběr vzorků se provádí stejně jako u tekutých mléčných výrobků. U fermentovaných výrobků je však nutné vzhledem k oddělování mléčného séra od těžších částic vzorkovat ihned po promíchání. Stejně tak je nutné vzorek promíchat před vlastní analýzou. Pokud je nutno u zakysaných výrobků provádět záhřev k disperzi tuku, musí být záhřev velmi pomalý a za stálého míchání. Míchat je třeba i při chlazení.

## 5.2 Smyslové požadavky

**Barva:** mléčně bílá až krémovitá

**Konzistence:** stejnorodá tekutina, přiměřeně hustá podle druhu výrobku, film charakteristický pro použitou kulturu, u kefirového mléka mohou být bublinky kysličníku uhličitého, u podmáslí není na závadu mírné oddělení syrovátky.

**Chut' a vůně:** mléčně kyselá, charakteristická pro výrobek, čistá bez cizích příchutí a pachů, u kefirového mléka slabě kvasničná příchut' není na závadu.

Tabulka 17: Vady reologických vlastností kysaných mléčných výrobků

Řídká konzistence	Nedostatečné prokysání, (použití nevhodného mléka, málo virulentní zákys), nedodržení technologie
Hrudkovitá konzistence	Před vychlazením rozmíchání výrobku při vysoké teplotě, nedostatečné promíchání
Táhlovitá konzistence	Způsobeno činností mikrobiálních enzymů obsažených v mléce nebo tvorba dextrinů některými kmeny čistých kultur
Tvorba plynu v podobě bublinek	Koliformní bakterie nebo kvasinky
Křísovitý povlak na povrchu	Vysoké skladovací teploty a rozmnožení kvasinek, plísní
Písčitá konzistence	Nedostatečné rozmíchání nebo špatné rozpuštění sušeného mléka při zahušťování
Oddělování syrovátky	Překysání, málo zahuštěný výrobek, vysoká teplota skladování

Tabulka 18: Vady chuti a vůně kysaných mléčných výrobků

Zatuchlá, čpavá chuť	Pomnožení plísňové, kvasinkové a bakteriální mikroflóry při nevhodném skladování
Kovová chuť	Koliformní bakterie
Sladová chuť	Zkrmování nejakostních krmiv (siláží), kontaminace zákysu některými mikroorganismy
Kvasinková chuť, chuť po plísni	Kontaminace kvasinkami nebo plísněmi

Tabulka 19: Senzorické hodnocení jogurtů

Vzhled a barva	Typický pro použitých přísadách, nesmí být cizí, u výrobků nehomogenizovaných s tenkou vrstvou na povrchu
Konzistence	Stejnorodá, hladká, soudržná nebo krémovitá, příp. táhlovitá, nesmí být hrubá, písčítá, syrovátka se nesmí zřetelně oddělovat
Chuť a vůně	Čistá, výrazná po jogurtové kultuře, s příchutí použitých přísad

### 5.3 Stanovení titrační kyselosti

**Princip:** základní metodou hodnocení u většiny mléčných výrobků je spotřeba odměrného roztoku NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) na neutralizaci kyselých reagujících látek na indikátor fenolftalein ve 100 ml (resp. na 100 g) vzorku.

**Činidla:**

- NaOH, odměrný roztok ( $c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ),
- fenolftalein, 2 % roztok v ethanolu,
- síran kobaltnatý, 5 % vodný roztok  $\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ .

**Pracovní postup:** u tekutých vzorků se odměřuje 50 ml, u jogurtů apod. se navažuje 50 s přesností na 0,1 g (u výrobků s vysokou kyselostí jen 25 g). K důkladně rozmíchanému vzorku se přidá pipetou 1 ml roztoku fenolftaleinu, zamíchá se a titruje se do slabě růžového zabarvení nebo zabarvení srovnávacího roztoku (k 50 ml vzorku se přidá 1 ml síranu kobaltnatého). Zabarvení musí vydržet 1 minutu.

**Výpočet:** výsledek titrační kyselosti se vyjadřuje jako:

- a) spotřeba odměrného roztoku NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) na 100 ml (nebo 100 g) vzorku, tj. podle Soxhlet-Henkela (SH).

Rozdíl dvou souběžných stanovení u téhož vzorku nemá být větší než 0,5 SH.

- b) látkový obsah kyselin v  $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1} (\text{kg}^{-1})$  podle vzorce:

$$\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1} (\text{kg}^{-1}) = \frac{b \cdot c \cdot 1000}{a}$$

a – množství vzorku použitého k titraci v ml (g)

b – spotřeba NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) při titraci v ml

c – koncentrace odměrného roztoku v  $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  ( $c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ )

**Poznámka:** titrační kyselost udávána v SH se používá v zemích střední Evropy. V některých zemích se používá k titraci jiné koncentrace odměrného roztoku NaOH a výsledek se pak

vyjadřuje jiným způsobem nebo se celková titrační kyselost vyjadřuje v obsahu kyseliny mléčné.

Dále uvedené vztahy mezi jednotlivými výsledky měření titrační kyselosti byly získány výpočtem a mohou se mírně lišit podle použité metodiky.

$$1 \text{ ml NaOH (} c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1} \text{)} = 1 \text{ SH} = 2,5 \text{ } ^\circ\text{Th} = 2,25 \text{ } ^\circ\text{D} = 0,0225 \text{ g kyseliny mléčné} \\ = 2,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$$

$^\circ\text{Th}$  – kyselost dle Thörnera (NaOH,  $c = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) – používá se ve Švédsku, Rusku a zemích bývalého Sovětského svazu

$^\circ\text{D}$  – kyselost dle Dornica (NaOH,  $c = 0,11 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) – používá se v Nizozemí a ve Francii

% kyseliny mléčné – používá se v Británii, USA, Kanadě, Austrálii a na Novém Zélandu

Tabulka 20: Přepočtení titračních kyselostí

SH	$^\circ\text{Th}$	$^\circ\text{D}$	% kyseliny mléčné
1	2,5	2,25	0,0225
0,4	1	0,9	0,009
4/9	10/9	1	0,01

## 5.4 Stanovení kyseliny mléčné

### 5.4.1 Výpočtem z titrační kyselosti

**Princip:** titrační kyselost mléka vyšší než 7 SH můžeme vyjádřit v obsahu kyseliny mléčné, kdy 1 ml odměrného roztoku NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) odpovídá 0,0225 g kyseliny mléčné.

**Příklad:** titrační kyselost zkoušeného mléka byla stanovena 20 SH.

Kyselině mléčné odpovídá  $20 - 7 = 13$  SH.

Obsah kyseliny mléčné:  $13 \cdot 0,0225 = 0,292 \text{ g/100 ml}$

## 5.5 Stanovení aktivní kyselosti

**Princip:** aktivní kyselost se stanoví pomocí citlivého pH-metru a vhodné elektrody.

**Pomůcky a činidla:** - pH-metr vyšší citlivosti,

- elektroda,

- pufrы s pH 4, pH 7 a pH 10,

- úchovný roztok na elektrodu doporučený výrobcem.



**Pracovní postup:** provede se kalibrace pH-metru podle návodu: nejprve na pufrů s pH 7, poté s pH 4. Kyselost mléčných výrobků se stanoví ponořením elektrody do vzorku, po ustálení údaje na displeji se odečte pH vzorku. Před uložením do úchovného roztoku se elektroda opláchne destilovanou vodou a osuší.

## 5.6 Stanovení sušiny

### 5.6.1 Referenční metoda

Použije se postupu popsaného u mléka v modifikaci s pískem, avšak suší se po 30 minutovém předsoušení uzančně po přesně stanovenou dobu 3 hodiny bez dalšího dosoušení.

### 5.6.2 Metoda sušení se ZnO

**Princip:** při klasickém postupu sušení může určitá část vytvořených kyselin vytékat. Proto se přidává ke vzorku oxid zinečnatý.

**Pomůcky:** ZnO, předem 1 hodinu vysoušený při  $102 \pm 2$  °C a váženka s víčkem.

**Pracovní postup:** navažuje se cca 1,0 g jogurtu s přesností na 0,1 mg do kelímku s víčkem, vloženou tyčinkou a 2 g vysušeného ZnO. Vzorek se rozetře se ZnO a 5 ml vody a dále se postupuje jako u mléka do dosažení konstantní hmotnosti (rozdíl max. 1 mg). Současně se stanovuje kyselost potenciometrickou titrací odměrným roztokem NaOH ( $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ ) do pH 8,3 nebo za použití fenolftaleinu jako indikátoru. Spotřeba se přepočte na % kyseliny mléčné. Údaj slouží k výpočtu korelačního členu A na ztrátu vody v důsledku neutralizace kyselosti jogurtu přídatkem ZnO.

**Výpočet:**

$$\% \text{ sušiny} = \frac{100 \cdot b}{a} + A$$

a, b - hmotnost vzorku před (a) a po sušení (b)

A – korekční člen, vypočítaný ze zjištěné kyselosti vyjádřené v % kyseliny mléčné a vztahu:

1 g kyseliny mléčné = 0,1 g, dosazovaný za A

Poznámka: při titraci na stanovení korekčního členu se navažuje 10 g vzorku + 10 ml vody a spotřeba při titraci (x) v ml se přepočte na:

$$\% \text{ kyseliny mléčné} = \frac{x \cdot 0,9}{\text{navážka (g)}}$$

### 5.6.3 Rychlá provozní metoda

**Princip:** vzorek jogurtu rozetřený v tenké vrstvě se suší za přesně definovaných podmínek.

**Pomůcky:**

- váhy s přesností na 0,01 g,
- hliníková fólie o rozměrech 12 x 30 cm,
- laboratorní sušárna s možností regulace teploty na 128 až 132 °C.

**Pracovní postup:** hliníková fólie se přeloží na polovinu (12 x 15 cm) a zváží se. Na jednu polovinu se naváží přibližně 2 g vzorku a přitiskne se druhou polovinou. Mírným tlakem se vzorek rozetře na větší plochu (ne až k okrajům) a fólie se opět rozevře. Vzorek se suší při teplotě 130 °C 15 minut a ještě horký se zváží.

**Výpočet:** obsah sušiny jogurtu (S) se vypočítá podle vzorce:

$$S = \frac{m_2 - m_f}{m_1 - m_f} \cdot 100$$

$m_f$  - hmotnost prázdné hliníkové fólie v g

$m_1$  - hmotnost fólie s naváženým podílem vzorku v g

$m_2$  - hmotnost fólie s vysušeným podílem vzorku v g

### 5.6.4 Pomocí analytických vah s infračervenou sušičkou

Naváží se 0,5 až 1 g vzorku, vzorek se rozetře do tenké vrstvy. Teplota sušení je 110 °C po dobu asi 5 minut.

### 5.7 Stanovení obsahu tuku acidobutyrometrickou metodou

**Princip:** stanovení je totožné jako u mléka. Vzorky, které nelze odměřit, je nutno navažovat diferenčně.

**Pomůcky:** totožné jako u mléka.

**Postup práce:** do butyrometru s 10 ml Gerberovy kyseliny se navažuje vzorek diferenčně např. injekční stříkačkou v množství 8 – 11 g a přidá se tolik vody, aby objem vzorku a vody byl 11 ml. U jogurtů, které mají vyšší obsah sušiny se nejprve na kyselinu navrství 3 ml vody tak, aby se s ní nesmíchala a teprve pak se navažuje 5 - 6 g jogurtu. (Pozor, aby se nesmočilo hrdlo!) Další postup po doplnění objemu vodou na 11 ml je stejný jako je popsáno u mléka. Výsledek se vyjadřuje v hmotnostních %.

**Výpočet:** obsah tuku v hmot. % (x) se vypočítá se vzorce:

$$x = \frac{c \cdot 11,33}{a - b}$$

a - hmotnost stříkačky se vzorkem v g

b - hmotnost stříkačky po vyprázdnění vzorku do butyrometru

c - obsah tukového sloupce odečtený na škále butyrometru

**Poznámka:** orientačně je možno u kysaných nebo samovolně zkyslých mlék postupovat ztekucením vzorku alkalickým roztokem (36 ml NaOH + 1 ml vody, ochladit a smíchat s 66 ml amoniaku) v poměru 10 + 1 obj. a pak stanovit tuk jako u mléka. Výsledek odečtu na butyrometru se násobí faktorem 1,1. Opakovatelnost je však poněkud nižší.

## 5.8 Úprava mléka na výrobu jogurtů

**Příklad:** připravte  $L_j$  (litrů nebo kg) mléka na výrobu jogurtů s obsahem  $t_j$  (%) a tukuprosté sušiny  $TPS_j$  (%).

### Suroviny pro úpravu mléka:

Mléko o tučnosti  $t_m$  (%) a tukuprosté sušině  $TPS_m$  (%)

Smetanu o tučnosti  $t_s$  (%) a tukuprosté sušině  $TPS_s$  (%)

Sušené mléko o tučnosti  $t_{sm}$  (%) a tukuprosté sušině  $TPS_{sm}$  (%)

### Bilanční rovnice pro výpočet:

x - množství mléka v kg

y - množství smetany v kg

z - množství sušeného mléka v kg

Bilance litrů (kg):  $x + y + z = L_j$

Bilance tuku:

$$\frac{t_m \cdot x}{L_j} + \frac{t_s \cdot y}{L_j} + \frac{t_{sm} \cdot z}{L_j} = t_j$$

Bilance TPS:

$$\frac{TPS_m \cdot x}{L_j} + \frac{TPS_s \cdot y}{L_j} + \frac{TPS_{sm} \cdot z}{L_j} = TPS_j$$

**Příklad výpočtu:**

Připravte  $L_j = 100$  litrů jogurtu s obsahem tuku  $t_j = 4,50$  % a tukuprosté sušiny  $TPS_j = 17$  %. K dispozici máte: mléko o tučnosti  $t_m = 1,90$  % a tukuprosté sušiny  $TPS_m = 9$  %, smetanu o tučnosti  $t_s = 33$  % a tukuprosté sušiny  $TPS_s = 5,6$  %, sušené mléko o tučnosti  $t_{sm} = 15$  % a o obsahu tukuprosté sušiny  $TPS_{sm} = 81$  %.

Bilance litrů:

$$x + y + z = 100$$

Bilance tuku:

$$\frac{1,9 \cdot x}{100} + \frac{33 \cdot y}{100} + \frac{15 \cdot z}{100} = 4,5$$

Bilance TPS:

$$\frac{9 \cdot x}{100} + \frac{5,6 \cdot y}{100} + \frac{81 \cdot z}{100} = 17$$

Z bilančních rovnic vypočteno:

Množství mléka (x)	=	85,1 kg
Množství smetany (y)	=	3,6 kg
Množství sušeného mléka (z)	=	11,3 kg

**5.9 Výroba jogurtu**

V 1 l mléka důkladně rozmíchejte 3 až 5 lžic sušeného mléka, mléko zahřejte za neustálého míchání na teplotu  $85$  °C s výdrží 5 minut. Poté mléko ochlaďte na teplotu  $40$  až  $45$  °C, rozmíchejte do něj jogurtovou kulturu. Rozlijte zaočkované mléko do důkladně vymytých vysušených sklenic. Zavřete sklenice víčkem a dejte do termostatu nastaveného na teplotu  $42$  až  $45$  °C. Sledujte průběh fermentace jogurtu, jogurt by měl být hotov za cca 3 až 4 hodiny. Vyrobený jogurt vychlaďte ve studené vodní lázni a uskladněte v lednici.



Obrázek 4: Zaočkování mléka tekutou jogurtovou kulturou.

### 5.10 Výroba sladkého jogurtu

- 2 l mléka,
- 1 plechovka zahuštěného mléka,
- 1 plechovka zahuštěného slazeného mléka,
- jogurtová kultura.

**Postup výroby:** v mléce důkladně rozmíchejte oba druhy zahuštěného mléka. Dále je postup výroby jogurtu stejný jako v předchozí kapitole.

### 5.11 Výroba nápoje ayran

Ayran (ajran, airan) je velice oblíbeným nápojem v Ázerbájdžánu, Turecku, Řecku, Íránu, Sýrii, Bulharsku, na Balkáně. Jedná se o studený rozmixovaný jogurt s vodou dochucený solí, česnekem, mátou, v některých zemích čerstvým koprem či okurkou.

**Suroviny:** hustý bílý jogurt, voda, česnek, čerstvá máta, sůl.

**Postup:** bílý jogurt dobře smíchejte s vodou nejlépe tyčovým mixerem. Správný poměr je 2/3 dílu jogurtu k 1/3 dílu vody. Ayran osolte podle chuti – originální turecký je poměrně dost slaný. Do nápoje prolisujte česnek nebo přidejte trochu nasekané máty. Ayran se dá dobře vychladit do lednice.

### 5.12 Výroba sýru labneh

Tento měkký čerstvý, zdravý a zajímavě vypadající sýr pochází z oblasti Libanonu a Středního východu. Samotná výroba sýrů Labneh je poměrně jednoduchá a nenáročná.

Základem výroby je zpracování mléka na jogurt, z kterého se následně nechá odkapávat syrovátka. Sýr je třeba spotřebovat do týdne od výroby.

**Suroviny:** 500 g plnotučného jogurtu, půl čajové lžičky soli, pokud dáváte přednost sladké verzi je možné přidat 3 polévkové lžíce jemného moučkového cukru.

Lze dochutit např. drceným koriandrem nebo kmínem, kůrou citrusů, špetkou sušeného chilli, čerstvými jemně nasekanými bylinkami (např. mátou), vanilkou, nasekaným sušeným ovocem.

**Postup výroby:** nastříhejte na velké čtverce (asi 38 cm v průměru) jemnou sýrařskou plachetku, kterou vyložíte cedník (tak, aby se daly nahoře cípy plachetky spojit po nalití jogurtu). Ujistěte se, že přebytek tkaniny visí přes hrany cedníku. Kolem tkaniny můžete převázat i silnější gumovou pásku, aby držela kolem cedníku. Můžete také použít velký papírový filtr na kávu, ale odkapávání trvá trochu déle.

Cedník umístěte nad vhodnou mísu, do které bude odkapávat syrovátka. Jogurt v jiné nádobě rozmíchejte do hladka smíchejte se solí (nebo cukrem). Pokud chcete přidat aromatické přísady nebo koření, přidejte je v této fázi. Tradiční sýr bývá až extrémně ostrý, takže přidávání koření je obvyklé. Experimentujte s různými mixy koření či bylinek, až najdete směs, která je pro vás nejvhodnější. Některé bylinky či koření je možné přidat i později jemně nakrájené.

Jogurt opatrně nalijte na plachetku v cedníku (tak abyste nepotřísnali okolí). Pracujte čistě. Přes jogurt převázejte cípy plachetky a nahoru položte čisté závaží např. malý talíř.

Umístěte nádobu na chladném místě po dobu nejméně 15 hodin. Místo, kde bude sýr odkapávat, musí být hygienicky čisté, aby se minimalizovalo riziko kontaminace bakteriemi a plísněmi. Sýr může být takto ponechán až po dobu 1 – 2 dnů, dokud není dosaženo požadované konzistence. Čím déle sýr odkapává, tím pevnější má konzistenci.

Cedník se sýrem vyjměte z chladničky. Plachetku se sýrem rozbalte tak, aby odtekla zbylá syrovátka na talíř či jinou misku. Sýr opatrně vyklopte do tvaru hrudky na čistý talíř či misku, kterou umístíte do plastového obalu či přímo na povrchu sýra přetáhnete potravinářskou fólií. Tak udržíte sýr déle čerstvější. Sýr uchovávejte v chladničce, kde vydrží až 4 dny.

Před podáváním zformujte uprostřed malý důlek na olej, přelijte olivovým olejem, poprašte sušeným kořením (často se podává se sušenou mátou) či čerstvými bylinkami, obložte např. černými olivami.

Sýr je možné vytvarovat do malých kuliček, vložit do sterilizované sklenice a zalít extra panenským olivovým olejem. Do sklenice lze přidat další koření či bylinky např. rozmarýn nebo stonky tymiánu a některé semena koření, jako je koriandr. Nechte marinovat nejméně 1 den před jídlem. Uchovávejte v chladničce a spotřebujte do jednoho až dvou týdnů.



Obrázek 5: Postup odkapávání sýru Labneh a hotový sýr

## 6. SYŘIDLA

Syřidlové enzymy jsou důležitou pomocnou látkou při výrobě sýrů. Syřidla mají charakter proteolytických enzymů s optimem působením v kyselé oblasti. Jakost syřidla ovlivňuje jak kvalitu sýřeniny a výtěžnost, tak i výslednou jakost sýrů. Kvalitu syřidel deklaruje výrobní organizace. Vstupní kontrola v mlékárenském provozu by měla zahrnovat především ověřování deklarované enzymatické aktivity chymosinových a pepsinových syřidel, posuzování kvality vzniklé sýřeniny a výpočtu dávky syřidla potřebné k sýření.

### 6.1 Odběr a příprava vzorků

Vzorek se odebírá z expedičních obalů vždy z jedné výrobní šarže, pokud se jedná o více různých šarží je třeba hodnotit každou samostatně. Pro potřeby analýz se odebírá jen malé množství vzorku, ten by však měl svými vlastnostmi reprezentovat celou dávku. Odebraný vzorek by se mělo uchovávat v chladničce a rozbor provést nejpozději do druhého dne.

### 6.2 Posuzování kvality syřidla

Kvalitu syřidel je možno posuzovat podle řady kritérií. Např. podle hodnoty pH, obsahu NaCl, rozpustnosti práškových syřidel, proteolytické, lipolytické resp. i amylolytické aktivity (u mikrobiálních syřidel), mikrobiologické jakosti apod. Syřidla by měla být skladována v originálních nepoškozených obalech, na tmavém místě při teplotách 4 až 8 °C. Během skladování je nutno zabránit zmrznutí syřidla. V provozních podmínkách je vhodné posoudit alespoň sensorické vlastnosti.

#### **Kvalitní tekuté syřidlo by mělo mít tyto vlastnosti:**

**vzhled:** zcela čiré, bez sedimentu a zákalu

**barva:** žlutohnědá

**vůně:** výrazně kořeněná, bez zápachu

#### **Vady**

**Vzhled:** není čiré, sediment, zákal

**Barva:** bezbarvé, špinavě šedé

**Vůně:** zápach jakéhokoli druhu

#### **Senzorické posuzování práškového syřidla:**

**Vzhled:** práškovitě sypký až jemně zrnitý



**Barva:** světle šedá až šedavě nažloutlá

**Vůně:** čistá, bez zápachu

### **Vady**

**Vzhled:** syřidlo je slepeno do chuchvalců, popřípadě je hrudkovité

**Barva:** tmavě žlutá až hnědá

**Vůně:** kyselá, čpavá, hnilobná, nažluklá, zápach jakéhokoli druhu

## **6.3 Stanovení síly syřidla podle Soxhleta**

Síla syřidla podle Soxhleta je definována jako množství ml mléka, které srazí 1 ml (resp. 1g) syřidla za 40 minut (2400 s) při 35 °C.

### **6.3.1 Klasická syřidla**

**Princip:** zjištění času, za který dojde k vytvoření prvních vloček sýřeniny působením syřidla za podmínek metody.

**Pomůcky:** - temperovaná vodní lázeň,  
- stopky.

**Příprava syřidla:** odvážíme 1 g práškového nebo 5 ml tekutého syřidla a po rozpuštění doplníme destilovanou vodou na 100 ml. Po promíchání asi za čtvrt hodiny roztok přefiltrujeme (práškové) a použijeme ke stanovení.

**Postup práce:** do Erlenmayerovy baňky se odměří 100 ml mléka (u klasického postupu stanovení síly syřidla by měla být použita směs čerstvého syrového mléka od zdravých dojníc o titrační kyselosti 6,8 až 7,4 SH) a vytemperuje na 35 °C. Do baňky s mlékem se odpipetují 2 ml zředěného syřidla (resp. takové množství, aby se čas koagulace pohyboval mezi 120 až 240 sekundami), stisknou se stopky a za stálého promíchávání a udržování teploty mléka ( $\pm 0,5$  °C) se proti světlu pozoruje na stěně baňky film. Mléko zvolna houstne a v okamžiku, kdy se na stěnách baňky objeví vločky sýřeniny, se zjistí čas koagulace tzv. okamžik prvního srážení.

**Výpočet síly syřidla podle vzorce:**

$$\text{Síla syřidla (x)} = \frac{\text{Objem mléka (ml)} \cdot 2400 \text{ (40 minut)} \cdot 10}{\text{Čas koagulace (s)}}$$

**Příklad výpočtu síly syřidla:** do odměrné baňky na 100 ml bylo napipetováno 5 ml tekutého syřidla a doplněno dest. vodou na 100 ml. Zředěného syřidla byly přidány 2 ml ke 100 ml mléka

o teplotě 35 °C. Při této teplotě byl pozorován vznik vloček sraženiny za 210 sekund, tj. za 3,5 min.

Zředěným syřidlem (2ml = 0,1 původního) by za 40 minut bylo sraženo 1143 ml mléka, 1 ml původního syřidla (x10) by bylo sraženo 11430 ml mléka. Síla zkoušeného syřidla je proto 1:11430.

**Poznámka:** vzhledem k tomu, že složení a vlastnosti směsného mléka mohou kolísat, pro přesné zjištění deklarované síly je nutno porovnat na stejném mléce doby srážení zkoušeného syřidla se standardním syřidlem s deklarovanou silou.

Je možno se setkat také se sýřicí aktivitou, uváděnou v Berridgeových jednotkách. Stanovení je prováděno odlišně a na substrátu, připraveném ze sušeného odstředěného mléka, rozpuštěného v roztoku  $\text{CaCl}_2$  ( $c = 0,01 \text{ mol.l}^{-1}$ ).

### 6.3.2 Pepsinová syřidla

**Princip:** síla syřidla je definovaná stejně jako u klasických syřidel. Aktivita pepsinových syřidel je však významněji závislá na pH mléka, proto se zjišťuje v mléce s přídavkem ústojného roztoku o pH 5.

**Činidla:** - acetátový ústojný roztok o pH 5,0 (42,0 g NaOH se rozpustí v 500 ml převařené dest. vody, přidá se 115 ml 80 % kyseliny octové nebo 92 ml ledové kyseliny octové a doplní na 1000 ml),

- ostatní viz čl. 6.3.1.

**Postup práce:** roztok syřidla se připravuje stejně jako v čl. 6.3.1. Do baňky se odměří 100 ml mléka, 100 ml ústojného acetátového roztoku, směs se vytemperuje na  $20 \pm 0,5$  °C a přidají se 2 ml zředěného roztoku syřidla za současného stisknutí stopek. Postup hodnocení (vytvořené vločky sýřeniny jsou mnohem jemnější) i výpočet jsou stejné jako v čl. 6.3.1.

### 6.4 Stanovení syřitelnosti mléka

**Princip:** porovnává se pouze doba srážení různých mlék (např. od jednotlivých dojnic) syřidlem o stejné sýřicí aktivitě za stejných podmínek (nejčastěji se upravuje pH mlék na stejnou hodnotu). Současně je možno hodnotit i jakost sýřeniny.

**Příprava syřidla:** stejně jako v čl. 6.3.1. Pozor, zředěné syřidlo se musí připravovat denně čerstvé!

**Úprava pH mléka:** do kádinky odměříme 150 ml zkoušeného mléka a změříme pH (hodnotu zapíšeme). Podle toho, zda bude kyselost vyšší nebo nižší než pH 6,5 přidáváme opatrně

po kapkách roztok NaOH nebo HCl a po promíchání asi za 3 – 5 minut změříme znovu pH. Hodnota výsledného pH by se neměla lišit od pH 6,5 více jak o 0,02.

**Pracovní postup:** do Erlenmayerovy baňky se odměří 100 ml zkoušeného mléka (příp. s upravenou hodnotou pH) a postupuje se stejně jako v čl. 6.3.1., srovnají se jen doby srážení mléka.

### 6.5 Stanovení jakosti sýřeniny

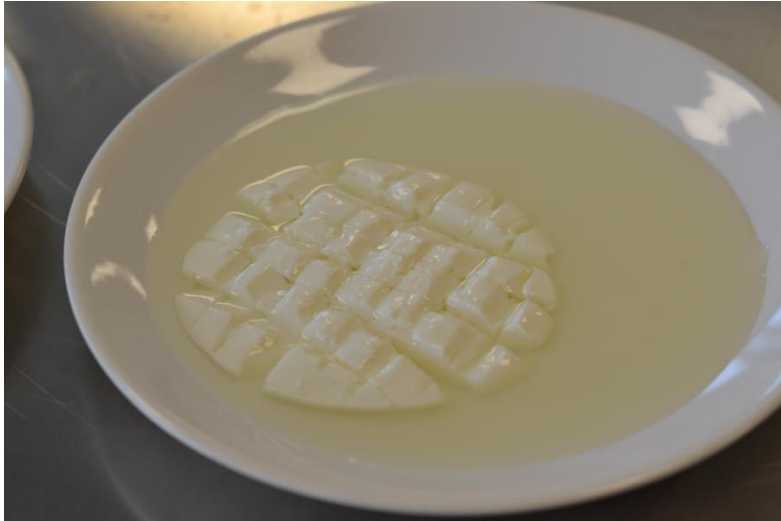
**Princip:** po inkubaci zasyřeného mléka hodnotíme kvalitu vzniklé sýřeniny.

**Provedení:** mléko po zasyření necháme v termostatu při 35 °C po dobu 1 hod a posuzujeme jakost sýřeniny přímo v baňce nebo po jejím vyklopení na Petriho misce podle tab. 21.

Tabulka 21: Hodnocení kvality sýřeniny

Třída jakosti	Vzhled sýřeniny a syrovátky
I	Sýřenina je velmi dobrá, pevná, po vyklopení zachovává tvar. Syravátka je čirá, žlutozelené barvy.
II	Sýřenina je dobrá, je poněkud méně pevná, méně dobře zachovává tvar. Vylučování syrovátky není dokonalé, je bělavé, nazelenalé barvy.
III	Sýřenina je špatná, je měkká, částečně nadrží pohromadě. Syravátka je mlékovitě bílá.
IV	Sýřenina je velmi špatná, vůbec nadrží pohromadě. Syravátka je mlékovitě bílá.
V	Nezřetelné nebo žádné vylučování kaseinu.

**Poznámka:** u sýřeniny můžeme sledovat i její mechanickou pevnost, podíl uvolněné syrovátky, event. provádět i analýzu syrovátky apod. Po posouzení sýřeninu jemně rozsekáme nožem na drobné kousky a opatrně nalijeme na filtr a zachytíme čirou syrovátku. Pokud syrovátka není dokonale čirá je nutno napsat poznámku o jejím vzhledu.



Obrázek 6: Synerese tj. uvolňování čiré syrovátky ze sýřeniny po pokrájení

### 6.6 Stanovení dávky syřidla potřebné na sýření

Pro výpočet množství syřidla na sýření (D) lze použít následující vzorec:

$$D = \frac{M}{S} \cdot \frac{35}{t} \cdot \frac{40}{T}$$

D - množství syřidla ml (g)

S - síla syřidla podle Soxhleta

M - množství sýřeného mléka v ml

t - teplota sýření ve °C

T - doba srážení v minutách

**Příklad:** potřebujeme zasýřit 5000 l mléka při 30 °C tak, aby se sýřenina požadovaných vlastností vytvořila v čase 30 minut. K sýření máme tekuté syřidlo o síle 1 : 10 000.

$$D = \frac{5000000}{10000} \cdot \frac{35}{30} \cdot \frac{40}{30} = 778 \text{ ml syřidla}$$

**POZOR!** Vypočtené množství odpovídá době, potřebné k dosažení počátku srážení. Pro dosažení požadované konzistence sýřeniny je nutno toto množství násobit dvěma.

V tomto případě tedy k sýření 5000 l mléka potřebujeme  $2 \cdot 778 = 1556$  ml syřidla.

## 7. TVAROHY A SÝRY

Sýry představují velkou a relativně různorodou skupinu mléčných výrobků. Běžně se rozdělují na sýry přírodní a tavené. Přírodní sýry se dále rozdělují podle převažujícího způsobu srážení bílkovin na sýry sladké (sraženina vzniká působením enzymů syřidla) a sýry kyselé (sraženina vzniká převážně nebo zcela působením kyseliny mléčné). V současné době se vyrábí velké množství typů přírodních sýrů, lišících se jak použitou technologií, tak i druhy použitých mikrobiálních kultur. Podmínkou dosažení vysoké kvality přírodních sýrů (zejména sladkých) je také použití vysoce kvalitního mléka. Tavené sýry se vyrábí tavením přírodních sýrů s přídavkem emulgátorů (tavících solí). Základní rozdělení sýrů je uvedeno v tab. 22.

Tabulka 22: Klasifikace sýrů podle Vyhlášky Ministerstva zemědělství ČR č. 77/2003 Sb. v platném znění

Druh	Skupina	Podskupina
Sýr	Přírodní	Nezrající Termizovaný
		Zrající Zrající pod mazem Zrající v celé hmotě S plísní na povrchu S plísní uvnitř hmoty Dvouplísňový V solném nálevu, bílý
		Extra tvrdý (ke strouhání) Tvrdý Polotvrdý Poloměkký Měkký
	Tavený	Nízkotučný (roztíratelný) Vysokotučný (roztíratelný)
	Syrovátkový	

### 7.1 Odběr, příprava a úschova vzorků

Při odběru vzorků je třeba brát v úvahu možnou heterogenitu. Při použití kteréhokoliv způsobu odběru musí být pozornost věnována povrchové úpravě sýrů (kůře, plísní), postupuje se dle zaměření požadovaných analýz. Odebírají se buď neotevřená balení, či vrty, výseče apod. podle typu a druhu vzorkovaných výrobků. Odebrané množství má činit 200 g (u menších jednotek). K odběru vzorků vrty se používá vzorkovačů vhodné délky a po odběru se horní část vrtu odřízne a vrátí k uzavření sýru, případně se zavoskuje. Vrty mají procházet

sýrem tak, aby zasáhly středovou část. U tvarohů, surovin a výrobků ve větších nádobách či kontejnerech se vzorky vrtem odebírají z více míst a dbá se, aby nedošlo k oddělování např. syrovátky apod. Tuhé výrobky, sýry a tvrdé tvarohy je možno vzorkovat pomocí nožů, ocelových strun apod. Odběr vzorku se provádí podle tvaru, hmotnosti a typu sýru. Nejmenší množství odebraného vzorku je 100 g. U sýrů vyšší hmotnosti se odebere část sýru nebo výseče, plátky nebo vrty. Postupujeme tak, že odstraníme vnější obal sýru, vnitřní povlaky např. vosk nebo plastový nátěr se neodstraňuje. Vrtem se odebere vzorek zasunutím dostatečně dlouhého nebozazu do sýru. Nebozezem se otočí o jednu celou otáčku a vytáhne se spolu s vrtem. Otvor po vrtu se uzavře vnější částí vrtu asi 10 – 20 mm. Při odběru vzorků čerstvých sýrů musí být obal neporušený. U malých sýrů se odebírá celé balení. U sýrů v solném nálevu se odebírá vzorek o hmotnosti nejméně 100 g bez nálevu. Vzorky se ukládají do vzorkovnic. U sýrů v solném či olejovém nálevu se dávkuje do vzorkovnice i nálev tak, aby sýr byl ponořen a nedocházelo ke změnám poměru komponent sýru a nálevu. Výseče sýrů je možno též přepravovat zabalené v Al-fólii. K rozboru se použije (není-li uvedeno jinak) část vzorku, která se konzumuje. Čerstvé sýry, tvarohy, pomazánkové sýry a dezerty i ostatní sýrové výrobky s roztíratelnou konzistencí se roztírají v třecí misce. Případná mazová plísňová vrstva se odstraňuje. U sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou nebo u tvrdých sýrů zrajících bez kůry se odřízne 0,2 cm povrchové vrstvy, a to i u stěn výsečí. U tvrdých sýrů s kůrou se odřízne 0,5 cm kůry a 0,2 cm u stěn výsečí. Vzorky se strouhají buď ručně, nebo na strojku s jemnou vložkou. Musí se postupovat rychle, aby nedošlo ke změnám hmotnosti. Není-li možno započít rozbor ihned po přípravě, musí se zabránit kondenzaci vody ve vzorkovnici uzavřeného nastrohaného vzorku jeho skladováním při 10 až 12 °C. Před vlastním rozbohem je třeba vzorek znovu promíchat.

## **7.2 Smyslové hodnocení sýrů**

Smyslové (senzorické) hodnocení sýrů se provádí v předem stanovených stádiích zrání a stupních zralosti sýrů. Senzorická jakost sýrů se hodnotí po převzetí do zracích sklepů a pak po průběhu hlavních zracích procesů, kdy je již možno objektivně posoudit jakost sýrů a úroveň technologie jejich výroby a zrání (např. u eidamských sýrů se provádí toto hodnocení po vykvašení, tj. za 15 až 30 dní od výroby, u ementálských sýrů po otevření, tj. za 30 až 60 dní, u měkkých sýrů po vytvoření mazu za 5 až 10 dní, u sýrů s plísní povrchu po vytvoření plísňového porostu za 5 až 10 dní, u sýrů s plísní uvnitř po nárůstu plísně za 10 až 14 dní.

Při jakostním hodnocení sýrů po průběhu hlavních zrácích procesů, které je podkladem klasifikace jakosti, se hodnotí:

1. Barva, konzistence, struktura, chuť a vůně na řezu nebo vývrtu.
2. Povrch, vzhled a vady kůry nebo pokožky.
3. U plísňových sýrů tvorba plísně na povrchu nebo její prokvetlost uvnitř sýra.
4. U měkkých sýrů charakter a množství sýrového mazu.
5. U ementálních sýrů se proklepáváním hodnotí stejnoměrnost otevření celého sýra.

Záznamy o sensorické jakosti sýrů jsou podkladem pro určení úrovně výroby a průběhu zrání sýrů.

Senzorická analýza sýrů se stává čím dál častějším předmětem studia. Souvisí to se zájmem objektivně zařadit sýry do kvalitativních kategorií (pro potřeby prodeje) a také s potřebou vytvořit spojení mezi sensorickými a chemickými (či instrumentálními) charakteristikami. Vzhledem k tomu, že sýry jsou velmi rozmanitou skupinou potravin, neexistuje pouze jeden způsob hodnocení kvality sýrů, ale je možné je hodnotit z mnoha úhlů pohledu. Pro hodnocení sýrů se často využívá následujícího bodového systému:

- Vzhled, vnější povrch – maximálně 5 bodů
- Vzhled, vnitřní povrch – maximálně 5 bodů
- Konzistence, textura – maximálně 5 bodů
- Vůně – maximálně 5 bodů
- Chuť – maximálně 5 bodů

Dá se tedy říci, že hlavními charakteristikami sensorické analýzy sýrů jsou vzhled, textura, chuť, vůně a aroma. Textura hraje při hodnocení velmi důležitou roli, protože může maskovat či snižovat vady chuti, vůně a aroma.

### **7.2.1 Postup při sensorickém hodnocení sýrů**

Před hodnocením by měly být vzorky vytemperovány na teplotu 14 – 16 °C, a to tak, aby byla dosažena stejná teplota v celém objemu sýru. Pro sensorické hodnocení je nutné sýr nakrájet nebo v případě velkých bočnicků se odběr vzorků provádí speciálním vrtákem na sýry. Podle standardu IDF se hodnotí ve stanoveném pořadí následující vlastnosti:

- a) vzhled vnější - tvar, obal nebo kůra a povrch celého neděleného sýru;
- b) vzhled vnitřní – dírkování a barva, vizuální hodnocení řezu vzorku nebo vzorku z vrtáku;
- c) konzistence/textura – hodnocení vzorků ohýbáním, stlačováním mezi palcem a ukazováčkem a dále žvýkáním;

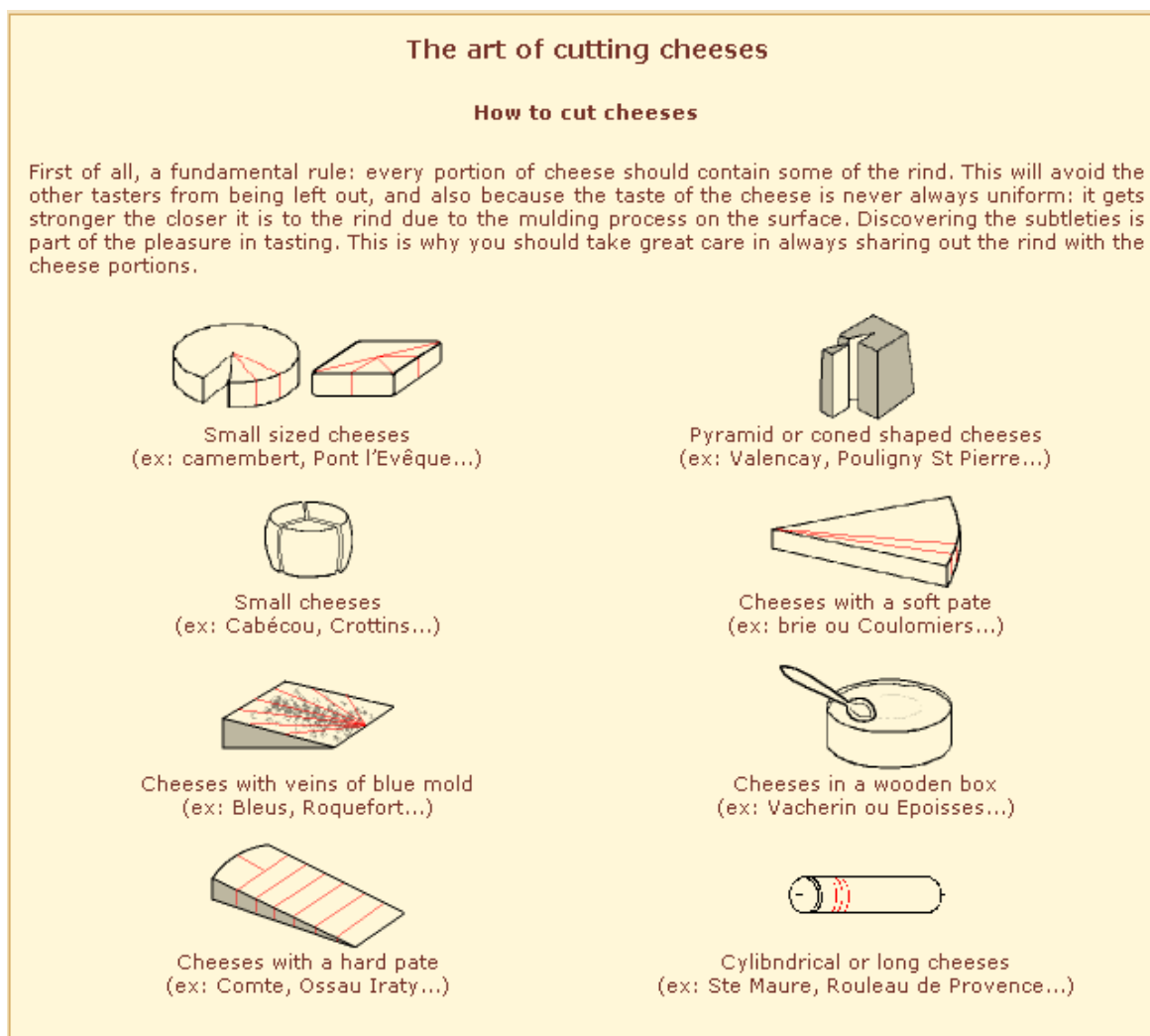
d) flavour (vůně, chuť a aroma) – hodnocení se provádí přičichnutím k vzorku a jeho rozkousáním.

Všechny tyto vlastnosti nemají stejnou váhu, největší význam se přikládá vlastnostem z bodu „c“ a „d“.

### Nejčastější chyby při senzoričném hodnocení sýrů

- Panel hodnotitelů není sestaven z odborníků nebo není proškolen.
- Sýry jsou podávány studené, oschlé - jejich aroma, vůně i chuť je výrazně zhoršena, studený sýr se láme. Z lednice a obalu je nutné sýry vyndat půl až jednu hodinu před konzumací, teprve tak se plně projeví jejich chuť, vůně a konzistence.
- Sýry jsou podávány při špatném osvětlení.
- Nesprávné pořadí podávaných sýrů – nejdříve podáváme sýry neochucené, s méně výraznou chutí, nakonec sýry ochucené, výrazně aromatické.
- Podávaná sousta k hodnocení jsou příliš malá.
- Příliš mnoho vzorků bez potřebné přestávky.
- Sýry jsou žvýkány a polykány příliš rychle.
- Chybí chuťový neutralizátor – podáváme v průběhu hodnocení mléko, pečivo, neperlivou minerální vodu, případně vodku.
- Naprosto nevhodné je podávání kávy apod. v průběhu hodnocení.
- Každý hodnotitel má jinou část sýru, kůra sýrů není okrájená – je nutné porcovat sýry tak, aby každý hodnotitel obdržel stejné části sýru, stejné kvality. Existují určitá pravidla, jak sýr porcovat:
  - Kulaté nebo čtvercové sýry se krájí jako dort.
  - Brie se krájí na trojúhelníky.
  - Malé kozí sýry se krájí na dvě části.
  - Sýry s modrou plísní se krájí kosoúhle.
  - Válcovité sýry se krájí na plátky a ty pak na trojúhelníky.





Obrázek 7: Správné porcování sýrů podle <http://www.cheesesociety.org/domain-nine-cheese-service/>.

### 7.2.1.1 Senzorické hodnocení textury tvrdých sýrů

Texturou rozumíme všechny mechanické, geometrické a povrchové vlastnosti výrobku vnímatelné prostřednictvím mechanických, hmatových a případně zrakových a sluchových receptorů. Při hodnocení textury potravin se vzorek zkoumá nejprve mezi prsty jedné nebo obou rukou, eventuálně mezi prsty a dlaní. Při těchto operacích se uplatňují jak taktilní (dotykové, hmatové), tak kinestetické receptory (tj. receptory umožňující zjišťovat např. křehkost, tuhost, lámavost). Senzorická informace o textuře tak může být zjištěna ještě před posouzením v ústech. Informace o textuře můžeme získat propíchnutím vidličkou, rozříznutím nožem či zmáčknutím jedním prstem. Po prozkoumání v ruce se vzorek vloží do úst a sledují se změny při ukousnutí, kdy sousto ještě nepříjde do styku se slinami,

dále při žvýkání, kdy se sousto rozmělnuje, mísí se slinami a postupně zahřívá na teplotu ústní dutiny.

Okolnost, že se jednotlivé texturní vlastnosti vnímají odděleně, usnadňuje hodnocení senzorickým profilem.

Senzorické hodnocení textury tvrdých sýrů zahrnuje čtyři skupiny znaků: povrchové, mechanické, geometrické a ostatní charakteristiky.

#### **a) Povrchové charakteristiky (ČSN ISO 5492)**

Povrchové charakteristiky se vztahují na počítky vyvolané obsahem vlhkosti nebo tuku. V ústech se též vztahují na způsob, jakým jsou tyto složky vyvolávány.

Patří sem vlastnosti:

- 1) **Vizuální** – trhlinky, oka – jejich velikost a souměrnost, granulky, krystalky. Tyto charakteristiky by se měly hodnotit při dobrém osvětlení. Zde se používá hodnocení „ANO – NE“ a tříbodové stupnice (např. trhlinky – málo, středně, mnoho).
- 2) **Dotykové** – drsnost povrchu, povrchová vlhkost. Hodnotí se čtyřbodovou stupnicí (např. povrch – hladký, jemný, pískovitý, hrubý).

#### **b) Mechanické charakteristiky**

Mechanické charakteristiky jsou ty, které se vztahují k reakci výrobku na namáhání. Sem patří pět základních charakteristik: elasticita, tvrdost, žvýkatelnost, drobivost a mazlavost.

##### **Elasticita**

Je definována jako schopnost vzorku sýru dosáhnout po zmáčknutí své původní tloušťky. Tvrdý sýr by měl mít vysokou elasticitu. Při velmi nízké elasticitě se vzorek vrací velice pomalu do původního tvaru a na některých místech se ani nevrátí.

Elasticita: zmáčknutí sýra do 1/5 až 1/4 a návrat do původního stavu - stupnice 1b. – máslo, 7b. – párek

##### **Tvrdost, tuhost**

Jedná se o odpor, který vzorek klade čelisti při otevření a zavření, tj. odolnost vzorku vůči stisku a povolení čelisti, síla potřebná pro ukousnutí, síla skousnutí.

Tvrdost, tuhost: - stupnice 1b. – vařená mrkev, 7b. – syrová mrkev

##### **Žvýkatelnost**

Žvýkatelnost je snadnost s jakou se vzorek v ústech postupně deformuje nebo s jakou vzorek mění svůj původní tvar před jeho rozpadnutím tj. formování sousta. Hodnotí se po ukousnutí.

Žvýkatelnost: - stupnice 1b. – žloutek natvrdo, 7b. – párek, žvýkačka

#### **Drobivost**

Jedná se o schopnost vzorku rozpadnout se na malé kousky. Vzorek s nízkou drobivostí se po 2 až 4 skousnutích rozpadne na velké kousky, naopak vzorek s velkou drobivostí se takto rozpadne na malé kousky.

Drobivost: - stupnice 1b. – bílek natvrdo, 7b. – tvrdý chléb

#### **Mazlavost**

Jinak také adhezivita se hodnotí jako síla, kterou musí jazyk vynaložit, aby odlepil sýr od zubů. Před tímto hodnocením se musí vypláchnout ústa, protože sliny ovlivňují mazlavost.

Mazlavost: 4x až 8x kousnout a smíchat sýr se slinami, posuzuje se lepivost na patro a zuby  
- stupnice 1b. – bílek natvrdo, 7b. – sýr ementál zralý

#### **c) Geometrické charakteristiky**

Geometrickými charakteristikami se rozumí přítomnost krystalků, granulek či zrnek v soustu po úplném zformování. Hodnotí se „ANO – NE“ a třibodovou stupnicí.

#### **d) Ostatní charakteristiky**

Jako ostatní charakteristiky textury přicházejí v úvahu například tyto vlastnosti:

Rozpustnost vzorku (slinami)

Dojem vlhkosti v ústech

Tání sousta

Vláknitost

Vrzavost, pisklavost (při kousání)

Křupavost (krystalky)

#### **e) Celkový dojem z textury**

Celkový dojem z textury může být například gumovitý, moučnatý, vláčný, poddajný, hrudkovitý, žmolkovitý aj.

#### **7.2.1.2 Hodnocení vůně, aroma, chuti (flavour)**

Vůně a chuť sýrů se pohybuje od jemné, svěží a mléčné po pikantní, kořeněnou a dokonce zapáchající. U sýrů rozeznáváme čtyři typy základních vůní: svěží až kyselou, tučnou až žluklou, ostrou až palčivou a libě vonící až zapáchající.

Například:

- Čerstvé sýry – voní svěže nakysle, vyztáelé sýry – u nich se může projevat až ostrá vůně.
- Některé sýry voní lehce zatuchle jako starý sklep, jiné jsou cítit po ořechách.
- Sýry s mazovou kulturou – voní silně po plynech, které se uvolňují při rozkládání bílkovin na omývané kůře.
- Mladý Hermelín – voní po houbách, lehce plesnivě; vyztáelejší sýry voní spíše po čpavku.

### **Vady chuti**

- Málo sýrová, nahořklá, někdy i nakyslá, netypická pro daný sýr, příliš slaná, nečistá
- Hořká chuť – nedostatečný rozvoj BMK, rozvoj jiné mikroflóry při zrání a vznik hořkých peptidů
- Žluklá a mýdlovitá chuť – mikrobiální příčina
- Hnilobná chuť

Senzorické vlastnosti se hodnotí v tomto pořadí: vůně, aroma, základní chuť, iritující (agresivní) chuť, následné chuť a doba přetrvání chuti. Pro hodnocení se používají 7 – 3 bodové stupnice.

### **Vůně (odour)**

Intenzita vůně se obvykle hodnotí sedmibodovou stupnicí. Pak se hodnotí první dojem, zde může hodnotitel uvést maximálně 2 vůně. Nakonec se provádí detailní popis vůně. Jako standard se používá sýrové aroma (extrakt z čedaru) přidávané do pasterovaného mléka.

### **Aroma**

Je výsledkem vzájemné interakce vjemů chuti a vůně, uvolňuje se při žvýkání sousta. Standardem je sýrové aroma z čedaru přidávané do tvarohu.

### **Chuť (taste)**

Při hodnocení chuti se rozlišuje základní, iritující a následná chuť a délka přetrvání chuti.

**Základní (primární) chuť** – sem patří kyselá, hořká, slaná, sladká a umami (ČSN ISO 5492). Chuť umami někdy označovaná jako tzv. pátá chuť pochází z japonského slova umai, což v českém překladu znamená chutný, lahodný, delikátní. Zdrojem této chuti je sodná sůl kyseliny glutamové, tedy glutaman sodný. Základní chuť se hodnotí sedmibodovou stupnicí.

Standardem pro sladkou chuť je D-fruktosa, pro slanou chuť NaCl, pro kyselou chuť kyselina mléčná a pro hořkou chuť kofein. Receptory hořké chuti jsou umístěny uprostřed v zadní části jazyka, proto tuto chuť hodnotíme vždy až jako jednu z posledních.

**Iritující chutě** – mohou se objevit například tyto: pálivá, pichlavá (dráždivá), svíravá, trpká, osvěžující, kovová, alkalická apod.

**Následná (reziduální) chuť** – představuje chuťový počitek, který nastává po odstranění vzorku z úst a který se liší od počitků vnímaných pokud byl vzorek v ústech. Klasickým příkladem je oříšková chuť.

**Doba přetrvání chutě** – je hodnocena, kromě následných chutí, od 3 do 30 sekund.

## 7.3 Charakteristika některých druhů sýrů

### 7.3.1 Tvaroh

Tvaroh je nezrající sýr získaný kyselým srážením, které převládá nad srážením pomocí syřidla.

**Barva:** mléčně bílá až smetanová, krémová, stejnorodá, u tvrdého tvarohu může být mírné mramorování.

**Chuť a vůně:** čistá, mléčně kyselá, lahodná, bez cizích příchutí a pachů.

**Konzistence:** stejnorodá, jemná, vrstevnatě-vláknitá, hladká, uvolňování syrovátky není na závadu. Tvaroh, který byl vyroben klasickým způsobem, může mít konzistenci mírně hrudkovitou. U tvarohu, který byl vyroben odstředováním tvarohové suspenze, je konzistence jemná, roztíratelná, mírně moučnatá. Pokud je tvaroh balen do fólie z plastu, nejsou kapky kondenzační vody na povrchu závadou. Konzistence tvarohu na strouhání je pevná, tuhá, strouhatelná.

**Vady chuti a vůně:** výrazně kyselá, hořká, trpká, kvasničná.

**Vady konzistence:** hrubozrnná, krupičkovitá.

### 7.3.2 Čerstvé krémové a tvarohové sýry

**Balení:** obal čistý, dobře uzavřený.

**Barva:** mléčně bílá až smetanově nažloutlá, v celé hmotě stejnorodá. U výrobků s přísadami je barva charakteristická po použitých přísadách.

**Chuť a vůně:** smetanově mléčná, čistá, jemná, nakyslá, mírně slaná. Charakteristická po použitých přísadách.

**Konzistence:** jemná, hladká, stejnorodá, lehce roztíratelná, sýr může slabě uvolňovat syrovátku. Ochucené výrobky mají přísady rovnoměrně rozptýleny.

Tabulka 23: Schéma hodnocení sýrů čerstvých a terminovaných

Kritérium	Standardní výrobek	Menší závada	Nestandardní výrobek
Obal	Čistý, neporušený, výrobek správně zabalený.	Menší závady v úhlednosti.	Závady v čistotě obalu, v úplnosti uzavření výrobku.
Vzhled a barva	Povrch nepoškozený, barva mléčná až smetanově lesklá, stejnorodá.	Nerovný povrch, barva výraznější nebo bledší.	Povrch znečištěný, plesnivý, barva netypická, cizí.
Konzistence	Jemné roztíratelné těsto, krémovité.	Slabě moučnatá, hůře roztíratelná, výskyt dutinek	Tuhá, moučnatá, písčitá, obtížně roztíratelná, větší výskyt dutinek
Chuť a vůně	Čistá, jemná, příjemně mléčná nebo smetanově nakyslá, mírně slaná.	Méně výrazná, méně slaná nebo slanější, slabě mléčně nakyslá.	Prázdňá, cizí, kyselá, přesolená, nečistá, pálivá, štiplavá, kvasničná, zatuchlá, mýdlovitá, žluklá.

### 7.3.3 Sýry s nízkodohřivanou sýřeninou

Tržní druhy – např. eidam, gouda, Maasdam.

**Barva a vzhled:** sýry eidamského typu mají hladký povrch bez poškozených míst, pravidelný tvar s mírně vypouklými stranami. Barva sýru je jemně žlutá, stejnoměrná po celém řezu sýru, na řezu je sýr celistvý s max. 2 až 3 kulatými očky velikosti hrášku. Vadou jsou nepravidelné menší trhliny na řezu. Eidam nedostatečně prozrálý je bledší barvy, po okrajích může mít světlou vrstvu.

**Chuť a vůně:** typický sýrová, čistě mléčně nakyslá, mírně slaná, popř. jemně slabá hořkomandlová.

**Konzistence:** u tučných sýrů jemná, vláčná, pružná. Mladý eidam má těsto málo pružné a lomivé. U sýrů, které mají obsah tuku v sušině 30 % je konzistence tužší, polotvrdá.

Tabulka 24: Schéma hodnocení sýrů z nízkodohřívané sýřeniny

Kritérium	Standardní výrobek	Menší závada	Nestandardní výrobek
Vzhled a barva	Hladká jemná kůra, nepoškozená, nedeformovaná. Sytě sýrově žlutá, matně lesklá.	Nepravidelný tvar, nečistá kůra. Bledá nebo naopak příliš silná barva.	Mazovitý povrch, plynové bublinky. Skvrnitá, nestejnorodá.
Konzistence	Pevná, vláčná, v prstech jemně roztíratelná, na řezu 2 až 4 pravidelné dírky velikost hrášku, pravidelné rozvrstvení.	Málo nebo mnoho dírek, drobné jádro uprostřed.	Zduřelá, síťovitá.
Chut' a vůně	Čistá, mléčná, typická pro sýry s nízkodohřívanou sýřeninou, příjemně nakyslá.	Mírně nakyslá, slabě nahořká, prázdná, netypická.	Příliš slaná, hořká, kyselá, pálivá, zatuchlá, hnilobná.

#### 7.3.4 Sýry s vysokodohřívanou sýřeninou

Tržní druhy – sýr s vysokodohřívanou sýřeninou s obsahem sušiny 63 % a 62 % (např. Ementál, Primátor, Montana, Moravský bochník).

**Balení:** obal čistý, bez závad, správně označený.

**Barva a vzhled:** barva sýrově žlutá, u sýrů, které zrají ve fólii, smetanově žlutá. Sýry, které zrají klasicky, musí mít čistou kůru s jemným otiskem po syrníku nebo perforovaném tvořítku. Čelní a boční stěny mohou být mírně vypouklé.

**Chut' a vůně:** jemná, typicky nasládlá až sýrově mandlová, u moravského bochníku méně výrazná, mléčně nakyslá.

**Konzistence:** celistvá, vláčná až pružná, na řezu pravidelná oka, která se od povrchu ke středu zvětšují. Moravský bochník může být bez ok.

Tabulka 25: Schéma hodnocení sýrů tvrdých z vysokodohřívané sýřeniny

Kritérium	Standardní výrobek	Menší závada	Nestandardní výrobek
Vzhled a barva	Povrch suchý, celistvý, hladký. Barva sýrově žlutá, matně lesklá, stejnorodá.	Povrch nerovný. Barva bledší nebo výraznější, méně charakteristická.	Povrch porušený, mazovitý, plesnivý, skvrnitý, vlhký. Barva výrazně bledá, netypická, cizí.
Konzistence	Celistvá, vláčná, pružná. Čistá perleťově lesklá oka vhodné velikosti a počtu, bez trhlinek a dírek nebakteriál. původu.	Celistvá, tužší, oka mírně ořechovitá a matná, ojediněle syrovátková hnízda, provzdušnění a trhlinky.	Tuhá, moučnatá, písčitá, drobivá, gumovitá, výrazně ořechovitá oka, mnoho nepravid. ok, síťovitost, duření, trhlinky, syrovátková hnízda.
Chuť a vůně	Čistá, jemná, sýrově mandlová, mléčně sýrová, nasládlá.	Méně výrazná avšak typická, slanější, kyselejší.	Prázdňá, cizí, kyselá, nečistá, nahořklá, pálivá, štiplavá, slaná, zatuchlá, mýdlovitá, žluklá, hnilobná.

Tabulka 26: Schéma hodnocení sýrů měkkých zrajících s plísní na povrchu

Kritérium	Standardní výrobek	Menší závada	Nestandardní výrobek
Vzhled a barva	Tvar pravidelný, uzavřený, rovnoměrný porost plísně po celém povrchu, na řezu bílý až smetanově žlutý.	Tvar mírně nepravidelný slabší porost plísně.	Tvar deformovaný, povrch znečištěný, mazovatělý, cizí plíseň, slabý porost plísně, netypická barva, skvrnitá.
Konzistence	Jemná, krájitelná, vláčná, ojediněle dírky nebo trhlinky nebakt. původu.	Tužší, kratší, více trhlinek nebo dírek.	Tuhá, krátká, roztékavá, drobivá, zduřelá, síťovitá, velké množství dírek nebo trhlinek.
Chuť a vůně	Jemná, charakteristická, houbově sýrová, pikantní.	Méně slaná nebo slanější, charakteristická.	Prázdňá, cizí, výrazná po přezrálé surovině, nečistá, nahořklá, pálivá, štiplavá, slaná, zatuchlá, žluklá, mýdlovitá, hnilobná.



### 7.3.5 Sýry s bílou plísní na povrchu (např. Hermelín, Camembert)

**Vzhled a barva:** porost bílé plísně po celém povrchu, pravidelný tvar, mohou být patrné mírně vlny po zrací paletě. Barva sýru na řezu mléčně bílá až smetanově žlutá.

**Chut' a vůně:** jemná, charakteristická, houbově sýrová, pikantní.

**Konzistence:** jemná, dírky a trhlinky nebakteriálního charakteru a mírně zřetelné jádro nejsou na závadu.

### 7.3.6 Sýry s plísní uvnitř hmoty (např. Niva, Roqueford)

**Vzhled:** pravidelný tvar, uzavřený povrch se znatelnými vpichy. Uvnitř má mít hmota sýru bílou nebo smetanovou barvu, zelený nebo modrozelený mramorovitý porost plísně v těstě.

**Barva:** sýr je na povrchu bílý nebo světlehnědý.

**Chut' a vůně:** slaná, pikantní po ušlechtilé plísni.

**Konzistence:** jemná, drobná, roztíratelná.

Tabulka 27: Schéma hodnocení sýrů s plísní uvnitř hmoty

Kritérium	Standardní výrobek	Menší závada	Nestandardní výrobek
Vzhled a barva	Stejněměrný modrozelený, mramorovitý porost plísně v těstě, které má barvu bílou nebo smetanovou.	Nestejněměrný slabý porost plísně, těsto nestejněměrně zbarvené nebo příliš smetanové barvy.	Hnědé, červené nebo jiné skvrny, bez plísně ve vpichu, hnilobná místa.
Konzistence	Jemná, drobná, roztíratelné těsto.	Tuhá, těsto částečně slité.	Tuhá, zduřelé nebo kašovitě těsto.
Chut' a vůně	Typicky pikantní po ušlechtilé plísni, málo slaná nebo trochu slanější.	Slabě nahořklá, příliš slaná, nakyslá.	Kvasnicová, kyselá, hořká, zatuchlá, mýdlovitá, hnilobná, žluklá.

## 7.4 Mikrobiální vady sýrů

### 7.4.1 Hnidovitost sýrů

– způsobují bakterie skupiny *Coli aerogenes*. Charakteristické je pro tuto vadu velké množství drobných dírek, špatná nečistá chuť a zápach sýrů.



Obrázek 8: Hnidovitost sýrů způsobená bakteriemi skupiny *Coli aerogenes*.

#### 7.4.2 Pozdní duření sýrů

– vady sýrů způsobené bakteriemi máselného kvašení (*Clostridium butyricum*, *Cl. tyrobutyricum*). Pro tuto mikrobiální vadu je charakteristická štiplavá palčivá chuť a výrazný zápach po máselné kyselině, tvorba ořechových ok.



Obrázek 9: Pozdní duření sýrů způsobené bakteriemi máselného kvašení

### 7.5 Stanovení sušiny

#### 7.5.1 Referenční metoda

**Princip:** vysoušení sýru při  $102 \pm 2$  °C do konstantní váhy.

**Pomůcky:**

- vysoušecí miska výšky asi 2 cm, průměru 6 až 8 cm,
- skleněná tyčinka se zploštělým koncem,
- exikátor,

- křemenný písek propraný kyselinou chlorovodíkovou a vodou, dobře vyžiháný (viz stanovení u mléka).

**Postup práce:** do vysoušecí misky se odváží asi 20 g křemenného písku a vloží se do ní skleněná tyčinka, která slouží k promíchání vzorku. Miska s pískem a tyčinkou se vysouší asi 1 hodinu při  $102 \pm 2$  °C, po vychladnutí v exikátoru (asi za 30 minut) se zváží na analytických vahách. Po rychlém a přesném odvážení asi 3 g ( $\pm 0,0001$  g) sýru se vzorek dobře s tyčinkou promíchá a vysouší 4 hodiny při  $102 \pm 2$  °C. Během první hodiny sušení je třeba vzorek vždy po 5ti minutách tyčinkou opatrně promíchat, aby nedocházelo ke tvorbě povrchové kůry, která brání vysušování. Po 4 hodinách se dá vysoušecí miska do exikátoru a po vychladnutí se zváží. Vysoušení vzorku se opakuje v intervalech půl hodiny až do nejnižší dosažené váhy.

**Výpočet:** sušina v procentech (na dvě desetinná místa):

$$S = 100 \cdot \frac{c - a}{b - a}$$

S - sušina v %

a - hmotnost vysoušecí misky s pískem a tyčinkou

b - hmotnost vysoušecí misky s pískem, tyčinkou a sýrem

c - hmotnost vysoušecí misky s pískem, tyčinkou a sýrem po vysušení

### 7.5.2 Technická metoda

**Princip:** vysoušení sýru při teplotě  $130 \pm 2$  °C.

**Pomůcky:** stejné jako při metodě předcházející. Často se místo sušárny používá v praxi kelímková rychlosušárna s náplní glycerinovou nebo s parafinovým olejem. Kelímky bývají o průměru 6 cm a výšce asi 5 cm.

**Postup práce:** do suchého kelímku s tyčinkou se odváží asi 30 g písku a suší se při 130 °C asi 1 hodinu. Po vychladnutí v exikátoru se zváží s přesností 0,01 g. Do odváženého kelímku s pískem a tyčinkou se naváží asi 5 g sýru, který s pískem dobře rozetřeme a sušíme ve vyhřáté sušárně při 130 °C 30 minut. Prvních pět minut sýr s pískem důkladně promícháme, aby vznikla stejnoměrná hmota. Později stačí občasně promíchání, aby nedocházelo k tvorbě hrudek, které znesnadňují vyschnutí. Po vychladnutí v exikátoru vysušený vzorek zvažíme. Pro kontrolu dokonalého vysušení se doporučuje ještě po zvažení vzorek sušit 15 minut.

**Výpočet:** v případě, že dodržujeme přesnou navážku 5,00 g sýra, množství sušiny (S) v % vypočítáme ze vzorce

$$S = 20 \cdot (a - b)$$

kde a – hmotnost kelímku, písku, tyčinky a vzorku před vysušením

b – hmotnost kelímku, písku, tyčinky a vzorku po vysušení.

Výsledná vypočítaná sušina se vyjadřuje na jedno desetinné místo.

### 7.5.3 Stanovení sušiny (obsahu vody) za použití analytických vah s infrazářičem

**Princip metody:** podstatou jsou analytické váhy s vestavěným infrazářičem. Vzorky se roztřou v tenké vrstvě. Suší se při teplotě 110 až 140 °C. Podmínky sušení se předem naprogramují.

Doporučená navážka:	Přírodní sýry	1,5 až 2,0 g
	Tavené sýry	2,0 až 5,0 g

## 7.6 Stanovení obsahu tuku

### 7.6.1 Metoda podle van Gulika

**Princip:** rozpuštění netukových látek v sýru kyselinou sírovou, uvolněný tuk se oddělí v butyrometru odstředivou silou. Při této metodě se vyžadují speciální van Gulikovy butyrometry pro navážku 3,00 g sýru.

**Pomůcky:** - vodní lázeň s teploměrem,  
 - odstředivka na butyrometry,  
 - van Gulikův butyrometr 0 – 20 nebo 0 – 40 %,   
 - kyselina sírová,  $h = 1,515 \text{ g.cm}^{-3}$ ,  
 - amylalkohol,  $h = 0,815$  prostý olejových látek.

**Postup práce:** na skleněnou lodičku zasazenou do zátky butyrometru (nebo do celofánu) se odváží 3,00 g (s přesností 0,01 g) průměrného vzorku sýru a zasune se do širšího hrdla tukoměru. Horním otvorem butyrometru se vpustí po stěně kyselina sírová tak, aby sahala do 2/3 rozšířené části butyrometru (asi 14 ml). Po zazátkování se butyrometr vloží do vodní lázně 65 °C teplé, opatrně promíchává, aby se kousky sýru nedostaly do stupnice butyrometru. Když se sýr úplně rozpustí, přidá se 1 ml amylalkoholu a zředěná kyselina sírová tak, aby sahala asi do dvou třetin stupnice butyrometru. Butyrometr se zazátkuje, několikrát obrátí a po vytemperování v lázni 65 °C odstředí se 5 minut (viz mléko). Po odstředění se butyrometr ponechává 5 minut ve vodní lázni (65 °C) a na stupnici butyrometru se přímo odečtou hmotnostní procenta tuku. Odstředování se opakuje max. 3x. Stoupá-li tuk stále, je třeba porovnat s referenční metodou. U butyrometru 0 – 40 % se musí odečítat vždy od nuly.

**Přesnost metody:** rozdíl mezi dvěma rozbory nemá být větší než 0,25 %. Oproti metodám přesným mohou mít metody technické odchylku až  $\pm 0,3$  %.

### 7.6.2 Metoda podle Hammerschmidta

**Princip:** rozpouštění netukových látek v sýru 4 %ním roztokem boraxu a oddělení uvolněného tuku pomocí odstředivé síly.

**Pomůcky:** - Hammerschmidtův butyrometr,

- 4 %ní roztok boraxu,
- kyselina sírová  $h = 1,820 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ,
- ostatní totožné s čl. 7.6.1.

**Postup práce:** postupujeme obdobným způsobem jako u metody van Gulikovy s tím rozdílem, že do speciálních butyrometrů se odváží 2,50 g sýra, horním otvorem se přidá 9 ml 4% roztoku boraxu a 1 ml amylalkoholu. Obsah se promíchává ve vodní lázni při teplotě 40 až 45 °C. Po rozpouštění a vychlazení se přidá 10 ml kyseliny sírové. Butyrometr se zazátkuje, důkladně promíchá, vytemperuje na 65 °C a 5 minut odstředí. Po odstředění a vytemperování na 65 °C se odečítají přímo hmotnostní procenta tuku. Můžeme také, po odvážení 2,50 g sýra, postupovat stejným způsobem jako u metody van Gulikovy (nutno však nahradit borax zředěnou kyselinou sírovou  $h = 1,515 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ).

**Přesnost metody:** rozdíl mezi dvěma rozbory nemá být větší než  $\pm 0,25$  %

### 7.7 Obsah tuku v sušině

Procentický podíl tuku z celé sušiny (tuk v sušině) je základním hodnotícím kritériem u všech mlékárenských výrobků.

**Výpočet:**

$$x = \frac{100 \cdot t}{s}$$

s – sušina v %

t – tučnost v %

x – tučnost v sušině (t. v suš.) v %

Výsledky tuku v sušině se vyjadřují na jedno desetinné místo.

### 7.8 Stanovení titrační kyselosti

**Princip:** titrační kyselost se vyjadřuje počtem spotřebovaných ml odměrného roztoku NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) potřebných k neutralizaci 100 g tvarohu nebo sýru na fenolftalein.

**Pomůcky:** - třecí miska s tloučkem.

**Chemikálie:** totožné jako u mléka.

**Postup práce:** do třecí misky se odváží 10 g tvarohu nebo rozstrouhaného sýru, přidá se 1 ml roztoku fenolftaleinu a důkladně se rozetře. Za pokračujícího roztírání se titruje odměrným roztokem NaOH do trvale slabě růžového zbarvení.

**Poznámka:** vzorek je nutno roztírat uprostřed třecí misky.

**Výpočet:** titrační kyselost v SH na 100 g (x) se vypočte podle vzorce:

$$x = a \cdot f \cdot 10$$

a - spotřeba odměrného roztoku NaOH v ml

f - faktor odměrného roztoku NaOH

## 7.9 Stanovení aktivní kyselosti

**Princip:** do vzorku se zavede vpichová elektroda se skleněným hrotem speciálně určená pro měření pH sýrů. Pokud nemáme přímo vpichové elektrody, zjišťujeme hodnoty pH ve vodném výluhu.

**Pomůcky:** - pH metr s příslušenstvím,  
- třecí miska s tloučkem,  
- ústojné roztoky v rozmezí pH 4 až 7.

**Provedení:** 10 g rozstrouhaného sýru nebo tvarohu se vytemperuje na pokojovou teplotu a rozetře se 40 ml destilované vody přidávané po částech. Rozetřený vzorek se dá do malé kádinky a změří hodnota pH. Přesnost metody je  $\pm 0,1$  pH.

**Poznámka:** po měření tučných sýrů je třeba elektrody omýt chloroformem a destilovanou vodou.

## 7.10 Stanovení obsahu chloridu sodného

### 7.10.1 Přímou titrací

**Princip:** obsah chloridů se stanoví přímou titrací vodného výluhu sýru dusičnanem stříbrným o známé koncentraci na chroman draselný jako indikátor.

**Pomůcky:** - třecí miska s tloučkem,  
- dusičnan stříbrný, odm. roztok  $c = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ ,  
- chroman draselný, roztok 5 %.

**Postup práce:** 10 g rozstrouhaného sýru se roztírá s teplou vodou, výluh se kvantitativně převede do odměrné baňky na 250 ml a doplní při 20 °C po značku. Do titrační baňky se odměří 25 ml zředěného výluhu a po přidavku 1 ml 5 % chromanu draselného se titruje z byrety odměrným roztokem AgNO<sub>3</sub> do cihlového zbarvení.

**Poznámka:** 1 ml 0,1 mol.l<sup>-1</sup>AgNO<sub>3</sub> = 3,546 mg Cl = 5,85 NaCl

**Výpočet:** obsah NaCl v hmotn. % (x) se vypočte podle vzorce:

$$x = \frac{a \cdot f \cdot 5,85}{10}$$

a - spotřeba 0,1 mol.l<sup>-1</sup>AgNO<sub>3</sub> při titraci v ml

f - faktor roztoku AgNO<sub>3</sub>

### 7.10.2 Potenciometrickou titrační metodou

**Princip:** zkušební vzorek se suspenduje ve vodě. Okyselí se kyselinou dusičnou a následuje potenciometrická titrace chloridových iontů roztokem dusičnanu stříbrného.

**Pomůcky:** - potenciometr s měrnou elektrodou, vhodnou pro stanovení chloridů (např. stříbrnou elektrodou) a referenční elektrodou (např. elektroda na bázi síranu rtuťnatého),

- třecí miska s tloučkem,

- dusičnan stříbrný, odměrný roztok c = 0,08 až 0,12 mol.l<sup>-1</sup> (ve vodě se rozpustí 13,6 g až 20,4 g dusičnanu stříbrného a doplní na 1000 ml),

- kyselina dusičná, roztok přibližně c = 4 mol.l<sup>-1</sup>.

**Postup práce:** naváží se 2 až 5 g vzorku s přesností na 0,0001 g, který se dobře rozstrouhá nebo rozetře. Ke vzorku se přidá 30 ml vody o teplotě 55 °C a suspenduje se za použití míchacího zařízení. Míchadlo se opláchne přibližně 10 ml vody, která se jímá do nádoby. Přidají se 2 až 3 ml roztoku kyseliny dusičné. Do suspenze se vloží měrná a referenční elektroda. Obsah nádoby se titruje z byrety standardním roztokem dusičnanu stříbrného za stálého míchání téměř k bodu titrace, který odpovídá největšímu rozdílu potenciálu pozorovanému mezi oběma po sobě následujícími přidavky stejného množství (asi 0,05 ml) roztoku dusičnanu stříbrného. Slepý pokus se provede s použitím chemikálií, avšak bez zkušební vzorku.

**Výpočet:** obsah chloridů se vypočte v hmotnostních procentech podle vzorce

$$x = \frac{(V_1 - V_0) \cdot c \cdot 5,8}{m}$$

$V_0$  – objem odměrného roztoku  $\text{AgNO}_3$  použitého při slepém pokusu v ml

$V_1$  – objem odměrného roztoku  $\text{AgNO}_3$  použitého při stanovení v ml

$c$  – skutečná koncentrace vyjádřená v mol/litr odměrného roztoku  $\text{AgNO}_3$

$m$  – hmotnost zkušební vzorku v g

Výsledek se uvádí na dvě desetinná místa.

## 7.11 Stanovení železa a mědi v tvarohu

Při výrobě kyselé sráženého tvarůžkářského tvarohu se může ze zařízení rozpouštět ve vytvořené kyselině železo nebo měď a při zrání tvarůžků pak způsobovat jejich černání.

### 7.11.1 Stanovení obsahu železa

**Princip:** železo v tvarůžkářském tvarohu způsobuje černání výrobků již při koncentraci 0,0001 %. Stopová množství  $\text{Fe}^{3+}$  reagují za podmínek metody se sulfokyanidem draselným za vzniku červenohnědého zbarvení.

**Pomůcky a chemikálie:**

- porcelánová třecí miska s tloučkem,
- kolorimetrická tabulka standardů,
- kyselina chlorovodíková, konc.,
- peroxid vodíku, roztok 3 %,
- sulfokyanid draselný, roztok 10 %.

**Postup práce:** 10 g tvarohu se rozetře v třecí misce s 1 ml konc.  $\text{HCl}$ , 1 ml 10 %  $\text{KSCN}$  a 5 kapkami 3 %  $\text{H}_2\text{O}_2$ . V přítomnosti solí železa se vzniklé růžovo-hnědé zbarvení porovná po 15 minutách s barevnou tabulkou.

### 7.11.2 Stanovení obsahu mědi

**Princip:** tvarůžkářské tvarohy s obsahem mědi vyšším než 0,0006 % při výrobě černají. Fenolftalein rozpuštěný ve zředěných roztocích alkálií a redukovaný zinkovým práškem poskytuje bezbarvou leukosloučeninu, která v přítomnosti mědi snadno oxiduje zpět na barevný fenolftalein.

**Chemikálie:**

- peroxid vodíku, roztok 3 %,
- fenolftaleinové činidlo, 30 g  $\text{KOH}$  se rozpustí ve 150 ml destilované vody, pak se přidá 7 g fenolftaleinu a 10 g zinkového prášku, zahřeje se k varu



a po částech se přidá 20 g  $ZnCl_2$ . Roztok se asi za půl hodiny odbarví, což svědčí, že proběhla redukce. Čirý roztok se odpipetuje a uchovává v chladu v hnědé lahvičce.

**Postup práce:** 10 g tvarohu se rozetře s 0,5 ml 3 %  $H_2O_2$  a po promíchání s 3 ml fenolftaleinového činidla. V případě přítomnosti mědi se vzniklé červenofialové zbarvení porovnává s barevnou tabulkou nejlépe nanesením zkoušeného vzorku o vrstvě asi 3 mm na bílou porcelánovou destičku.

### 7.12 Úprava mléka na výrobu sýrů

Obsah tuku u mléka je třeba upravit podle druhu vyráběného sýru a podle požadovaného obsahu tuku v sušině. Nejčastěji používané vzorce pro výpočet jsou:

#### a) podle Koroleva

$$t = \frac{A}{B} \cdot \text{TPS} \cdot \frac{\text{TvS}}{100 - \text{TvS}}$$

t – potřebná tučnost mléka na sýry v %;

A – podíl tuku z mléka, který je zadržen v sýru;

B – podíl tukuprosté sušiny u mléka, který je zadržen v sýru;

TPS – tukuprostá sušina mléka v %;

TvS – požadovaný obsah tuku v sušině sýru v %.

Pro koeficient  $\frac{A}{B} \cdot \text{TPS}$  jsou používány hodnoty:

měkké sýry 3,4

sýry holandského typu 3,5

sýry ementálského typu 3,6

#### b) podle Jakobovského

$$t = \frac{a \cdot 1,03 \cdot K \cdot \text{TvS}}{100 - \text{TvS}} + 0,9 b$$

t – potřebná tučnost mléka na sýry v %;

a – obsah kaseinu v mléce v %;

b – tučnost syrovátky v %;

TvS – obsah tuku v sušině sýru v %;

K – koeficient charakteristický pro daný druh sýrů (pro sýry holandského typu se používá hodnota 1,20, pro tylžské a trapist 1,15).

**Poznámky:** k výpočtům je možno použít i zjednodušený vzorec:

při výrobě tučných sýrů  $t = 0,01 \cdot TvS \cdot (2a + 1,1)$

při výrobě polotučných sýrů  $t = 0,005 \cdot TvS \cdot (3a + 1)$

### c) podle Schulze – Kaye

$$t = a \cdot B$$

t – potřebná tučnost mléka na sýry v %;

a – koeficient daný pro určitý druh sýru a obsah t. v suš;

B – bílkovinný titr, tj. obsah bílkovin mléka v %.

Tabulka 28: Koeficienty „a“ pro jednotlivé typy sýrů a obsah tuku v sušině

Druh sýru	Obsah tuku v sušině (%)							
	10	20	30	35	40	45	50	60
Zlato a tvrdé sýry	-	-	-	-	-	0,93	1,09	-
Plísňové a holandské	-	0,28	0,50	0,61	0,74	0,90	1,06	-
Měkké sýry	-	0,24	0,44	0,55	0,68	0,84	1,00	1,50
Čerstvé sýry	0,17	0,33	0,55	0,66	0,79	0,96	1,12	1,60

### 7.13 Stanovení výtěžnosti

Ukazatelem správného využití mléka jako suroviny při výrobě sýrů je výtěžnost, čímž se rozumí množství čerstvých nebo zralých sýrů vyrobených ze 100 litrů mléka nebo ze 100 kg mléka. Ukazatelem hospodárnosti výroby a jakosti je spotřeba, což je množství litrů nebo kilogramů mléka o určité tučnosti na 1 kg vyrobeného sýra.

Pro výpočet výtěžnosti je možné používat např. následující vzorec:

#### a) Vzorec Van Slyke Publów č.1

$$V = \frac{(F \cdot Kf + C - 0,1) \cdot 1,09}{1 - M}$$

### b) Vzorec Van Slyke Publow č. 2

$$V = \frac{(F \cdot Kf + C - 0,1) \cdot 1,06}{\frac{1-SC-M}{1-WS}}$$

V - výtěžnost v kg sýru / 100 kg mléka

F- obsah tuku v mléce [hmotnostní % ]

Kf- výtěžnost tuku =tuk v sýru / tuk v mléce [kg / kg]

C - hmotnostní % kaseinu v mléce

M - hmotnostní % vody v sýru

SC - hmotnostní % soli v sýru / 100

WS - hmotnostní % sušiny syrovátky / 100

### c) Vzorec Van Slyke a Price

$$V=1,63(t + k)$$

V - výtěžnost sýru v kg / 100 kg mléka

t - tuk mléka v %

k - kasein mléka v %3

### d) Vzorec Herzov (Weigmann)

$$V = 3 + t + \frac{v}{100 - v} (3 + t)$$

V - výtěžnost sýru v kg / 100 l mléka

t - tuk mléka v %

v - voda v sýru v %

## 7.14 Výroba sýru panýr

Tento měkký, čerstvý, nezrající a zajímavě chutnající sýr pochází z Indie a je využíván především v indické a jihoasijské kuchyni k přípravě vegetariánských jídel. Samotná výroba tohoto sýru je poměrně jednoduchá a nenáročná na suroviny. Proto se tento sýr těší oblibě v mnoha dalších státech, ve kterých se s ním můžete setkat pod jinými názvy např. Queso blanco v Mexiku, Ricottone v Itálii, Brousse ve Francii, Mizithra v Řecku či Panir v samotné Indii.

**Suroviny:** 4 l plnotučného kravského mléka,  $\frac{3}{4}$  hrnku (180 ml = 4 citrony) citronové šťávy,  $\frac{1}{4}$  lžičky (1,5g) soli a další pomůcky potřebné k výrobě tj. hrnec, vařečku, teploměr, síto, mísu či nádoby, ve kterých budeme hotový sýr uchovávat. Místo citronové šťávy lze použít ke srážení i ocet ve stejném množství, plnotučné mléko lze nahradit mlékem odstředěným. Změnou srážecího média či tučnosti výchozího mléka je možné vyrobit mnoho variací o rozdílné textuře, chuti či vůni.

**Postup výroby:** celý objem mléka vlijeme do hrnce a postavíme na zdroj tepla. Za stálého pomalého míchání mléko přivedeme k teplotě 91 – 93 °C. Při záhřevu mléka na tuto teplotu je míchání velmi důležité, protože snadno může dojít k připálení mléka. Při teplotě okolo 90 °C začne mléko pění, proto musíme dávat pozor, aby mléko z hrnce nevypěnilo. Jakmile dosáhneme teploty 91-93 °C, hrnec s mlékem odstavíme ze zdroje tepla a necháme zchladit na 88 °C. V průběhu chlazení si vymačkáme šťávu z citronů a po dosažení teploty 88 °C tuto šťávu po lžících za stálého jemného míchání přidáváme do mléka. Dojde k vysrážení bílkovin a uvolnění syrovátky. Vzniklá sraženina se v uvolněné syrovátce nechá 5-20 minut odpočinout, poté sraženinu přelijeme přes síto, abychom se zbavili syrovátky. Ze 4 l mléka získáme asi 700 g sýra. Následně máme dvě možnosti, jak vzniklý sýr dále zpracovat:

- 1) Sýr necháme v sítu odkapávat 60 minut, potom do těsta zapracujeme sůl, zabalíme a vložíme do lednice na 7 dní. Po této době je sýr nejvhodnější ke konzumaci buďto čistý nebo je možné tento sýr ochutit, popř. použít do hotových pokrmů.
- 2) Sýr necháme v sítu pouze 20 minut, zapracujeme sůl, vytvoříme bochník o výšce cca 4 cm, vložíme jej do formy a vylisujeme. Lisování probíhá prvních 10 minut při zátěži 1,5 kg, po této době přidáme dalšího 1,5 kg a lisujeme ještě 1 hodinu. Následně je možné sýr zabalit a opět uložit na 7 dní do lednice.

### 7.15 Výroba čerstvého sýru

Do skupiny čerstvých sýrů patří sýry, jejichž výroba je ukončena buď u některých druhů sýrů již prokysáváním sýřeniny, nebo u ostatních sýrů vysolením. Sýry se konzumují v čerstvém stavu, nenastává u nich hlubší rozklad bílkovin. Chuť je tedy typicky mléčná, mírně nakyslá.

**Při výrobě čerstvého sýru postupujte podle následujícího návodu:**

- pasterace mléka – šetrná 72 °C / 20 – 30 s,
- mléko pozvolna vychladit na 30-33 °C,

- přidat **smetanový zákys** (do mléka dobře rovnoměrně rozmíchat tekutý zákys v množství 3-5 % nebo koncentrát určený pro daný objem mléka),
- přidat **40 % roztok CaCl<sub>2</sub>** (20-40 ml / 100 l mléka nebo 10-20 g / 100 l mléka), promíchat
- nechat prokysat 30 – 40 min. při teplotě 30-33 °C (na kyselost mléka 8,0 až 8,5 SH nebo-li pH 6,2 až 6,5),
- mezitím proved'te stanovení syřitelnosti mléka a vypočítejte sílu syřidla, na základě výsledné hodnoty síly syřidla spočítejte **dávku syřidla**,
- přidáme vypočítané množství **syřidla**, rovnoměrně rozlijeme do mléka, dobře promícháme, ustálíme hladinu mléka,
- srážíme 40 min. v klidu při teplotě kolem 30-33 °C,
- vytvořený gel pokrájíme na 3 x 3 cm, necháme v klidu asi 3 minuty,
- přetahujeme sýřeninu asi 3 x po třech minutách,
- vzniklé zrno šetrně plníme do formiček tak, aby se příliš nerozbilo (syrovátka by měla být čirá),
- sýr otáčíme asi v 15 minutových intervalech 5x,
- necháme prokysat do druhého dne,
- druhý den osolíme, okořeníme a skladujeme při teplotě 8 °C.



- Vytvořený gel pokrájíme na 3 x 3 cm, necháme 3 minuty v klidu
- Přetahujeme sýřeninu asi třikrát po 3 minutách



Obrázek 10: Krájení sýřeniny při výrobě čerstvého sýru

Tabulka 29: Posouzení senzoričké kvality čerstvého sýru

Kritérium	Standardní jakost	Vadný
vzhled	pevný, celistvý, na řezu malé dírky, slabá kůra, ucelená, barva bílá až nažloutlá	nepravidelný povrch, popraskaný, množství dutin, vytékání syrovátky, změna barvy,
konzistence	pevná, na řezu s malými dutinkami, ojediněle trhlinky, mírně rozsypavá, mírně drolivá, roztíratelná	rozsypavá, pískovitá, drobivé těsto, tvarohovitá konzistence, gumovitá, tuhá, lepivá, nepevná, velký počet dírek,
chuť a vůně	chuť jemná, typicky mléčná, příjemně kyselá, bez cizích příchutí. Vůně jemná, lehce mléčně nakyslá, charakteristická	hodně kyselá, málo kyselá až sladká, kvasničná, mýdlovitá, hnilobná, štiplavá, hořká, žluklá, zatuchlá

**Poznámka:** Příklad formuláře pro sensorického hodnocení čerstvých sýrů je uveden v obr. 11

### Senzorická analýza sýrů (Šustová, 2012)

Jméno:  
Pohlaví:  
Věk:  
Zdravotní stav:  
Datum hodnocení:

U každého vzorku zaškrtněte odpovídající hodnocení na stupnici. Pokud naleznete vady, zaznačte je.

#### Vzhled

C. vzorku	vynikající	velmi dobrý	dobry	uspokojivý	ještě přijatelný	špatný	velmi špatný, vzbuzující odpor

Vady:  nerovnoměrné zbarvení  skvrnitost  okoralý  jiné vady .....

#### ✚ Konzistence – intenzita tvrdosti

C. vzorku	velice měkký	měkký	mírně měkká	středně tvrdý	tvrdší	tvrdý	velmi tvrdý

Vady:  mazlavá  drobivá  jímá .....

#### Vůně

C. vzorku	vynikající	velmi dobrá	dobrá	uspokojivá	ještě přijatelná	špatná	velmi špatná, odporná

Vady:  štiplavá  po kvasinkách  po plisních  zatuchlá  hnilobná  žluklá  jímá .....

#### Chuť

C. vzorku	vynikající	velmi dobrá	dobrá	uspokojivá	ještě přijatelná	špatná	velmi špatná, odporná

Vady:  hořká  po kvasinkách  po plisni  štiplavá  svíravá  zatuchlá  mýdlovitá  hnilobná  nečistá  žluklá  jímá .....

#### Chuť po kozím (ovčím) mléce

C. vzorku	neznatelná	nepatrně znatelná	velmi mírná, znatelná	příjemná, typická	silná	velmi silná	velice silná, až nepříjemná, odpudivá

#### Celkový dojem

C. vzorku	výborný	velmi dobrý	dobry	uspokojivý	ještě vyhovující	nepříliš vyhovující	nepříjemný, odpudivý

Obrázek 11: Příklad sensorického formuláře pro kategorii čerstvé sýry

### 7.15.1 Vady čerstvých sýrů

**Nepravidelný a neuzavřený povrch** – vzniká nedostatečným obracením.

**Velký počet dírek uvnitř** – velká dávka syřidla.

**Děrovaná konzistence těsta, nekompaktní, naduřelé, potrhané těsto** – špatná pasterace nebo kontaminace nedostatečně čištěným nádobím a nářadím např. koliformními bakteriemi.

**Pískovité a drobivé těsto** – rychlé a vysoké prokysávání sýřeniny při odkapávání za vysokých teplot.

**Nedostatečné prokysávání sýrů** – nízká teplota v sýrárně nebo při použití vadných zákysů.

**Hořká chuť** – nízká teplota při sýření, příliš pomalé a nedostatečné odkapávání syrovátky při nízké teplotě v sýrárně. Rovněž hořkou chuť může způsobit mléko dojnic krměných nevhodným krmivem.

**Žlutá chuť** – uložení sýrů při vysokých teplotách za přístupu světla.

**Olejovitá chuť** – vadné mléko nebo díky vysokému obsahu Fe a Cu v mléce.

**Kvasničná, zatuchlá chuť** – špatná pasterace mléka, špatné syřidlo, nečisté nářadí, nádoby, infikované zákysy.



## 8. ZAHUŠTĚNÉ VÝROBKY

Charakteristickým znakem této skupiny mléčných výrobků, které mají vyšší obsah sušiny, je výrazně prodloužena trvanlivost a to buď vytvořením hypertonického prostředí (přídavek cukru), nebo sterilizací finálního výrobku. Jakost a trvanlivost výrobků je závislá především na složení a kvalitě používaného mléka a jeho mikrobiologické jakosti. Kromě výrobků pro přímou spotřebu, v malospotřebitelském balení, se vyrábí zahuštěné mléko pro průmyslové zpracování.

Tabulka 30: Zahuštěné mléčné výrobky neslazené

Druh výrobku	Obsah tuku (v % hmot.)	Mléčná sušina (v % hmot. nejméně)	Mléčná sušina tukuprostá (v % hmot. nejméně)
Zahuštěná smetana	více než 15,0 včetně	26,5	11,5
Zahuštěné plnotučné mléko	více než 7,5 včetně	25,0	
Zahuštěné mléko částečně odtučněné v tom polotučné	1,0 až 7,5 4,0 až 4,5	20,0	17,5
Zahuštěné mléko odtučněné	méně než 1,0 včetně		

Tabulka 31: Zahuštěné mléčné výrobky slazené

Druh výrobku	Obsah tuku (v % hmot.)	Mléčná sušina (v % hmot. nejméně)	Mléčná sušina tukuprostá (v % hmot. nejméně)
Zahuštěná smetana	více než 16,0 včetně		14,0
Zahuštěné plnotučné mléko	více než 8,0 včetně	28,0	
Zahuštěné mléko částečně odtučněné v tom polotučné	méně než 8,0 až 1,0 4,0 až 4,5	24,0	20,0
Zahuštěné mléko odtučněné	méně než 1,0 včetně	24,0	20,0

### 8.1 Odběr a příprava vzorků

Vzorky se odebírají obdobně jako u tekutého mléka, pro dosažení homogenity je nutno intenzivněji míchat. Zejména je třeba se zaměřit na stěny a dno a dbát, aby se do výrobku nevnášel zbytečně vzduch. Z velkých kontejnerů nebo ze spotřebitelských balení o obsahu 2 až 4 kg se vzorky odebírají naběračkou. U malých balení se odebírají neotevřené vzorky

v takovém počtu, aby celková hmotnost byla nejméně 150 g, lépe 200 g. Obsahuje-li slazené zahuštěné mléko krystalky laktózy, resp. není-li vzorek homogenní, je to nutno uvést do protokolu. Vzorky se převedou do tak velkých vzorkovnic, aby bylo možno zajistit řádné promíchání obsahu před zkoušením. Výrobky v tubách se vytlačí také do uzavíratelné vzorkovnice, tuba se podélně rozřízne a obsah se co nejúplněji převede. Mléčné konzervy je možno uchovávat při pokojové teplotě, jinak se postupuje jako u mléka. Vzorky se nekonzervují. Neotevřený obal nebo vzorkovnice se u neslazeného mléka několikrát protřepe a převrátí. Po otevření se opakovaně přelévá, aby se i případné usazeniny (na stěně nebo na dně) homogenně rozmíchaly. U slazených mlék se míchá špachtlí, aby byly promíchány jak horní tak i spodní vrstvy. U starších výrobků je vhodné vzorky v obalu předem temperovat ve vodní lázni (max. 2 hodiny) a zhruba v 15 minutových intervalech protřepávat – u neslazených mlék při 40 až 60 °C, u slazených mlék při 30 až 40 °C.

## **8.2 Stanovení sušiny**

### **8.2.1 Referenční metoda**

#### a) Neslazená mléka

Navazují se 1 až 3 g vzorku (dle očekávané sušiny) a pracuje se podle postupu uvedeného u mléka.

#### b) Slazená mléka a výrobky

Navazují se 2 g vzorku do kelímku s 25 g předem vysušeného písku (shrnutého k jedné straně, vzorek se navažuje na volný prostor). Přidá se 5 ml vody a dále se postupuje jako u mléka s cca 30 minutovým předchozím odpařováním na vodní lázni.

### **8.2.2 Rutinní metoda**

Vzorky se suší jako u mléka přesně stanovenou dobu při  $102 \pm 2$  °C nebo při zvýšených teplotách. Doba sušení se zjistí srovnáním s referenční metodou.

## **8.3 Stanovení obsahu tuku**

**Postup práce:** navažuje se  $20 \pm 0,01$  g vzorku, přidá 50 ml cca 50 °C teplé vody, promíchá a po ochlazení na 20 °C doplní vodou na 100 ml v odměrné baňce. Dále se postupuje jako u mléka. Při pipetování 11 ml se odečtená hodnota násobí 5x.

**Poznámka:** je možno použít i varianty ředění 40 g + 60 g vody – výsledek se pak násobí 2,5x. Srovnání s referenční metodou je vždy nutné. U výrobku s přísadami (kakao apod.) se někdy

obtížně dosahuje konstantní odečet, po dalším odstředění se obsah tuku zvyšuje. Je proto nutno srovnáním s referenční metodou stanovit počet nutných odstředování.

#### 8.4 Stanovení titrační kyselosti

**Provedení:** navažuje se 20 g vzorku a doplní na 100 ml v odměrné baňce destilovanou vodou. Titrační kyselost se pak stanoví u 50 ml získaného roztoku (viz mléko), výsledek se přepočte na 100 g vzorku a vyjádří se buď v SH nebo v  $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

#### 8.5 Stanovení laktózy a sacharózy vedle sebe

**Princip:** rutinní metodou podle Finkeho se u slazených kondenzovaných mlék stanoví polarizace vyčiřeného roztoku a znovu po rozrušení laktózy pomocí CaO. Z hodnot obou polarizací možno spočítat podle vzorce obsah laktózy i sacharózy. Za dodržení podmínek metody uvedený vzorec pro výpočet již zahrnuje objemové korekce pro zahuštěné slazené mléko. Pro jiné výrobky je nutno korekce stanovit.

**Činidla:**

- octan sodný, vodný roztok (350 g v 1 litru),
- oxid vápenatý, pevný,
- kyselina sírová, zředěná 1 + 5 obj.,
- hydrogenfosforečnan disodný, nasycený roztok,
- 2 % ethanolový roztok fenolftaleinu.

**Postup práce:** 100g vzorků se po rozpuštění v 200 ml horké vody převede do 500 ml odměrné baňky a po ochlazení vyčeří 20 ml roztoku  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ . Po promíchání, následném vytemperování na 20 °C a doplnění po značku, se zfiltruje. Čirý filtrát se polarizuje ( $p_1$ ) na kruhovém polarimetru s Na-lampou v trubici délky 20 cm. Z čirého filtrátu se dále odměří 40 ml do odměrné baňky na 50 ml, přidá 0,75 g jemně rozetřeného CaO a 1 hodinu zahřívá ve vodní lázni při 75 až 80 °C. Tím se rozruší laktóza. Po rychlém ochlazení a přidavku 2 kapek fenolftaleinu se roztok neutralizuje do odbarvení (slabě kyselá reakce) zředěnou  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Pak se přidají 2 ml roztoku  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  a po promíchání 1 ml nasyceného roztoku  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , doplní po značku při 20 °C, promíchá a zfiltruje. Čirý filtrát se polarizuje ( $p_2$ ).

**Výpočet:**

$$\% \text{ laktózy} = \left[ p_1 \cdot 0,962 - \left( p_2 + \frac{p_2}{4} \right) \cdot 0,942 \right] \cdot 4,76 = (0,962p_1 - 1,1775p_2) \cdot 4,76$$

$$\% \text{ sacharózy} = \left( p_2 + \frac{p_2}{4} \right) \cdot 0,942 \cdot 3,75 = p_2 \cdot 4,416$$

**Poznámka:** vynechá-li se první polarizace  $p_1$ , je možno přímo z druhé polarizace  $p_2$ , provedené z filtrátu základního roztoku po rozrušení laktózy CaO, vypočítat obsah sacharózy v % ( $x = p_2 \cdot 4,416$ ). Tento postup je vhodný pro rutinní kontrolu obsahu sacharózy.

## 9. SUŠENÉ VÝROBKY

Sušené mléčné výrobky mají práškovitou konzistenci a vyrábí se ve dvou tržních druzích, a to pro přímou spotřebu a pro průmyslové zpracování. Podle charakteru výrobků rozeznáváme sušená mléka, sušené mléčné výrobky s chuťovými a výživnými přísadami (z nichž největší nároky na surovinu i vlastní technologii mají sušené mléčné výrobky pro kojeneckou a dětskou výživu) a mléčné krmné směsi.

Tabulka 32: Sušené mléčné výrobky

Druh výrobku	Obsah tuku (v % hmot.)
Sušená smetana	více než 42,0 včetně
Sušené plnotučné mléko	26,0 až 42,0
Sušené mléko částečně odtučněné v tom polotučné	více než 1,5 až 26,0 včetně 14,0 až 16,0
Sušené mléko odtučněné	méně než 1,5 včetně

### 9.1 Odběr a příprava vzorků

Malá spotřebitelská balení se odebírají neotevřená v takovém počtu, aby celková hmotnost vzorku byla nejméně 200 g. Z větších balení (pytlů apod.) se vzorky odebírají speciálními vzorkovači vhodné délky tak, aby pokud možno dosahovaly až ke dnu. Před odběrem se odhrne cca 10 cm povrchové vrstvy. Z velkých kontejnerů, příp. sil je třeba provádět vzorkování v průběhu plnění či vyprazdňování, aby se tak získal průměrný vzorek z celého množství. Vzorkovnice se naplní max. do tří čtvrtin. Při vzorkování je nutné zajistit, aby nedocházelo k vlhnutí vzorků, vzorkovnice musí být bezpečně uzavíratelné. Sušené mléčné výrobky je možno přepravovat a uschovávat při pokojové teplotě do započetí rozboru. Před analýzou se vzorky promíchají převrácením a protřásáním. Granulované výrobky je třeba nejdříve rozemlít a prosít sítem (0,5 mm mesh).

### 9.2 Stanovení obsahu vody

#### 9.2.1 Referenční metoda

**Princip:** obsah vody se stanoví sušením při teplotě  $87 \pm 2$  °C, při níž nedochází k porušení organických látek. Metody se používá pro všechny sušené mléčné výrobky.

**Pomůcky:** - skleněná váženka se zábrusem o průměru asi 5 cm.

**Postup práce:** prázdná váženka se hodinu předsouší v sušárně při  $87 \pm 2$  °C a po ochlazení se naváží s přesností 0,0001 g asi 3 g vzorku, stejnoměrně rozprostřeného na dně váženky.

Vzorek se suší 6 hodin a po půlhodinovém ochlazení v exikátoru zvaží. Sušení se ještě opakuje vždy hodinu při  $87 \pm 2$  °C až do nejnižší hmotnosti. V sušárně se smí současně sušit jen sušená mléka, nikoliv výrobky s vyšším obsahem vody.

**Výpočet:** obsah vody v % (x) se vypočte podle vzorce:

$$x = \frac{a \cdot 100}{n}$$

a - úbytek na hmotnosti sušením v g

n - navážka vzorku v g

### 9.2.2 Rutinní metoda

**Princip:** sušení probíhá při teplotě 130 °C šest minut. Metoda se používá při rychlém orientačním stanovení vlhkosti.

**Pomůcky:** - nerezová nebo Al miska s průměrem asi 10 cm.

**Provedení:** vzorek se odváží v množství 5 g na technických vahách. Suší se přesně 6 minut v sušárně, vyhřáté na 130 °C. Po pěti minutách chladnutí v exikátoru se vzorek zvaží.

Výpočet:

$$\% \text{ vlhkosti} = a \cdot 20$$

a - úbytek na hmotnosti v g

Výsledek se uvádí na jedno desetinné místo.

### 9.3 Stanovení obsahu tuku Gerberovou metodou

**Princip:** vzorek se rozruší kyselinou, uvolněný tuk se oddělí odstředěním a jeho objem se odečte na stupnici butyrometru.

**Pomůcky a chemikálie:**

- butyrometr pro sušené mléko dle ČSN 706679 nebo 257632,

- ostatní pomůcky a chemikálie viz stanovení tuku v mléce.

**Postup práce:** do butyrometru se napipetuje 10 ml Gerberovy kyseliny (viz mléko) a na ní se převrství 8,0 – 9,5 ml vody bez promíchání. Pak se naváží  $2,5 \pm 0,1$  g vzorku a pomocí nálevky s krátkým stonkem kvantitativně převede do butyrometru. Přidá se 1 ml amylalkoholu, zazátkuje, třepe do rozpuštění (za případného přihřátí ve vodní lázni na 65 °C, po dobu max. 30 min). Další postup viz mléko. Procento tuku se odečítá přímo na butyrometru. Pro zvláště přesná měření se uplatňují korekční členy. Shoda s referenční metodou bývá do 0,3 %. U některých sušených výrobců dochází při opakovaném odstředování k dalšímu zvyšování

obsahu tuku. Pak se volí uzanční postup podle srovnání prováděného s referenční metodou. Obvykle se odstřeďuje max. 3x.

## 9.4 Stanovení titrační kyselosti – referenční metody

### 9.4.1 Sušená mléka

**Princip:** podle ČSN se sušené mléko obnovuje rozpuštěním 13,50 g plnotučného, 12 g polotučného nebo 10 g odtučněného sušeného mléka rozmixováním (po dobu 90 s) s přidavkem 100 ml 24 °C teplé vody nebo ručně s přidavkem skleněných perel. Pak se odpipetuje 50 ml a dále se postupuje jako u mléka.

#### Poznámky:

1) Podle IDF 86:1981 se navažuje s odečtem na 0,01 g takové množství, které odpovídá:  $500/(\% \text{ sušiny} - \% \text{ tuku})$  sušeného mléka. K tomu se přidá 50 ml vody, silně třepe a nechá 20 min. stát. Za míchání magnetickým míchadlem se titruje roztokem NaOH ( $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ ) za použití pH-metru do hodnoty pH 8,4 s výdrží 5 sekund a za přívodu dusíku k zabránění absorpce CO<sub>2</sub> ze vzduchu. Titrace se má provést do 1 min. Výsledek se vyjádří jako ml NaOH ( $c = 0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ ), spotřebované při titraci obnoveného mléka, jehož sušina tukuprostá je 10 g. Výsledek titrace se násobí 2x.

2) Podle IDF 81:1981 se pro rutinní stanovení titruje za přidavku 2 ml 2% fenolftaleinu do zabarvení srovnávacího roztoku vzorku s přidavkem 2 ml roztoku CoSO<sub>4</sub> · 2 H<sub>2</sub>O (3 g ve 100 ml), kdy zabarvení vydrží 5 sekund.

### 9.4.2 Sušené mléčné výrobky s přísadami

**Postup:** navažuje se 5 g vzorku s přesností na 0,01 g, přidá se 35 ml vody a 1 ml roztoku 2 % fenolftaleinu. Titruje se odměrným roztokem NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol. l}^{-1}$ ). U barevných výrobků se titruje (za použití pH-metru a míchání) do pH 8,4 či do hodnoty určené v jakostní normě. Výsledek se uvádí v přepočtu na 100 g výrobku v ml roztoku NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol. l}^{-1}$ ) nebo zejména u krmných směsí se použije vyjádření v látkovém obsahu kyselin v mmol.kg<sup>-1</sup>.

#### Výpočet:

$$x = a \cdot f \cdot 20$$

a - spotřeba roztoku NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol. l}^{-1}$ ) v ml

f – faktor roztoku NaOH ( $c = 0,25 \text{ mol. l}^{-1}$ )

## 9.5 Stanovení nečistot

### 9.5.1 Stanovení připálených částic a jiných nečistot filtrací

**Princip:** podstatou metody je filtrace vzorku, obnoveného za podmínek metody, přes filtrační kotouč a vizuální porovnání zaschlého kotouče se standardy pro připálené částice a vizuální posouzení zabarvení, případně mikroskopické rozlišení.

**Provedení:** obnovení s vodou se provede podle tab. 33.

Tabulka 33: Obnovení sušeného mléka vodou

Obnovení sušeného mléka	podle ČSN 450 ml vody (30 °C)	podle ADMI 250 ml vody
Plnotučného	65 g	sprejové: 32,5 g válcové: 22,0 g <sup>x</sup> )
Polotučného	50 g	sprejové: 25,0 g
Odtučněného	50 g	válcové: 17,0 g <sup>x</sup> )
Doba mixování	90 s	60 s (po vysypání prášku do vody se přidá 0,5 ml diglykollaurátu S)

<sup>x</sup>) místo vody se použije 2 % roztok hexametafosfátu 80 °C teplý a mixuje se 30 s.

Obnovená mléka se filtrují přes předepsaný filtrační kotouč (dle ČSN Ø 2,6 cm, dle ADMI Ø 3,18 cm), umístěný ve filtračním přístroji. Stěny se oplachují 50 ml vody, u válcově sušených výrobků 250 ml. Zaschlé filtry se porovnávají se standardy. Velikost znečištění se hodnotí:

a) podle ČSN

- I. žádné, či nepatrné znečištění - vhodné pro dětskou výživu,
- II. mírné znečištění – přímá spotřeba
- III. silné znečištění – nevyhovující

b) ADMI používá hodnocení: A = 15 mg, B = 25 mg, C = 35 mg, D => 35 mg nečistot – připálených částic. Druh nečistot je hodnocen podle fotografií či speciálně připravených standardů.

**Poznámky:** 1) Filtry se suší při 30 – 40 °C v bezprašné atmosféře (podle ADMI).

2) ADMI uvádí též obnovení pro sušené podmásli: 17 g + 300 ml 10 % (hm./obj.) roztoku Chelatonu III, teplého 80 – 85 °C mixovat 10 s, pak přidat dalších 200 ml roztoku a mixovat 45 s. V některých zemích používají k usnadnění filtrace sušených výrobků např. roztoky 3 % šřavelanu sodného či 2 % citrátu sodného.



### 9.5.2 Stanovení nečistot sedimentací

**Princip:** nečistoty z obnoveného mléka sedimentují na dně nádoby. Používá se při hodnocení jakosti mléka, sušeného na válkách. Metoda sedimentační je u tohoto typu mléka výhodnější než metoda filtrační (zanášení filtru).

**Pomůcky:** kádinka z bezbarvého skla, o obsahu 600 ml a průměru asi 70 mm.

**Provedení:** sušené mléko plnotučné se obnoví z 32,5 g prášku + 225 ml vody 50 °C teplé. Sušené mléko odstředěné se obnoví z 25 g prášku + 225 ml vody 50 °C teplé. Obnovené mléko se nechá stát přikryté v kádince 5 hodin a sediment se posuzuje případně mikroskopuje (pokud chceme určit druh nečistoty).

### 9.6 Stanovení disperzibility sušených mlék

**Princip:** disperzibilita prášku ve vodě je schopnost prášku rozdělit se na části, které projdou sítím. Instatní sušené plnotučné mléko nebo sušené odstředěné mléko by disperzibilitu nemělo mít nižší než 85%, resp. 90%.

**Pomůcky:** váhy, citlivost 0,1 g a analytické váhy, citlivost 0,1 mg; kádinka 600 ml; plastová deska 120x120 mm; skleněná rourka (vnitřní průměr 75 mm, výška 65 mm); stojan a držák k upevnění skleněné rourky; lžička (špachtle); stopky; zkušební kovové síto – průměr 200mm, vzdálenost ok 150 µm; Erlenmayerova baňka 250 ml se zátkou; skleněná nálevka.

**Postup:** zjistí se obsah vody v sušeném mléce dle pracovního postupu 9.2.1. Do suché kádinky se odměří 250 ml vody o teplotě 25 °C (je nutné dbát na to, aby okraj nad vodní hladinou zůstal suchý). Kádinka se dá ke stojanu, položí se na ni plastová deska a nad desku se upevní skleněná rourka. Rourka se upevní tak, aby byla ve středu kádinky a aby se deska dala bez obtíží vytáhnout. Odváží se 34g sušeného plnotučného mléka nebo 26 g sušeného odstředěného mléka. Mléko se dá do skleněné rourky a rovnoměrně rozdělí špachtlí. Stisknou se stopky. Současně se odstraní deska. Odstranění desky se musí provést jemným rovnoměrným pohybem a musí být ukončeno po 2,5 sekundách.

Kádinka se odebere ze stojanu a špachtle se ponoří do kádinky tak, aby se dotkla dna, když stopky ukážou 5 sekund. Během následujících 5 sekund se obsah kádinky míchá špachtlí. Jedno dokonalé zamíchání trvá 1 sekundu, tzn. jeden klidný a nepřetržitý pohyb špachtlí tam a sem přes průměr kádinky vyžaduje 1 sekundu. Spodní hrana špachtle je nepřetržitě ve styku se dnem kádinky. Na konci každé poloviny míchaného pohybu se lehce odkloní od stěny kádinky. Tím je shlukování rychle smočitelných částic sníženo na minimum. Tímto způsobem se míchá bez přerušení 15 sekund, přičemž je špachtle držena stále ve svislé

poloze. Během 20ti míchaných pohybů (tj. během 20 sekund) se musí kádinkou jedenkrát dokonale otočit kolem její osy (360°).

Kádinka se nechá 30 sekund stát, tzn. dokud stopky neukáží 55 sekund. Část tekutého vzorku se opatrně přelije přes zkušební kovové síto, aniž by se zvířil sediment a v kádince zůstalo cca 150 ml vzorku. Síto se nesmí během filtrace naklánět ani pohybovat. Používá se vlhké síto, které bylo osušeno utěrkou, aby se odstranila přebytečná voda. Filtrace se provádí do suché a čisté sběrné nádoby 30 sekund. Po počátku filtrace (tj. po 1 min a 25 sekundách na stopkách) se obsah sběrné nádoby přelije do Erlenmeyerovy baňky a uzavře zátkou. Obsah baňky se důkladně promíchá. Dvojmo se provede stanovení obsahu sušiny tekutého vzorku dle pracovního postupu 9.2.1. Průměr hodnot těchto stanovení (zaokrouhlen na desetinu g), se označí jako celková sušina.

#### **Výpočet:**

- pro instantní odstředěné sušené mléko:  $D = S \times 962 / [100 - (W + S)]$
- pro instantní plnotučné sušené mléko:  $D = S \times 735 / [100 - (W + S)]$

D - disperzibilita v %

S - sušina tekutého vzorku v %

W - zbytková vlhkost sušeného mléka v %

Test se provádí dvojmo, výsledky se zaokrouhlí na celé procento.

Opakovatelnost: v případě, že rozdíl mezi oběma testy je vyšší jak 4%, je stanovení neplatné.

### **9.7 Stanovení sypné hmotnosti**

**Princip:** u sušených výrobků se stanoví sypná hmotnost "volně sypaná", sypná hmotnost "volně sklepaná" a sypná hmotnost "sklepaná". Nejlépe reprodukovatelná je sypná hmotnost sklepaná. Stanovení má význam pro určování velikosti obalů.

Ke stanovení je podle metodiky vhodný kovový válec o objemu přesně 100 cm<sup>3</sup> (průměr 42 mm, výška 72 mm), opatřený snímatelným nástavcem výšky 60 mm, který výškou 25 mm zapadá z vnější strany do zářezu spodního válce a tak tvoří násypku.

#### **9.7.1 Volně sypaná hmotnost**

**Provedení:** do násypky se volně nasype sušený výrobek, nástavec se odejme a povrch prášku zarovná hladce s okrajem spodního válce. Potom se válec se vzorkem zváží (b). Hmotnost válce

bez vzorku je (a). Je možno pracovat i s jiným objemem než 100 cm<sup>3</sup>, musí však být proměřen až po rovný okraj (objem V). Hmotnost se vyjádří v g, objem v cm<sup>3</sup>.

#### **Výpočet:**

– hmotnost volně nasypného prášku =  $\frac{b-a}{V}$ , v g. cm<sup>-3</sup> (či násobením 1000 v kg. m<sup>-3</sup>).

#### **9.7.2 Sypná hmotnost volně sklepaného prášku**

Po provedení postupu dle 9.7.1. se znovu nasadí násypka a naplní vzorkem. Plný válec se 10x mírným poklepem sklepává a po jednotlivém poklepu otáčí o 0,1 obvodu. Nástavec se sejme a další postup je stejný jako dle 9.7.1.

#### **9.7.3 Sypná hmotnost sklepaná**

Provádí se po opětovném naplnění násypky dle 9.7.2. a dalším sklepaním 90x (celkem tedy 100 poklepů). Počet poklepů je možno ještě zvýšit (např. až na celkem 1250), musí se však k výsledku uvést celkový počet poklepů.

#### **9.8 Specifický objem sušených výrobků**

Na základě vypočtených hodnot pro různé sypané hmotnosti je pak možno pro potřeby praxe vypočítat specifický objem (V<sub>s</sub>).

$$V_s = \frac{100}{\text{změřená sypná hmotnost}}, \text{ pro 100 g objem v cm}^3$$

## 10. MRAŽENÉ KRÉMY

Mraženým krémem se rozumí výrobek získaný zmrazením a našleháním pasterované a homogenizované základní směsi pod tlakem. Základní směs je sestavena ze smetany, mléka, mléčného nebo rostlinného tuku, vody, vajec, ovoce, přídatných látek a látek určených k ochucení a aromatizaci.

Tabulka 34: Fyzikální a chemické požadavky na jakost mražených krémů

Druh	Celková sušina (v % hmot. nejméně)	Tukuprostá mléčná sušina (v % hmot. nejméně)	Mléčný tuk (v % hmot. nejméně)	Ovocná složka (v % hmot. nejméně)	Suché skořápkové plody (v % hmot. nejméně)
Mražený krém smetanový			8,0		
Mražený krém mléčný		6,0	2,5		
Mražený krém s rostlinným tukem			5,0 *)		
Mražený krém vodový	12,0				
Mražený krém ovocný	12,0			15,0	5,0
Mražený sorbet	12,0			25,0	7,0

\*) obsah rostlinného tuku

**Poznámka:** u mraženého krému ovocného a mraženého krému sorbet platí v závislosti na použité ochucující složce požadavek pro obsah ovocné složky nebo pro obsah suchých skořápkových plodů

### 10.1 Odběr vzorků

K odběru vzorků se používají dostatečně dlouhé nebozezy tak, aby dosáhly na dno obalu s výrobkem. Používají se také špachtle nebo porcováče zmrzliny. Odběr vzorků se provádí při teplotě -12 až -18 °C. Pokud je konzistence příliš tuhá, odebere se celé balení jako vzorek. Minimální množství odebraného vzorku musí činit 100 g. Jednosložkové vzorky se rozřežou na kousky, vloží do vzorkovnice a temperují ve vodní lázni na teplotu ne vyšší než 12 °C. Je možné výrobek rozmixovat, aby vznikla homogenní konzistence. Nesmí přitom dojít k napěnění nebo stlučení tuku. Vícesložkové výrobky se analyzují celé nebo se oddělí jednotlivé složky. Pokud mají výrobky polevu, tak se poleva odstraňuje.

## 10.2 Smyslové požadavky

**Balení:** obal čistý, uzavírající celý výrobek, řádně označený.

**Vzhled a barva:** tvar pravidelný, odpovídající svou intenzitou použitým surovinám, prolínání u vícebarevných směsí není na závadu.

## 10.3 Stanovení sušiny

### 10.3.1 Referenční metodou

**Pracovní postup:** naváží se 3 g vzorku, přidají se 3 – 5 ml vody pro snadnější promíchání a odpařování. Dále se postupuje jako u zahuštěného slazeného mléka viz čl. 9.2.1

### 10.3.2 Metodou s regulovaným infraohřevem

**Princip:** stanovení se provádí na analytických vahách s vestavěným infrazářičem. Na tomto zařízení lze volit sušení buď do konstantní hmotnosti nebo určit dobu sušení. Podmínky sušení se naprogramují předem.

**Postup měření:** navažuje se 0,7 – 0,9 g vzorku tekutého mraženého krému. Doporučená teplota sušení do konstantní hmotnosti je 100 – 120 °C asi 15 minut.

## 10.4 Stanovení obsahu tuku acidobutyrometricky (provozní metoda)

**Pomůcky:** analytické váhy, odstředivka, vodní lázeň, automatická 10 ml pipeta na H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, automatická 1ml pipeta na amylalkohol, butyrometr na mléko, Gerberova kyselina o hustotě 1,816 ± 0,004 g.ml<sup>-1</sup> (90,4 ± 0,8 %), amylalkohol.

**Postup práce:** do butyrometru na mléko se odměří 10 ml Gerberovy H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Naváží se 3 až 5 g vzorku mraženého krému, doplní se vodou na celkový obsah 11 g, přidá se 1 ml amylalkoholu. Butyrometr se zazátkuje, protřepe a odstředí.

**Výpočet:**

$$\% \text{ tuku} = \frac{\text{odečet na butyrometru} \cdot 11}{\text{navážka vzorku v gramech}}$$

## 10.5 Stanovení kyselosti titrační metodou

**Postup práce:** postupuje se stejně jako u mléka. Naváží se 25 g tekutého vzorku, do kterého se přidá 75 ml vody a 2 ml fenolftaleinu. Titruje se roztokem NaOH (c = 0,25 mol.l<sup>-1</sup>) do slabě růžového zbarvení, které musí vydržet 1 minutu a spotřeba roztoku NaOH se vynásobí 4. U barevných vzorků je vhodnější měření aktivní kyselosti pH metrem do 8,4.

## 10.6 Stanovení procenta našlehaní

**Princip metody:** při stanovení procenta našlehaní se porovnává hmotnost stejného objemu směsi a našlehaného výrobku.

**Postup práce:** zvážíme porcelánový kelímek nebo kádinku bez výlevky. Dále se zvážením určí hmotnost nenašlehaného vzorku naplněného do roviny okraje kelímku ( $A$ ). Stejným způsobem se stanoví hmotnost našlehaného vzorku ( $B$ ). Pěna se naplní přes okraj kelímku a rovným nožem seřízne podle okraje.

$$\% \text{ nášlehu} = \frac{A - B}{B} \cdot 100$$

**Poznámka:** je-li znám objem kelímku ( $V$ ) a je-li známa skutečná hustota nenašlehaného výrobku ( $d$ ), pak místo vážení nenašlehaného vzorku je možno hmotnost ( $A$ ) vypočítat ze vztahu  $A = V \cdot d$ . Tento způsob je vhodný pro rychlou mezioperační kontrolu.

## 11. HODNOCENÍ MIKROBIOLOGICKÉ KVALITY

Jednoduché orientační metody na hodnocení mikrobiologické kvality mléka a mléčných výrobků jsou vhodné jak na posuzování a zajišťování jakosti syrového mléka jako suroviny, tak i ke kontrole předepsaných technologických postupů, dodržování hygienických zásad při výrobě, příp. i k posuzování zdravotní nezávadnosti mléka.

### 11.1 Odběr vzorků pro mikrobiologické vyšetření

Odběr vzorků musí být proveden za aseptických podmínek. Pomůcky pro odběr vzorků a vzorkovnice musí být sterilní, vyrobené z nerez oceli, skla nebo plastu na jednorázové použití. Vzorky musí být přepravovány vychlazené alespoň na 6 °C, aby při přepravě nedošlo k pomnožení mikrobů.

Sterilizace se provádí:

1. působením horkého vzduchu v horkovzdušném sterilizátoru 2 hodiny při teplotě 180 °C;
2. působením páry při teplotě  $121 \pm 1$  °C v autoklávu nejméně 20 min., sterilizované pomůcky musí být pro odběr před použitím sterilně uchovány;
3. sterilizace náčiní pro odběr vzorků se provede ožehnutím nad plamenem;
4. pro sterilizaci pracovních ploch i náčiní se může použít nejméně 70 % ethanol;
5. sterilizace opálením za použití 96 % ethanolu;
6. vystavení  $\gamma$ -záření.

### 11.2 Weinzirlův test

Sporulující mikroorganismy (aerobní rodu *Bacillus* i anaerobní rodu *Clostridium*), které jsou velmi odolné nejen vůči pasterizaci, sušení příp. zmrazování, ale i vůči běžným metodám dezinfekce, představují jak zdravotně, tak i technologicky rizikové mikroorganismy. Přítomnost anaerobních sporulátů je riziková zejména u dlouhozrajících sýrů, UHT výrobků a zahuštěných mlék.

**Princip:** po záhřevu mléka na 85 až 95 °C se zničí vegetativní formy mikroorganismů. Anaerobní sporulující mikroorganismy je pak možno stanovit Weinzirlovým testem.

**Postup práce:** do sterilní zkumavky se nalije 10 ml zkoušeného mléka a zalije se asi 2 ml rozehřátého sterilního parafínu. Vegetativní formy se inaktivují záhřevem vzorku ve vodní lázni při 85 °C po dobu 10 min. Po vychlazení se zkumavky inkubují při 37 °C 4 dny. Sleduje se tvorba plynu (vytlačování parafinové zátky) a proteolýza (sražení mléka a pozdější peptonizace – rozpouštění sražených bílkovin).

**Poznámka:** při vysoké kontaminaci mléka je vhodné zjistit přibližně i počty mikroorganismů. Zkoušený vzorek se postupně ředí 1+9 sterilním mlékem (desítkové ředění) a stanoví pak nejvyšší ještě pozitivní ředění – tzv. titr.

### 11.3 Kvasná zkouška

**Princip:** v závislosti na počtu a zastoupení mikroorganismů v mléce dojde po inkubaci vzorku při vhodné teplotě k růstu přítomné mikroflóry a změnám jeho konzistence. Podle charakteru sraženiny lze usuzovat na převládající zastoupení mikroorganismů a tím související vhodnost mléka ke zpracování.

**Postup práce:** do sterilní zkumavky se odlije 10 – 15 ml zkoušeného mléka a inkubuje se 24 hodin při teplotě 37 °C. Po této době se posuzuje vzniklá sraženina podle tab. 35.

Tabulka 35: Vyhodnocení kvasné zkoušky

Třída	Označení Jakost	Vzhled sraženiny Pravděpodobná mikroflóra
I.	Sr <sub>1</sub> Výborná	dokonale čistá sraženina, převaha bakterií mléčného kysání
	Sr <sub>2</sub> Dobrá	1-2 plynové bublinky, slabá kontaminace plynotvornými bakteriemi
	Pe <sub>1</sub> Dobrá	peptonizace asi do 0,5 cm, slabá kontaminace peptonizačními bakteriemi
II.	Sr <sub>3</sub> Méně vhodná	více plynových bublinek, silnější kontaminace plynotvornými bakteriemi
	Pe <sub>2</sub> Méně vhodná	peptonizace asi do 1 cm výšky, silnější kontaminace peptonizačními bakteriemi
	Kz <sub>1</sub> Méně vhodná	více plynových bublinek a peptonizace do 1 cm, slabá kontaminace peptonizačními a plynotvornými bakteriemi
III.	Pe <sub>3</sub> Nevhodná	silná peptonizace a kontaminace peptonizujícími mikroorganismy
	Kz <sub>2</sub> Nevhodná	značná tvorba plynových bublinek, potrhaná sraženina a peptonizace nad 1 cm, značná kontaminace plynotvorných a peptonizačních bakterií
	Kz <sub>3</sub> Nevhodná	silná tvorba plynových bublinek, potrhaná sraženina, silná peptonizace, velmi silná kontaminace plynotvorných a peptonizačních bakterií
	Duř <sub>1</sub> Nevhodná	duření plynotvornými bakteriemi, silná kontaminace plynotvornými bakteriemi
	Duř <sub>2</sub> Závadná	duření plynotvornými bakteriemi a bakteriemi máselného kvašení
	Duř <sub>3</sub> Závadná	silné duření plynotvornými bakteriemi a bakteriemi máselného kvašení
	Nesraženo	pokud se syrové mléko nesrazí jsou přítomny inhibiční látky

Význam zkratk: Sr – sraženina, Pe – peptonizace, Duř – duření, Kz – peptonizace za tvorby plynu



## 11.4 Mikroskopické určení druhu a složení mikroflóry ve vzorku

**Princip:** mikroskopicky se zjišťuje tvar, velikost, orientační určení čeledí nebo rodů. Metoda se používá k zjištění relativní četnosti jednotlivých morfologických typů. U kysaných mléčných výrobků se sleduje čistota kultur, poměr zastoupení jednotlivých mikroorganismů a množství případných kontaminujících mikrobů. Sleduje se vitalita mlékařských kultur a zjišťuje se četnost involučních a degenerativních forem.

## 11.5 Kultivační vyšetření

### 11.5.1 Stanovení počtu mikroorganismů na agarových živných půdách plotnovou metodou

**Princip:** metoda spočívá v naočkování tekutého nebo ředěného vzorku do agarové živné půdy. Vzorky se ředí proto, aby vyrostlé kolonie byly dobře izolované a počitatelné.

#### Ředění:

I. ředění ( $10^{-1}$ , 1:10) je základní, a pro přípravu dalších ředění

II. ředění ( $10^{-2}$ , 1:100) se připraví tak, že se 1 ml I. ředění převede do 9 ml sterilního fyziologického roztoku.

Bakteriologická zkumavka je uzavřena vatovou zátkou nebo u zkumavek se zábrusem kovovou zátkou.

Další ředění se připraví stejným postupem jako u předcházejícího. Před odběrem nižšího ředění je nutné pro přípravu vyššího ředění zkumavku promíchat úhozy o dlaň tak, aby se nesmočila vatová zátka. Tím se dosáhne stejnoměrného rozptýlení mikroorganismů. Počet ředění se řídí nejvyšším počtem nejčteněji prokazovaných mikrobů.

#### 11.5.1.1 Stanovení počtu koliformních bakterií

**Princip:** koliformní bakterie jsou gramnegativní tyčinky, fakultativně anaerobní. Rozkládají laktózu a tvoří kyseliny a plyn. V mléce a mléčných výrobcích se vyskytují druhy *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* a *Klebsiella pneumoniae*. Jedná se o bakterie, které jsou součástí střevní mikroflóry člověka i hospodářských zvířat. Vyskytují se také v přírodě. Koliformní bakterie jsou termolabilní. Pokud se vyskytují v pasterovaném mléce nebo v mlékárenských výrobcích, signalizují buď nedostatečný pasterační záhřev nebo následnou kontaminaci způsobenou nedokonalou hygienou práce a sanitací. Koliformní bakterie se počítají v pevné selektivní půdě (např. VČŽL). Inkubace při teplotě 30, 35 nebo 37 °C po dobu 24 hodin. Teplota 30 °C se používá pro účely technologické, teplota 35 nebo 37 °C se používá pro stanovení v souvislosti s ochranou veřejného zdraví.

- Pomůcky:**
- termostat – udržující teplota  $30 \pm 1$  °C,
  - Petriho misky – sterilní skleněné nebo jednorázové plastové,
  - pipety dělené – sterilní,
  - živná půda,
  - fyziologický roztok – sterilní (autokláv 121 °C 15 min.), pH roztoku  $7,0 \pm 0,2$  při 25 °C,
  - pipety mikrobiologické – 1 ml,
  - zařízení pro počítání kolonií – osvětlená deska a mechanický nebo elektronický digitální počítač,
  - pevná agarová půda: agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a laktózou,
  - sterilní fyziologický roztok,
  - bakteriologické zkumavky.

**Pracovní postup:** nejprve se připraví příslušné ředění pro určitý výrobek. Současně se očkuje na dvě Petriho misky, které jsou označeny pořadím vzorku, ředěním podle záznamu v laboratorním deníku. Množství inokula je 1 ml. Na každé ředění se bere nová sterilní pipeta. Inokulum se v Petriho miskách zalije agarovou půdou, která je rozvařená a zchlazená na 45 °C. Směs se pečlivě promíchá a po ztuhnutí se misky otočí dnem vzhůru a inkubují v termostatu. Po inkubaci se spočítají fialově červené kolonie koliformních bakterií o průměru 0,5 mm nebo větší někdy obklopené červenavou zónou precipitované žluči. K dobré detekci by na plotně mělo být 15 až 150 kolonií. Vyjádří se počtem v 1 g nebo 1 ml vzorku.

#### **11.5.1.2 Stanovení celkového počtu mezofilních a fakultativně anaerobních mikroorganismů**

**Princip:** technika počítání kolonií kultivovaných při 30 °C.

- Pomůcky:**
- termostat – udržující teplotě  $30 \pm 1$  °C,
  - Petriho misky – sterilní skleněné nebo jednorázové plastové,
  - pipety dělené – sterilní,
  - agarová selektivní půda (např. GTK),
  - fyziologický roztok – sterilní (autokláv 121 °C 15 min.), pH roztoku  $7,0 \pm 0,2$  při 25 °C.

**Pracovní postup:** do Petriho misek se očkuje dvojmo 1 ml vzorku nebo jeho ředění. Inokulum se zalije živnou půdou, která je rozvařená a ochlazená přibližně na 45 °C Směs se dokonale promíchá kroužením misky na provozním stole. Po utuhnutí se misky inkubují v termostatu

vyhřátém na 30 °C po dobu 72 hodin. Po inkubaci se počítají všechny vyrostlé kolonie a vypočte se množství mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů v 1 g nebo 1 ml vzorku.

### 11.5.1.3 Stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů

**Princip:** psychrotrofní mikroorganismy rostou v rozmezí teplot 0 až 15 °C, jsou ukazatelem dodržování předepsaných chladících teplot v zemědělské prvovýrobě, hygieně práce a sanitaci. Rovněž v mlékárenské výrobě je třeba dodržovat podmínky chlazení mezi technologickými operacemi, dbát na úroveň sanitace.

**a) Kultivační metoda** je založená na schopnosti psychrotrofních mikroorganismů vytvářet kolonie při kultivaci 6,5 °C po dobu 10 dnů.

**Pomůcky:**

- termostat – udržující teplotu 6,5 °C, popř. 21 °C,
- Petriho misky –sterilní skleněné nebo jednorázové plastové,
- pipety dělené – sterilní,
- živná půda (např. GTK),
- fyziologický roztok – sterilní (autokláv 121 °C 15 min.), pH roztoku  $7,0 \pm 0,2$  při 25 °C.

**Pracovní postup:** vzorek se dobře promíchá a podle předpokládaného počtu mikroorganismů se připraví ředění. Jako ředící roztok se používá fyziologický roztok. Ředění se napipetuje na Petriho misky dvojmo a zalije kultivačním médiem (např. živná půda GTK). Obsah misek se promíchá. Po ztuhnutí agarové živné půdy se Petriho misky kultivují při 6,5 °C po dobu 10 dnů. Po skončení kultivace se počítají všechny vyrostlé kolonie. Při vyhodnocení je třeba přihlídnout ke způsobu očkování. Lépe je očkovat na povrch média než zalévání agarovou půdou, protože některé psychrotrofní mikroorganismy mohou být poškozeny teplou agarovou půdou.

**b) Zkrácená metoda** stanovení psychrotrofních organismů je založena na schopnosti psychrotrofních organismů vytvářet kolonie při 21 °C za 25 hodin. Po skončení kultivace se počítají všechny vyrostlé kolonie bakterií, plísní a kvasinek.

**Pracovní postup:** je stejný jako u výše uvedené metody, stejně jako vyhodnocení výsledků.

#### 11.5.1.4 Stanovení počtu kvasinek a plísní

**Princip:** v mlékárenské výrobě se uplatňují kvasinky a plísně ve formě čistých mlékařských kultur pro výrobu zakysaných výrobků a sýrů. Kontaminující kvasinky a plísně však mohou způsobit znehodnocení mlékárenského výrobku. Spory kvasinek a plísní nejsou termorezistentní a nepřežijí ani krátkodobý záhřev na teplotu vyšší než 60 °C. Pasteračním ohřevem jsou tyto organizmy inaktivovány. Do mlékárenských výrobků se mohou dostat kontaminací při mlékárenské výrobě z nedokonale čistého výrobního zařízení nebo provozního prostředí. Vážný hygienický problém u mlékárenských výrobků způsobuje kontaminace mykotoxiny.

Kvasinky a plísně jsou mikroorganismy tvořící kolonie na příslušném selektivním médiu za podmínek stanovených metodou (např. GKCH agar).

**Postup stanovení:** 1 ml vzorku nebo jeho ředění se očkuje dvojmo na Petriho misky a zalévá agarovou půdou s kvasničným extraktem, glukózou a chloramfenikolem. Miska s agarem a vzorkem se inkubuje aerobně při 25 °C po dobu 5 dnů. První odečet se provádí po 3 dnech, druhý po 5 dnech. Pro stanovení se použije miska, kde narostlo 15 až 150 kolonií kvasinek a 5 až 50 kolonií plísní.

#### 11.5.1.5 Stanovení anaerobních mikroorganismů

**Princip:** anaerobní mikroorganismy rostou v nepřítomnosti vzduchu. K těmto mikroorganismům patří také fakultativně anaerobní mikroby, které jsou schopné růst za přítomnosti i nepřítomnosti kyslíku. V mlékárenské výrobě se jako kontaminující mikroorganismy mohou vyskytovat např. enterobakterie, enterokoky, stafylokoky a *Bacillus cereus*, dále zvláště nebezpečné druhy rodu *Clostridium*, které způsobují duření sýrů. Anaerobní mikroorganismy způsobují znehodnocení jakosti v hermeticky uzavřených výrobcích.

Pro kultivaci mikroorganismů v anaerobních podmínkách je nutné odstranit kyslík z kultivačních médií a zamezit jeho difúzi zpět do médií během kultivace. To se provádí např. pomocí anaerostatů (uzavřená nádoba se speciální náplní odstraňující kyslík).

#### 11.5.1.6 Stanovení mezofilních anaerobních mikroorganismů

**Pomůcky:**

- termostat, vodní lázeň,
- živné půdy: může se použít.

a) buď sterilní odstředěné mléko, obnovené sušené tj. 100 g sušeného odstředěného mléka + 900 ml vody sterilované 3 dny po sobě 20 minut při 100 °C (odstředěné mléko je po 10 ml

rozlité ve zkumavkách nebo po 100 ml v Erlenmayerových baňkách). Po ukončení sterilace se vyzkouší sterilita inkubací 3 dny při 30 °C;

b) nebo želatinový agar pro anaerobní bakterie

**Postup:** agarová půda ve zkumavkách se před očkováním rozvaří a následně zchladí na teplotu 40 – 45 °C. Do takto připravené živné půdy se očkuje 1 ml vzorku nebo jeho vhodné ředění. Směs se promísí. Živná půda s naočkovaným vzorkem se převrství 1 cm silnou vrstvou sterilního rozežhátého parafínu. Zkumavky se inaktivují 10 minut při 85 °C ve vodní lázni. Počet zkumavek naočkovaných z každého ředění se volí buď podle potřeby jen ke zjištění přítomnosti anaerobních sporulátů anebo ke stanovení jejich počtu. Pokud se jedná pouze o zjištění přítomnosti sporulátů rostoucích za anaerobních podmínek, očkuje se do 2 zkumavek po 1 ml základního ředění. Pokud chceme zjistit počty anaerobních sporulátů, pak se očkují 3 ředění jdoucí za sebou. Výše ředění se řídí povoleným počtem sporulátů rostoucích za anaerobních podmínek dle vyhlášky o mikrobiologických požadavcích č. 294/97 Sb. Zkumavky se inkubují 5 dnů při 37 °C.

**Vyhodnocení:** za pozitivní se posuzují při použití živného agaru zkumavky, ve kterých vyrostly kolonie mikrobů. Rovněž se přihlíží k tvorbě plynu a změně barvy živné půdy. Pokud jako živné médium bylo použito odstředěné mléko, pak jsou pozitivní zkumavky, ve kterých došlo ke koagulaci nebo peptonizaci mléka (mléko se odbarví, je průsvitné, na dně se tvoří sraženiny). Také se posuzuje tvorba plynu. Při vyhodnocení výsledků přítomnosti sporulujících mikrobů rostoucích za anaerobních podmínek se hodnotí kladný výsledek zkoušky. Kromě toho se poznamená případná přítomnost plynotvorných mikrobů. Pokud byl použit glukózový agar jako živné médium, pak lze odhadnout počet mikrobů v 1 ml nebo 1 g vzorku.

### 11.5.2 Mikrobiologické vyšetření pomocí mikrobitestů

**Princip:** na proužek papíru, napuštěného vhodnou kultivační půdou a indikátorem nebo vhodnou živnou půdou, se nasaje určité množství zkoušené tekutiny (mikrobitesty se vyrábějí s různou nasávací schopností a také speciální pro viskozní tekutiny nebo otiskové) a po inkubaci se hodnotí počet vytvořených skvrn (po chemické reakci, kterou vyvolávají určité skupiny mikroorganismů - koliformní bakterie, redukující mikroorganismy) nebo počet narostlých kolonií (kvasinky, plísňe). Těto metody je možné použít k orientačnímu zjištění zdravotní nezávadnosti, k posouzení dodržení hygienických zásad v prvovýrobě, přepravě, zpracování a skladování.

**Odběr a příprava vzorku** se provádí stejně jako u kultivačního vyšetření (možno provádět i desítkové ředění).

**Pomůcky:** termostaty, mikrobitesty, kahan, pinzeta, nůžky, ethanol 96%, sterilní fyziologický roztok.

**Pracovní postup:** vzorek k vyšetření se použije neředěný nebo ředěný, podle předpokládaného množství mikroorganismů. Po rozstřížení sáčku nůžkami ožehnutými nad kahanem se mikrobitest vyjme pinzetou z fólie za část oddělenou perforací a rychle ponoří do zkoušené tekutiny (ve směru kolmém k hladině tekutiny) až po perforaci. U neviskózních tekutin na 3 až 5 sekund, u viskózních (např. smetany) na 30 sekund a u mikrobitestů s velkou nasávací schopností ještě déle (doby nasávání uvádí výrobce stejně jako expirační doby mikrobitestů). Proužek se zbaví přebytečné tekutiny otřením o hrdlo nádoby a vloží zpět do sáčku, drženého ve svislé poloze. Z vloženého proužku se po otisku přes sáček odtrhne perforovaná část, sáček se těsně přimáčkne na vložený mikrobitest a okraj sáčku se zataví.

**Kultivace mikrobitestů a výpočet:** mikrobitesty se kultivují ve vodorovné poloze při teplotě a době kultivace, předepsané pro jednotlivé skupiny mikroorganismů. Po kultivaci se spočítají jednotlivé kolonie, popř. barevné skvrny na obou stranách a výsledky se sečtou. U mikrobitestů s malou nasávací schopností (0,25 a 0,1 ml) se skvrny počítají jen na jedné straně proužku, pravé kolonie na obou. Počty narostlých kolonií se přepočtou podle nasávací schopnosti (event. ředění) na 1 ml nebo 1 g vzorku. Na stanovení by se měly brát jen ty mikrobitesty, na nichž vzrostlo 20 až 100 kolonií. Při počtu odlišném od optima je stanovený počet jen přibližný a tato okolnost by měla být uvedena v protokole.

Mikrobitesty se dělí podle druhu určovaných mikroorganismů:

- Mikrobitest CA - stanovení koliformních bakterií
- Mikrobitest PR PM - stanovení všech redukujících mikrobů
- Mikrobitest P - stanovení plísní
- Mikrobitest K - stanovení kvasinek
- Mikrobitest CH - stanovení koliformních bakterií a *Escherchia coli*

#### 11.5.2.1 Stanovení koliformních mikroorganismů

**Princip:** hodnotí se počet červených skvrn, vytvořených po kultivaci 10 až 12 hodin při teplotě 37 °C.

#### 11.5.2.2 Stanovení plísní

**Princip:** hodnotí se počet kolonií po 5 dnech kultivace při 25 °C.

**POZOR:** u mikrobitestu na stanovení plísní je nutno sáček svařit tak, aby byl k proužku přístup vzduchu nutný pro růst plísní. Po vložení mikrobitestu se sáček svaří tak, že se k sobě přiloží hrany sáčku a nový svár je napříč, kolmo na svár původní.

#### **11.5.2.3 Stanovení veškerých nebo osmofilních kvasinek**

**Princip:** hodnotí se počet kolonií, narostlých po kultivaci 5 dní při teplotě 25 °C. Pro stanovení osmofilních kvasinek se vzorek ředí sterilním roztokem glukózy (50 % hm.).

#### **11.5.2.4 Stanovení redukcujících mikroorganismů**

**Princip:** hodnotí se počet červeně zbarvených skvrn, vytvořených po kultivaci 10 až 20 hodin při teplotě 30 °C.

#### **11.5.2.5 Stanovení enterokoků**

**Princip:** hodnotí se počet vytvořených červených skvrn po kultivaci 10 hodin při teplotě 37 °C.

### **11.5.3 Mikrobiologické vyšetření pomocí destičky PETRIFILM (náhrada Petriho misek)**

**Princip:** na rozdíl od tradičních plotnových metod pro stanovení mikroorganismů jsou destičky Petrifilm přímo použitelnými médii k vyšetření vzorků. Destičky Petrifilm jsou k dispozici pro většinu standardních mikrobiologických vyšetření, tj. k určení celkového počtu aerobních a koliformních bakterií, *E. coli* a kvasinek a plísní. Skládají se z papírového filmu (s natištěnou mřížkou) potaženého polyethylenovou folií, která obsahuje živná media smíšená s gely rozpustnými ve studené vodě a z polypropylenového filmu s vrstvou obsahující indikátorové barvivo a rovněž gel rozpustný ve studené vodě. Tyto 2 filmy společně dosahují funkce identické s funkcí standardních plotnových metod. Destičky Petrifilm jsou určeny nejen pro testování potravin, ale také pro kontrolu prostředí v potravinářských provozech (spady z ovzduší, stěry a otisky z povrchů). Před testováním prostředí se destičky hydratují 1 ml sterilního ředícího roztoku. Nechá se vytvořit gel a pak se vrchní film s gelem přitiskne na testovanou plochu. Pro testování spadů z ovzduší se destička s vytvořeným gelem nechá po dobu 15 minut otevřená na vzduchu. Destičky je možno hydratovat předem a uchovat v lednici.

**Postup práce:** položte destičku na rovnou pracovní plochu, odkryjte vrchní film a inokulujte spodní vrstvu 1 ml vzorku. Inkubujte při odpovídající teplotě a poté spočítejte kolonie.

**PETRIFILM lze použít pro následující způsoby mikrobiologického stanovení:**

1) Destičky se bez jakékoliv předešlé přípravy inokulují 1 ml vzorku a ihned se inkubují při příslušné teplotě (možno inkubovat ve vrstvě až 20 destiček na sobě). Poté se spočítají narostlé kolonie, které jsou zvýrazněny pomocí speciálního indikátoru. Počítání usnadní vyobrazená mřížka. Použití destiček 3M Petrifilm redukuje mikrobiologické vyšetření do tří jednoduchých kroků, které významně šetří laboratorní čas.

2) V praxi se destičky Petrifilm ukázaly také jako média vhodná pro kultivaci membránových filtrů. Petrifilm se nejprve hydratuje 1 ml sterilní vody či fyziologického roztoku a poté se mezi jeho spodní a vrchní vrstvu vloží membránový filtr, přes který bylo zfiltrováno požadované množství vzorku.

3) Po předcházející hydrataci (destičky možno připravit na 1 - 2 týdny dopředu) lze Petrifilmy použít pro přímou a jednoduchou kontrolu prostředí pomocí otisků či spadů.

**Petrifilm™ Aerobic Count Plate = destička ke stanovení celkového počtu aerobních mezofilních mikroorganismů (CPM)**

**Nárůst:** pouze červené kolonie  
optimální počet: 25 až 250 kolonií

**Inokulace:** 1 ml naředěného vzorku

**Teplota kultivace:**  $30 \pm 1$  °C

**Doba kultivace:**  $48 \pm 2$  hodiny

**Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plate = destička ke stanovení počtu enterobakterií**

Enterobakterie jsou oxidáza negativní, gramnegativní tyčinky, které kvasí v glukóze. Kolonie, které produkují kyselinu nebo plyn, jsou považovány za enterobakterie. Na EB destičkách Petrifilm se enterobakterie budou jevit jako červené kolonie se žlutými oblastmi nebo červené kolonie s bublinkami plynu, a to buď se žlutými oblastmi, nebo bez nich.

**Inkubace:**  $24 \pm 2$  h při teplotě  $30 \pm 1$  °C nebo při teplotě  $35 \pm 1$  °C nebo při teplotě  $37 \pm 1$  °C.

**Petrifilm™ Coliform Count Plate = destička ke stanovení celkového počtu koliformních bakterií**

Specifikace koliformních bakterií: gramnegativní tyčinky zkvašující laktózu za produkce kyseliny a plynu

**Nárůst:** pouze červené kolonie

- s bublinkami plynu v okolí kolonie = koliformní bakterie

- bez bublinek = nekoliformní bakterie



optimální počet: 15 až 150 kolonií

**Inokulace:** 1 ml naředěného vzorku

**Teplota kultivace:**  $37 \pm 1$  °C, příp.  $30 \pm 1$  °C

**Doba kultivace:**  $24 \pm 2$  hodiny

**Petrifilm™ High-Sensitivity Coliform Count Plate = destička pro stanovení koliformních bakterií s vyšší citlivostí záchytu (1-2/g)**

**Inokulace:** 5 ml naředěného vzorku

Doporučované ředění:

1:10 pro podmáslí, jogurty, máslo a sušené mléčné výrobky (2/g)

1:5 pro smetanu, zakysanou smetanu, zmrzlinu, omáčky a čokoládové mléko

1:1 pro syrové mléko, tučné a nízkotučné mléko

**Hlavní výhody:** velmi vhodné pro kontrolu sušených mléčných výrobků (především kojeneckou a dětskou výživu) - lze obejít pracnou a náročnou metodu kultivace v tekutých půdách (metoda MPN)

**Petrifilm™ E. coli Count Plate = destička ke stanovení celkového počtu koliformních bakterií s rozlišením bakterií *E. coli***

**Specifikace bakterií *E. coli*:** 97 % *E. coli* produkuje enzym b-glukuronidázu, která rozpozná specifické vazby v indikátoru - modré zbarvení kolonií

**Nárůst:** červené kolonie s bublinkami plynu = koliformní bakterie

modré kolonie s bublinkami plynu = *E. coli*

**Optimální počet:** 15 až 150 kolonií

**Inokulace:** 1 ml nařed. vzorku kolmo doprostřed destičky, horní fólii je nutno opatrně rolovat

**Teplota kultivace:**  $37 \pm 1$  °C, příp.  $44,5 \pm 0,5$  °C

**Doba kultivace:** 24 h - celkový počet koliformních bakterií

48 h - potvrzená *E. coli*

**Petrifilm™ Petrifilm series 2000 Rapid Coliform Count Plate = destička k rychlému stanovení počtu koliformních bakterií**

Koliformní bakterie produkují během fermentace laktózy kyselinu a plyn. pH indikátor na destičce detekuje kyselinu produkovanou koliformními bakteriemi, červené indikátorové barvivo barví všechny kolonie do červena a horní film zachycuje bublinky plynu produkované koliformními bakteriemi.

Stanovení předpokládaných koliformních (6-14 hod): předpokládané koliformní bakterie se mohou začít objevovat již po 6 hodinách inkubace jako diskrétní žluté zóny (kyselina) s nebo bez kolonií. Pokračujte v inkubaci destiček po jejich odečtení a detekujte další nárůst předpokládaných koliformních bakterií po 14 hodinách.

Potvrzení koliformních bakterií (8-24 hod): potvrzené kolonie koliformních bakterií se začínají objevovat po 8 hodinách inkubace jako kolonie s bublinkami plynu. Pokračujte v inkubaci destička detekujte další potvrzené koliformní bakterie po 24 hodinách.

### **Petrifilm™ Petrifilm Select *E. coli* Count Plate = destička ke stanovení počtu *E. coli***

PetrifilmSelect*E.coli* umožňuje specifickou detekci *E.coli*. Zhruba 97 % *E.coli* produkuje b-glukuronidázu, která reaguje s barevným indikátorem přítomným v destičce a zbarvuje kolonie do tmavě zelené až modrozelené barvy. Jiné kolonie než *E.coli* nevidíte, protože jsou bezbarvé nebo světle šedivě béžové. Rozmezí pro odečet na Petrifilm Selektivní *E.coli* destičkách je mezi 15-150 koloniemi. Počet větší než 150 kolonií lze odhadnout nebo se uvažuje o nepočitatelném množství (TNTC). Pro dosažení přesného odečtu je potřeba dalšího ředění.

**Inkubace:** 24h ± 2h při 42°C ± 1°C nebo 44°C ± 1°C.

### **Petrifilm™ Yeast and Mold Count Plate = destička ke stanovení celkového počtu kvasinek a plísní**

**Nárůst:** kvasinky a plísně - rozlišení pomocí jednotlivých charakteristických znaků (barva, tvar, vzhled kolonií)

**Optimální počet:** 15 až 150 kolonií

**Inokulace:** 1 ml naředěného vzorku

**Teplota kultivace:** 25 °C

**Doba kultivace:** 3 – 5 dní (prohlédnutí po 3 dnech, konečné vyhodnocení po 5 dnech)

**Hlavní výhody:** 1) kratší doba inkubace než je obvyklé na miskách

2) fosfatázový indikátor - typické zbarvení kolonií kvasinek

#### **11.5.4 Automatizované stanovení počtu mikroorganismů v mléce**

**Princip:** automatické stanovení mikroorganismů v mléce na přístroji pracujícím na principu mikrokličky (např. MINIPETRI FOSS). Metoda je vhodná pro hodnocení jakosti syrového mléka a mléka mlékárensky ošetřeného pro účel mikrobiologického vyšetření vzorků obsahujících více než 100 mikroorganismů v 1 ml. Očkování vzorku probíhá automaticky

ovládanými mikrokličkami, které umožňují stanovení počtu mikroorganismů v rozboru od 100 do 3 000 000. Zalévání Petriho misky živnými půdami je automatizované. Pokud jsou vzorky mléka konzervované, uchovávají se nejdéle 48 hodin před rozbohem při teplotě nejvýše do 10 °C. Nekonzervované vzorky mléka se uchovávají při teplotě do 6 °C a rozbor se provede nejdéle do 6 hodin po odebrání.

**Pracovní postup:** označený vzorek se promíchá tak, aby nedošlo k napěnění mléka. Rozbor je nutné provést do 15 minut po promíchání vzorku. Teplota vzorku před očkovaním může být v rozmezí od 5 °C do 10 °C. Pro stanovení se přístroj seřídí podle návodu výrobce. Provede se čištění mikrokličky a sterilizace cest přístroje. Podle předpokládaného množství mikroorganismů v 1 ml vzorku se použije mikroklička. Odběr vzorku ředění odpovídá klasickému postupu. Mikroklička 0,1 ml odpovídá ředění  $10^{-1}$ , mikroklička 0,01 ml odpovídá druhému ředění  $10^{-2}$ . Do vodní lázně o teplotě  $47 \pm 2$  °C se vloží zásobní láhve s rozvařenou živnou půdou a oplachující roztok. Po uvedení přístroje do chodu se na prvních 5 Petriho misek automaticky dávkuje jen živná půda pro slepé misky. Na další misky se očkují analyzované vzorky. Z každé vzorkovnice se odebere vzorek kličkou jedenkrát, očkuje se jedna miska. Naočkované misky se automaticky promíchají živnou půdou a ukládají v zásobníku přístroje. Po ztuhnutí půdy se Petriho misky ukládají ke klasické kultivaci podle druhu vyšetřovaných mikroorganismů. Po skončení kultivace se spočítají vyrostlé kolonie klasickým vizuálním způsobem a vyhodnotí dle vyhlášky o mikrobiologických požadavcích 294/97 Sb.

### **11.6 Automatická metoda přímého počítání bakterií v mléce na přístroji Bactoscan**

**Princip:** metoda je založena na fluorescenční mikroskopii. Bakteriální buňky jsou separovány od ostatních složek mléka a po obarvení fluorescenčním barvivem jsou elektronicky počítány pomocí mikroskopu fluorescenční signály obarvených buněk. Protože přístroj počítá jednotlivé buňky, jsou počty zjištěné na Bactoscanu vyšší než počty klasickou plotnovou metodou.

### **11.7 Metoda měření změn bioluminiscence na základě změn ATP (přístroj Bactofoss)**

**Princip:** všechny živé buňky obsahují určité množství adenosintrifosfátu (ATP). Množství ATP je úměrné množství buněk a je indikováno luminiscencí přidaného enzymatického komplexu luciferin – luciferáza za vývinu světla. Intenzita tohoto světla se měří a je v korekci s počtem bakterií.

## POUŽITÁ LITERATURA

- CVAK, Z., PETERKOVÁ, L., ČERNÁ, E. *Chemické a fyzikálně-chemické metody v kontrole jakosti mléka a mlékárenských výrobků*. VÚP SPI, Praha, 1992, 221s.
- ČERNÁ, E., CVAK, Z. *Analytické metody pro mléko a mlékárenské výrobky*. VÚPPSTI PP, Praha, 1986, 439s.
- ČERNÁ, E., MERGL, M. *Laboratorní kontrolní metody v mlékařství*. SNTL Praha 1971, 273s.
- FORMAN, L. *Mražené smetanové krémy. Mlékárenská technologie I*. VŠCHT Praha, 1990, 325 s.
- FORMAN, L. *Fermentované výrobky. Mlékárenská technologie II*. VŠCHT, Praha 1996, 25 s.
- DRAGOUNOVÁ, H. *Hodnocení jakosti mléka a mlékárenských výrobků*. Česká zemědělská univerzita v Praze a ISV nakladatelství. Praha, 2003, s.
- GAJDŮŠEK, S. *Chemie a chemické hodnocení mléka*. Učební texty PGS „Výroba, hodnocení a zpracování mléka.“, VŠZ, Brno, 1983, 116s.
- GAJDŮŠEK, S.; KLÍČNÍK, V.: *Mlékařství – cvičení*. VŠZ Brno 1988, 95 s.
- GAJDŮŠEK, S., KLÍČNÍK, V. *Mlékařství*. VŠZ Brno, 1993, 129s.
- GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství II – cvičení*. MZLU v Brně, 1997, 84s.
- HAVLÍČEK, Z. *Praktikum sýrařské výroby*. SNTL, Praha, 1975, 272s.
- INGR, I., POKORNÝ, J., VALENTOVÁ, H. *Senzorická analýza potravin*. MZLU, Brno 1997, 171s.
- KNĚZ, V. *Kontrola spotřeby a výtěžnosti při výrobě sýrů*. STI PP. Praha 1972, 182s.
- KNĚZ, V. a kol. *Mlékárenská příručka. Tabulky a výpočty*. SNTL, Praha 1974, s.
- MAŠEK, J., MAXA, V., TEPLÝ, M. *Kontrola jakosti mlékařských kultur a zákysů*. SNTL, Praha, 1960, 225s.
- POKORNÝ, J., DAVÍDEK, J. *Analýza potravin, část B – Senzorická analýza*. VŠCHT, Praha 1990. 50s.
- POKORNÝ, J. *Metody senzorické analýzy potravin a stanovení senzorické jakosti*. ÚZPI, Praha 1997, 195s., ISBN 80-85120-60-7.
- POKORNÝ, J., VALENTOVÁ, H., PUDIL, F. *Senzorická analýza potravin, laboratorní cvičení*. VŠCHT, Praha, 1999, 62s., ISBN 80-7080-278-2.
- POKORNÝ, J., VALENTOVÁ, H., PANOVSÁ, Z. *Senzorická analýza potravin*. VŠCHT, Praha, 1998, 98s.
- ŠULC, J., CHALABALA, J. *Mražené mléčné výrobky*. SNTL Praha 1966, 205s.

TEPLÝ, M., MAŠEK, J., HAVLOVÁ, J. *Syřidla živočišná a mikrobiální*. SNTL Praha, 1976, 287s.

TEPLÝ, M. a kol. *Kefír, jogurt, acidofilní a jiné kyselky*. SNTL Praha, 1968, s.

TEPLÝ, M. a kol. *Čisté mlékařské kultury. Výroba, kontrola, použití*. SNTL, Praha, 1984, 267s.

<b>Autor</b>	Prof. Ing. Květoslava Šustová, Ph.D.
<b>Název titulu</b>	MLÉKÁRENSKÉ TECHNOLOGIE (návody do cvičení)
<b>Vydavatel</b>	Mendelova univerzita v Brně Zemědělská 1, 613 00 Brno
<b>Vydání</b>	První, 2015
<b>Náklad</b>	200 ks
<b>Počet stran</b>	125
<b>Tisk</b>	ASTRON studio CZ, a.s.; Veselská 699, 199 00 Praha 9 Neprošlo jazykovou úpravou.
<b>ISBN</b>	<b>978-80-7509-248-9</b>

Tato publikace je spolufinancována z Evropského sociálního fondu a státního rozpočtu České republiky.

Byla vydána za podpory projektu OP VK CZ.1.07/2.2.00/28.0302 Inovace studijních programů AF a ZF MENDELU směřující k vytvoření mezioborové integrace.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ