SENZORICKÉ A ANALYTICKÉ HODNOCENÍ MLÉKA Z FARMY A MLÉČNÉHO AUTOMATU

Bc. Petra Tymová

Diplomová práce
2014

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Bc. Petra Tymová**
Osobní číslo:	**T11709**
Studijní program:	**N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor:	**Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**
Forma studia:	**prezenční**
Téma práce:	**Senzorické a analytické hodnocení mléka z farmy a mléčného automatu**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Obecná charakteristika syrového mléka
2. Legislativa týkající se syrového mléka
3. Vybrané metody hodnocení syrového mléka
4. Tepelné ošetření mléka

II. Praktická část

1. Tepelné ošetření syrového mléka
2. Senzorické hodnocení tepelně ošetřeného mléka z farmy a mléčného automatu
3. Analytické hodnocení syrového a tepelně ošetřeného mléka z farmy a mléčného automatu
4. Statistické hodnocení a diskuze získaných výsledků

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] WALSTRA, P., J. T. M. WOUTERS, T. J. GEURTS. Dairy science and technology. 2. vyd. Boca Raton: CRC/Taylor & Francis, 2006. 782 s. ISBN 0-8247-2763-0.
[2] GAJDŮŠEK, Stanislav. Laktologie. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003, 78 s. ISBN 80-7157-657-3.
[3] KADLEC, Pavel. Technologie potravin. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, 236 s. ISBN 80-7080-510-2.
[4] LUKÁŠOVÁ, Jindra. Hygiena a technologie produkce mléka. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 1999, 101 s. ISBN 80-85114-53-4.
[5] ZADRAŽIL, Karel. Mlékařství: (přednášky). Vyd. 1. Praha: ISV, 2002, 127 s. ISBN 80-86642-15-1.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Zuzana Bubelová, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **10. ledna 2014**

Termín odevzdání diplomové práce: **25. dubna 2014**

Ve Zlíně dne 3. února 2014

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: TYMOVÁ PETRA Obor: THEVP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby [1)];
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 [2)];
- beru na vědomí, že podle § 60 [3)] odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 [3)] odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 25. 4. 2014 Petra Tymová

[1)] zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:
(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

[2] zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

[3] zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá senzorickým a analytickým hodnocením mléka z farmy a mléčného automatu. Analytické hodnocení se zabývá stanovením tuku, sušiny, hustoty, hrubé bílkoviny, laktózy, chloridů, vápníku, kyselosti a peroxidázovou zkouškou. Senzorické hodnocení bylo provedeno pomocí stupnicové, párové a pořadové zkoušky. Všechny analýzy byly provedeny na vzorcích mléka z mléčného automatu a rodinné farmy, a to jak u tepelně neošetřených vzorků, tak u vzorků podrobených pasteraci (72 °C/30sekund a 85 °C/2 sekundy). Mléko z mlékomatu a farmy se signifikantně lišilo v obsahu tuku a dále v hodnotách pH a titrační kyselosti. Ostatní parametry byly stejné. Šetrná i vysoká pasterace způsobila zvýšení obsahu tuku a bílkovin (dle Steineggera) a snížení obsahu chloridů. Ostatní parametry zůstaly nezměněny.

Klíčová slova: mléko, tepelné ošetření, pasterace, analytické hodnocení, senzorické hodnocení

ABSTRACT

This thesis is concerned with analytical and sensory evaluation of milk from a dairy farm and milk machine. Analytical evaluation deals with the determination of the fat, dry matter, density, crude protein, lactose, chlorides, calcium, acidity and the peroxidase test. Sensory evaluation was performed using scale, paired comparative and ranking tests. All analyzes were performed in samples of milk from the milk machine and family dairy farm, both in raw samples and in samples subjected to pasteurization (72 °C/30 seconds and 85°C/2 seconds). Milk from machine and farm possessed different fat content, pH and titration acidity. The rest of parameters were the same. Both gentle and high pasteurization resulted in higher fat content and protein content (according to Steinegger) and lower chloride content. Other parameters remained unchanged.

Keywords: milk, heat treatment, pasterurization, analytical evaluation, sensory evaluation

Poděkování

Chtěla bych poděkovat především paní Ing. Zuzaně Bubelové, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce, vstřícný přístup, za cenné připomínky a její zájem o danou problematiku. Poděkování také patří mé rodině za pomoc, podporu a trpělivost při mém studiu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD **11**
I TEORETICKÁ ČÁST **12**
1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA SYROVÉHO MLÉKA **13**
1.1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ MLÉKA 14
1.1.1 Tuk 15
1.1.1.1 Fosfolipidy 16
1.1.1.2 Mastné kyseliny 16
1.1.1.3 Steroly 17
1.1.2 Bílkoviny 18
1.1.2.1 Kaseinové bílkoviny 19
1.1.2.2 Syrovátkové bílkoviny 20
1.1.2.3 Nebílkovinné dusíkaté látky 21
1.1.3 Sacharidy 22
1.1.4 Minerální látky 22
1.1.5 Vitaminy 24
1.1.6 Enzymy 25
1.1.6.1 Oxidoreduktázy 25
1.1.6.2 Hydrolázy 26
1.1.7 Hormony 26
1.2 VLASTNOSTI MLÉKA 27
1.2.1 Senzorické vlastnosti mléka 27
1.2.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti mléka 27
1.2.2.1 Hustota 27
1.2.2.2 Povrchové napětí 28
1.2.2.3 Oxidačně-redukční potenciál (redox potenciál) 28
1.2.2.4 Bod mrznutí 28
1.2.2.5 Kyselost mléka 28
1.2.3 Technologické vlastnosti mléka 29
1.2.3.1 Kysací schopnost 29
1.2.3.2 Syřitelnost 29
1.2.3.3 Tepelná stabilita 29
2 VYBRANÉ METODY HODNOCENÍ SYROVÉHO MLÉKA **30**
2.1 ORIENTAČNÍ STANOVENÍ SLOŽEK MLÉKA POMOCÍ ANALYZÁTORŮ MLÉKA 30
2.2 MĚRNÁ VODIVOST 30
2.3 HUSTOTA 30
2.4 KYSELOST 30
2.4.1 Aktivní kyselost 30
2.4.2 Titrační kyselost 31
2.5 SUŠINA 31
2.6 TUK 31
2.6.1 Volné mastné kyseliny 32
2.7 BÍLKOVINY 32
2.7.1 Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek (hrubé bílkoviny) 32
2.7.2 Termostabilita bílkovin 33

2.7.3 Amoniak a močovina 33
2.8 LAKTÓZA 34
2.9 CHLORIDOVÉ IONTY 34
2.10 VÁPNÍK 34
2.11 PRŮKAZ PASTERACE MLÉKA 35
2.11.1 Enzymatické zkoušky 35
2.11.1.1 Peroxidázová zkouška podle Storcha 35
2.11.1.2 Fosfatázová zkouška 35
2.11.2 Stanovení pasteračního efektu 35
3 TEPELNÉ OŠETŘENÍ MLÉKA 36
3.1 TERMIZAČNÍ ZÁHŘEV 36
3.2 PASTERACE 36
3.2.1 Šetrná pasterace 37
3.2.2 Dlouhodobá pasterace 38
3.2.3 Vysoká pasterace 38
3.2.4 Pasterace smetany 38
3.2.5 Ultrapasterace 38
3.3 STERILACE 39
4 LEGISLATIVA 41
4.1 NÁRODNÍ LEGISLATIVA 41
4.2 NADNÁRODNÍ LEGISLATIVA 42
II PRAKTICKÁ ČÁST 44
5 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE 45
6 METODIKA 46
6.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, PŘÍSTROJE A POMŮCKY 46
6.1.1 Chemikálie 46
6.1.2 Přístroje a pomůcky 47
6.2 CHARAKTERISTIKA A ODBĚR VZORKŮ MLÉKA 47
6.3 TEPELNÉ OŠETŘENÍ MLÉKA 48
6.4 STANOVENÍ VYBRANÝCH FYZIKÁLNÍCH A FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÝCH PARAMETRŮ MLÉKA 48
6.4.1 Orientační stanovení složek mléka 48
6.4.2 Peroxidázová zkouška s p-fenylendiaminem (dle Storcha) 48
6.4.3 Hustota 49
6.4.4 Kyselost 50
6.4.4.1 Aktivní kyselost 50
6.4.4.2 Titrační kyselost 50
6.4.5 Sušina 51
6.4.6 Tuk 52
6.4.7 Bílkoviny 52
6.4.7.1 Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek (hrubé bílkoviny) 52
6.4.7.2 Stanovení bílkovin podle Steineggera 53
6.4.8 Laktóza 54
6.4.9 Vápník 54
6.4.10 Chloridy 55

6.5 SENZORICKÉ HODNOCENÍ MLÉKA 57
6.6 STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ 57
7 VÝSLEDKY A DISKUZE 59
7.1 VÝSLEDKY STANOVENÍ SLOŽEK MLÉKA NA ANALYZÁTORU MILKOSCOPE 59
7.2 VÝSLEDKY STANOVENÍ PEROXIDÁZOVÉ ZKOUŠKY 62
7.3 VÝSLEDKY STANOVENÍ HUSTOTY 62
7.4 VÝSLEDKY STANOVENÍ KYSELOSTI 64
7.4.1 Aktivní kyselost 64
7.4.2 Titrační kyselost 64
7.5 VÝSLEDKY STANOVENÍ SUŠINY 64
7.6 VÝSLEDKY STANOVENÍ TUKU 65
7.7 VÝSLEDKY STANOVENÍ BÍLKOVIN 66
7.7.1 Stanovení bílkovin podle Kjeldahla s úpravou podle Winklera 66
7.7.2 Stanovení bílkovin podle Steineggera 66
7.8 VÝSLEDKY STANOVENÍ LAKTÓZY 67
7.9 VÝSLEDKY STANOVENÍ VÁPNÍKU 67
7.10 VÝSLEDKY STANOVENÍ CHLORIDŮ 68
7.11 VÝSLEDKY SENZORICKÉ ANALÝZY 68
7.11.1 Senzorické hodnocení mléka pomocí stupnic 68
7.11.2 Senzorické hodnocení mléka pomocí párové porovnávací zkoušky 69
7.11.3 Senzorické hodnocení mléka pomocí pořadové preferenční zkoušky 69
ZÁVĚR 71
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 73
SEZNAM OBRÁZKŮ 81
SEZNAM TABULEK 82
SEZNAM PŘÍLOH 83

ÚVOD

Mléko je kapalný sekret mléčné žlázy savců. Slouží jako dobrý zdroj živin pro člověka i zvířata. V potravinářském průmyslu se nejvíce využívá mléko kravské, ale v ČR se zpracovává i ovčí a kozí mléko. V rozvinutých zemích se pro výrobu používá z 98 % mléko kravské a v zemích rozvojových je to pouze 75 %, zbytek produkce je tvořen ovčím, kozím, buvolím, a velbloudím mlékem. Mléko se skládá z 86 – 88 % vody a 12 – 14 % sušiny (tuk, bílkoviny, sacharidy, minerální látky, vitamíny, enzymy, hormony). Mléko má bílou barvu a je těžší než voda [1, 2].

Cílem tepelného ošetření mléka je zabezpečení zdravotní nezávadnosti, deaktivace většiny enzymů mléka a též nastolení vhodných podmínek pro výrobu mléčných výrobků. Díky tepelnému ošetření dojde k prodloužení trvanlivosti mléka z několika dnů až na týdny nebo měsíce dle volby tepelného ošetření. Mléko řadíme podle jeho pH do technologicky nekyselých potravin a podle toho se volí tepelné operace. V mlékárenském průmyslu se mléko při technologickém zpracování využívá pasterace: dlouhodobá: 63 – 65 °C/30 minut, šetrná: 72 – 75 °C/15 – 20 sekund, vysoká: 85 °C (a vyšší teploty)/několik sekund (desítek sekund), ultrapasterace (125 – 145 °C/0,3 – 0,4 sekund), sterilace 115 – 125 °C/10 – 30 minut (v hermeticky uzavřeném obalu), vysokotepelným ošetřením (UHT–záhřev 135 – 150 °C/několik sekund). Při pasteraci dojde k inaktivaci vegetativních forem mikroorganizmů, ale spory se neničí a ve vhodných podmínkách mohou vyklíčit. Při tepelném ošetření mléka je důležité zajistit co nejmenší změny vlastností (organoleptických, fyzikálně-chemických a technologických) mléka [3].

Teoretická část diplomové práce se zabývá obecnou charakteristikou mléka (chemickým složením, vlastnostmi mléka), metodami, které lze využít pro hodnocení mléka, tepelným opracováním mléka a legislativou. Praktická část je zaměřená na analytické a senzorické hodnocení mléka z farmy a mléčného automatu. Analyzováno bylo jak mléko syrové, tak ošetřené šetrnou a vysokou pasterací.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA SYROVÉHO MLÉKA

Mléko je zemědělský produkt, neboli lze také říci, že je to složitá biologická tekutina, sekret mléčné žlázy zvířat, který má zvláštní význam, jak pro výrobce, tak i pro spotřebitele [2, 4].

Mléko je jedním z mála zemědělských výrobků z živočišné produkce, které lze použít bez dalšího zpracování k přímé konzumaci. Proto byly zavedeny zvláštní požadavky na hygienu při výrobě potravin. Řadíme ho mezi plnohodnotnou potravinu, která má pro lidskou výživu, vzhledem k obsahu tuku, bílkovin, cukrů, minerálních látek a vitaminů, velmi významný charakter. Zvlášť pro děti, dospívající mládež, ale i pro starší jedince je mléko téměř nenahraditelnou částí denního jídelníčku [1, 2]. Spotřebitelé mají vysoké požadavky na mléko a mléčné produkty. Mléko má být čerstvé, chutné, hygienicky nezávadné a trvanlivé [2, 4].

Mléko je bílé neprůhledné barvy, mírně nasládlé chuti a příjemné vůně. Složení mléka ovlivňují různé faktory. Mléko lze rozdělit podle druhu na albuminové a kaseinové (viz. Tab. 1). Albuminové mléko obsahuje méně než 75 % kaseinu z celkového obsahu bílkovin a produkují ho masožravci, všežravci a býložravci s jednoduchým žaludkem. Kaseinové mléko obsahuje více než 75 % kaseinu z celkového obsahu bílkovin a produkují ho přežvýkavci. Pro lidskou konzumaci se využívají mléka kaseinová [3, 5].

Mléko lze také dělit na zralé a nezralé. Zralé mléko se využívá pro výživu člověka a je získáváno od zdravých dojnic. Ihned po porodu od dojnice získáme mlezivo, nebo-li nezralé mléko, které slouží k výživě mláděte. Mlezivo má jiné složení než zralé mléko, je lepkavé a husté konzistence, nažloutlé až nahnědlé barvy. Mlezivo má vyšší obsah sušiny, vyšší obsah bílkovin (hlavně globulinů a albuminů), imunoglobulinů a laktózy. Po 10 dnech se obsah jednotlivých složek stabilizuje na parametry zralého mléka. Zralé mléko je tedy produkováno dojnicemi 6 – 12 den po porodu [5, 6].

Starodojné mléko je produkováno hospodářskými zvířaty v posledních týdnech před zaprahnutím. U mléka se snižuje obsah kaseinu a laktózy, naopak se zvýší obsah syrovátkových bílkovin, somatických buněk a také se zvýší aktivita lipáz [5, 6].

Tab. 1: Obsah hlavních složek v různých druzích kaseinových (K) a albuminových (A) mlék v % (upraveno podle [4])

druh mléka	savec	voda	sušina	tuk	bílkoviny	laktóza	min. látky
K	skot	86 – 88	12 – 14	3,5 – 5	2,8 – 3,6	4 – 5	1,0
	koza	87,7	12,3	4,5	2,9	4,1	0,8
	ovce	80,7	19,3	7,4	4,5	4,8	1,0
	buvol	83,2	16,8	7,4	3,8	4,8	0,8
	velbloud	86,5	13,5	4,5	3,4	5	0,8
	sob	66,9	33,1	16,9	11,5	2,1	1,8
A	zebu	85,8	14,2	5,0	3,6	4,8	0,8
	člověk	87,8	12,2	3,8	1,0	7,0	0,2
	prase	81,2	18,8	6,8	4,8	5,5	0,8
	kůň	88,8	11,2	1,9	2,5	6,2	0,5
	osel	88,3	11,7	1,4	2,0	7,4	0,5

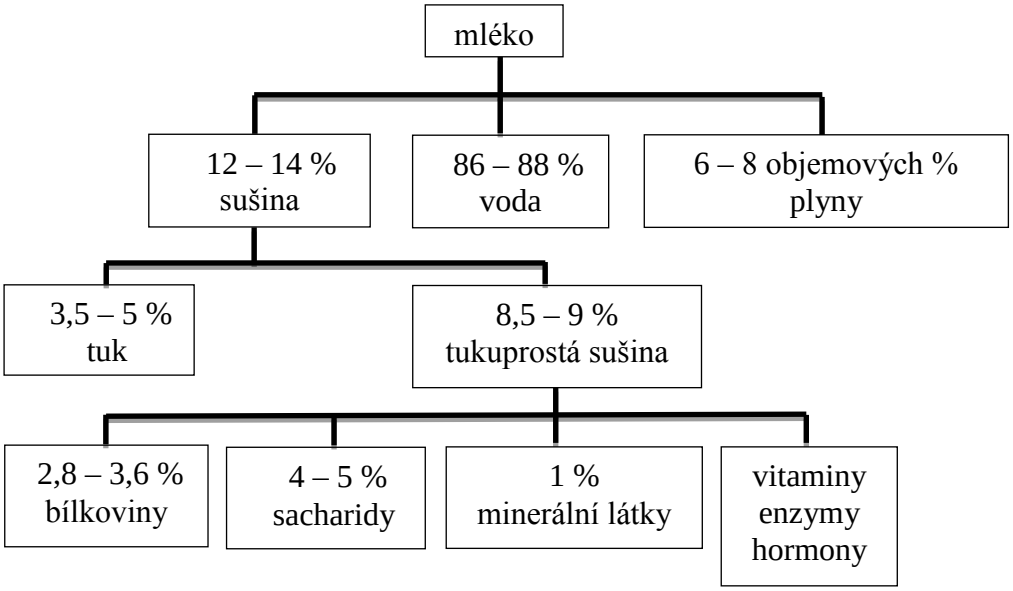
1.1 Chemické složení mléka

Všeobecně je prokázané, že mléko se skládá ze třech hlavních složek; vody, sušiny a plynů. Voda je hlavním nositelem a rozpouštědlem celého systému mléka. Sušina je tvořena složkami, které zůstanou po vysušení vzorku do konstantní hmotnosti při 102 °C. Sušina se skládá z tukuprosté sušiny a tuku. Tukuprostá sušina se skládá z bílkovin, sacharidů, minerálních látek, vitaminů, enzymů a hormonů. Plyny jsou zastoupeny kyslíkem, dusíkem a oxidem uhličitým [6, 7].

Složky mléka lze dělit na původní, které vznikly při látkové výměně v mléčné sekci, a nepůvodní, které se do něho dostaly krevním oběhem nebo z okolního prostředí stykem se zařízením. Na Obr. 1 je zobrazeno schéma složení mléka. Známe více jak 200 druhů složek mléka [7].

Z fyzikálně-chemického hlediska je mléko polydisperzní systém, který se skládá ze dvou základních částí: z disperzního prostředí a z částic rozptýlených v tomto prostředí, které má disperzní fázi. Fyzikální a fyzikálně-chemické vlastnosti disperzního systému závisí na vnitřních faktorech (složení, struktura) a na vnějších faktorech (teplota, ošetření mléka po nadojení). Struktura mléka je komplikovaná, protože mléko obsahuje více než 100 000

molekul různých chemických látek [2, 3]. Látky přítomné v mléce bývají v různém stupni disperze, podle velikosti částic nebo molekul se rozlišuje emulzní, koloidní a molekulární fáze. V čerstvém mléce emulzní fázi tvoří tukové kuličky. Koloidní fázi tvoří bílkoviny a nerozpustné soli a některé minerální látky, které jsou vázané na bílkoviny (fosfor, vápník). Molekulární fázi (nebo-li pravý roztok) tvoří laktóza a minerální látky. Mléčná plazma vzniká, když se z mléka odstraní tuk. Mléčné sérum je mléčná plazma zbavená kaseinových micel (syrovátka) [2, 3, 5].



Obr. 1: Schéma složení mléka (upraveno podle [8])

1.1.1 Tuk

Mléčný tuk je nejkomplikovanější z přírodních tukových komplexů. Dříve byl považován za jeden z kvalitativních ukazatelů mléka. V kravském mléce je 3,5 – 5 % tuku. Jemné rozptýlení mléčného tuku v mléce vytváří velký povrch, který je přístupný lipolytickým enzymům a vyznačuje se dobrou stravitelností. Tuk v mléce se nachází ve formě tukových kuliček. Mléčný tuk dává mléku typické aroma a je syntetizován v mléčné žláze pomocí prekurzorů v bachoru [5, 7].

Chemicky je mléčný tuk tvořen z 98 % směsí, kde převažují triacylglyceroly a minoritně i diacylglyceroly mastných kyselin. 1 – 2 % tvoří lecitin, cholesterol, karotenoidy a vitaminy rozpustné v tucích (A, D, E). Mléčný tuk se převážně tvoří v mléčné žláze

z nízkomolekulárních mastných kyselin, které jsou produktem bachorového kvašení cukernatých složek [5, 9, 10].

Mléčný tuk na rozdíl od tuků rostlinného nebo jiného živočišného původu je velice dobře stravitelný, protože lipáza štěpí v triacylglycerolech mastné kyseliny v poloze 1 a 3. Obsahuje mastné kyseliny s krátkým a středním uhlíkatým řetězcem, které se lépe resorbují. Uspořádání jednotlivých mastných kyselin v tiacylglycerolech mléčného tuku je příznivé [5, 11].

Emulze typu olej ve vodě je formou zastoupení tuku v mléce. Tuková kulička (tuková globule), se skládá ze dvou vrstev. Uvnitř tukové kuličky se nachází tuk tekutý, zatímco ve vnějších vrstvách tuhý. Hydrofilní (polární) vrstva tvoří obal tukové kuličky a její složkou jsou např. lipoproteiny a fosfolipidy. Hydrofóbní složky jsou uvnitř tukové kuličky a vytváří nepolární vrstvu, která obsahuje triacylglyceroly, cholesterol, karoteny a lipofilní vitaminy. V 1 mililitru mléka je řádově asi 10^{10} tukových kuliček o průměru 0,1 – 22 μm, ale obvykle bývá průměr 2 – 2,5 μm [3, 9]. Tukové kuličky bývají v mléce velmi jemně rozptýlené, čímž vzniká velký povrch pro příjem pachů. Je velice důležité, aby mléko, které je uskladněno v tanku, bylo ihned po nadojení v tanku uzavřeno a zchlazeno na skladovací teplotu [6, 10].

Mléčný tuk obsahuje vitaminy rozpustné v tucích (A, D, E, K). Obsah závisí na plemeni, druhu, krmné dávce dojnice a stádiu laktace. V mléce přítomné lipofilní vitaminy jsou relativně odolné vůči teplotám využívaných v mlékárenské technologii [4, 9].

1.1.1.1 Fosfolipidy

Fosfolipidy jsou sloučeniny kyseliny fosforečné a vysokomolekulárních mastných kyselin [12]. V mléčném tuku fosfolipidy zaujímají okolo 1 % z celkového množství tuku. Z fosfolipidů je v mléce přítomen fosfatidylcholin, fosfatidyletanolamin a sfingomyelin. Význam fosfolipidů je hlavně v jejich přítomnosti v membráně tukové kuličky. Tvoří velkou část z celkových lipidů u podmáslí a v odstředěném mléce. Ceramidy, cerebrosidy a gangliosidy se vyskytují v mléce v nepatrném množství [10, 12].

1.1.1.2 Mastné kyseliny

Mléčný tuk zejména přežvýkavců má široké spektrum mastných kyselin, které mu dávají aroma. Mastné kyseliny pocházejí ze syntézy v mléčné žláze (kde se tvoří mastné kyseliny o délce řetězce 4:0 do 14:0) a také pocházejí z krevních lipidů hlavně při dietě zvířat

(mastné kyseliny o délce řetězce 16:0, 18:0, 18:1, 18:2) (viz. Tab. 2). V celkovém zastoupení mastných kyselin převládají nasycené mastné kyseliny (70 %) [4, 11, 12].

Nejdůležitější mastné kyseliny vyskytující se v mléčném tuku jsou kyselina máselná, palmitová, myristová, stearová, kaprylová, kapronová, kaprinová, laurová, olejová, linolenová, linolová a arachidonová. Obsah esenciálních mastných kyselin (linolová, linolenová, arachidonová) v mléčném tuku je nepatrný. Esenciální mastné kyseliny jsou prekurzory prostaglandinů a účastní se výstavby buněčných membrán [10, 12].

Tab. 2: Zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku (upraveno podle [8, 9])

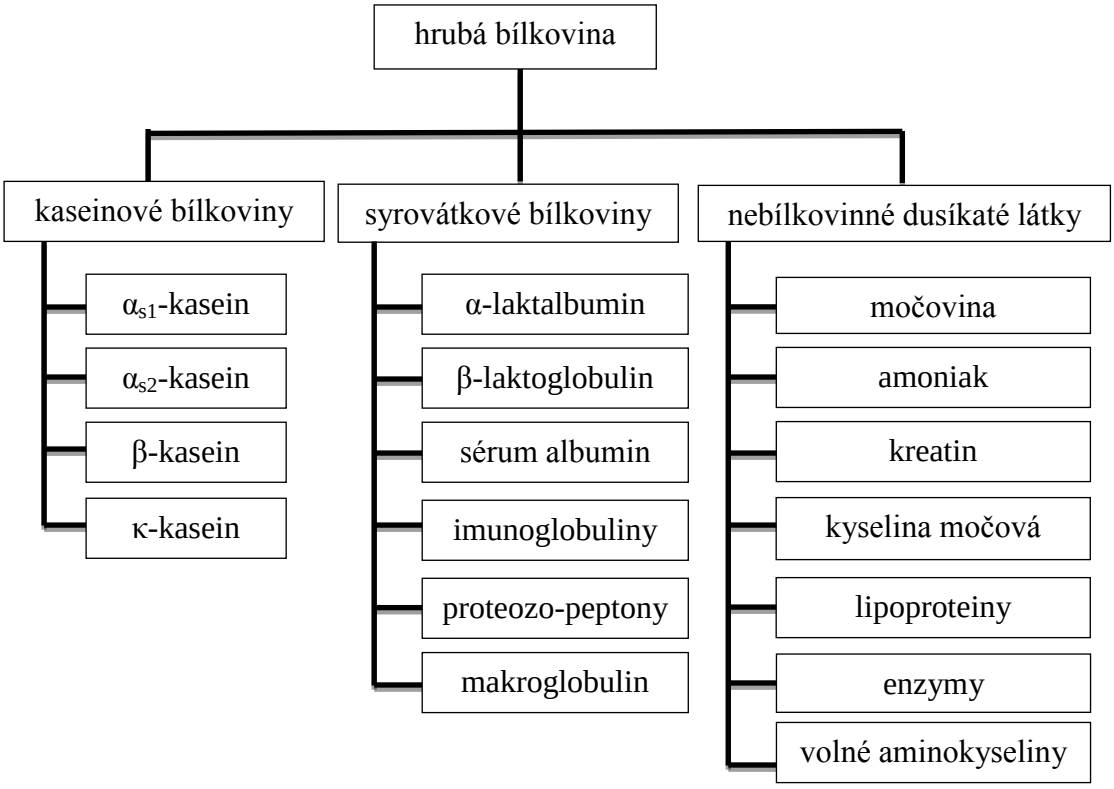
	mastná kyselina	**obsah v tuku [%]**	**bod tání [°C]**	**označení**
nasycené	máselná	3,0 – 4,5	-7,9	C4:0
	kapronová	1,3 – 2,2	-1,5	C6:0
	kaprylová	0,8 – 2,5	+16,5	C8:0
	kaprinová	1,8 – 3,8	+31,4	C10:0
	laurová	2,0 – 5,0	+43,6	C12:0
	myristá	7,0 – 11,0	+53,8	C14:0
	palmitová	25,0 – 29,0	+62,6	C16:0
	stearová	7,0 – 13,0	+69,3	C18:0
mononasycené	olejová	30,0 – 40,0	+14,0	C18:1
polynenasycené	linolová	2,0 – 3,0	-5,0	C18:2
	linolenová	1,0	-11,0	C18:3
	arachidová	1,0	-49,5	C20:4

1.1.1.3 Steroly

Steroly jsou v mléce zastoupeny cholesterolem. Cholesterol je v mléčném tuku obsažen v množství 0,3 % (1 g mléčného tuku doprovází 2,2 – 4,1 mg cholesterolu). Oproti ostatním potravinám živočišného původu je obsah cholesterolu v mléce nízký. Cholesterol představuje asi 95 % veškerých sterolů v mléce. V mléce se vyskytuje volný (90 %) a ve formě esterů (5 %) [6, 12, 13].

1.1.2 Bílkoviny

Bílkoviny jsou nezbytnou součástí lidské stravy a důležité z nutričního hlediska pro lidské zdraví. Podle zastoupení bílkovin, buďto kaseinových nebo syrovátkových, se mléka rozdělují [13]. V kravském mléce jsou bílkoviny obsaženy v množství 2,8 – 3,6 %. Na Obr. 2 je uvedeno schéma složení dusíkatých látek (hrubé bílkoviny) [3, 14, 15].



Obr. 2: Složení hrubých bílkovin v mléce (upraveno podle [4, 5, 14])

Mléčné bílkoviny ovlivňují základní chemické a fyzikální vlastnosti mléka. Mléčné bílkoviny můžeme rozdělit na čisté bílkoviny (94 – 95 %) a nebílkovinné dusíkaté látky (5 – 6 %). Čisté bílkoviny dělíme na kaseinové (80 %) a syrovátkové bílkoviny (20 %) [3, 10].

Bílkoviny se skládají z aminokyselin a ty jsou ukazatelem stravitelnosti. Esenciální aminokyseliny si člověk nedovede syntetizovat, proto je musí přijímat v potravě (lyzin, leucin, izoleucin, valin, treonin, metionin, tryptofan, fenylalanin). Neesenciální aminokyseliny se mohou tvořit v organizmu dospělého člověka. K neesenciálním aminokyselinám patří glycin, serin, alanin, prolin, cystein, tyrozin, asparagin, asparagová

kyselina, glutamin a glutamová kyselina. Semiesenciální aminokyseliny (arginin a histidin) si nedokážou syntetizovat pouze děti [10, 12, 14].

1.1.2.1 Kaseinové bílkoviny

Kaseinové bílkoviny dělíme na jednotlivé kaseinové frakce – α_{s1}, α_{s2}, β a κ-kasein. Poměr jednotlivých frakcí zastoupených v kaseinu 4:1:4:1. Ostatní kaseinové frakce považujeme za štěpy těchto základních frakcí [11, 13, 15].

α_s-kasein tvoří asi 42 % čistých bílkovin. α_s-kasein rozdělujeme na α_{s1} a α_{s2} kasein. α_{s1}-kasein ve variantě B obsahuje 199 aminokyselin. Izoelektrický bod (pI) je 4,92 – 5,35. α_{s1}-kasein má 17 prolinových a 8 fosfoserinových zbytků. Kyselina fosforečná je lokalizovaná v poloze 43 – 80, kde je řetězec polární. Nepolární postranní řetězec aminokyselin je v poloze 100 – 199. α_{s1}-kasein tvoří v přítomnosti vápenatých iontů nerozpustnou sůl, je důležitý při výrobě sýrů. Fragmenty α_{s1}-kaseinu odštěpované plasminem se považují za proteolytický štěp λ-kasein. α_{s2}-kasein má 207 aminokyselin, 10 prolinových a 11 fosfoserinových zbytků. Má největší hydfofilnost ze všech frakcí. Při 20 °C a přítomnosti vápenatých iontů se sráží pomaleji než α_{s1}-kasein [4, 5, 15, 16, 17, 18].

β-kasein tvoří asi 25 % čistých bílkovin. β-kasein obsahuje 209 aminokyselin a má pI 5,20 – 5,85. Obsahuje 35 prolinových a 5 fosfoserinových zbytků. Kyselina fosforečná je lokalizovaná v poloze 1 – 20, kde je řetězec polární, nepolární postranní řetězec aminokyselin je v poloze 136 – 209. β-kasein s vápenatými ionty za normálních podmínek tvoří nerozpustnou sůl. Působením proteolytických enzymů, hlavně plasminu, jsou z β-kaseinu odštěpovány γ-kaseiny v různých polohách řetězce [7, 15, 17, 18, 19].

Obsah **κ-kaseinu** v čistých bílkovinách je asi 9 %. κ-kasein považujeme za ochranný koloid. Ve variantě B obsahuje 169 aminokyselin, má pI 5,37. Jednotlivé molekuly v řetězci jsou přítomny jako oligomery pospojované disulfidickými můstky. κ-kasein má 20 prolinových a 1 fosfoserinový zbytek. Společně s vápenatými ionty se nesráží a tvoří rozpustné soli. Peptidová vazba mezi 105 a 106 aminokyselinou κ-kaseinu se působením syřidla rozruší a κ-kasein se rozpadá na hydrofobní para-κ-kasein a hydrofilní glykomakropeptid, ale tím ztrácí ochrannou funkci v kaseinové micele. κ-kasein je jedinou kaseinovou frakcí, která obsahuje v molekule sacharidovou složku (kyselinu N-acetyl-neuraminovou, D-galaktoryranózu a N-acetyl-D-galaktosamin), jedná se tedy o glykoprotein. κ-kasein se nachází hlavně v povrchové části micely [3, 10, 13, 15, 20, 21].

Kaseiny jsou v mléce ve formě kaseinových komplexů tzv. kaseinových micel. Micely se tvoří při teplotě nad 5 °C, při teplotě nižší jak 4 °C se kaseinové micely rozpadají. Na povrchu micely je část hydrofilní a uvnitř hydrofobní. Hydrofilní vrstva kaseinové micely se skládá z polární části (fosfoserinových zbytků α_s- a β-kaseinu a treoninového zbytku s oligosacharidem u κ-kaseinu) a reaguje s vápenatými ionty a s vodou [10, 15, 20].

Kaseinové submicely se vzájemně spojují do micel prostřednictvím fosfoserinových zbytků a vápenatých iontů. Kaseinové micely mají důležitou vlastnost; mohou na sebe navázat až čtyřikrát více vody, což je důležité třeba při výrobě jogurtu [8, 15, 18, 20].

1.1.2.2 Syrovátkové bílkoviny

Bílkoviny syrovátky se v mléce vyskytují ve formě koloidního roztoku. Zůstávají v syrovátce po vysrážení pomocí přídavku syřidla nebo kyselin. Tvoří 20 % z celkových bílkovin mléka. Syrovátkové bílkoviny mají vyšší nutriční hodnotu než kaseinové. Při záhřevu syrovátky a jejím okyselení dojde k zisku syrovátkové bílkoviny (například ve formě syrovátkového sýra). Syrovátkové bílkoviny řadíme mezi termolabilní, které při tepelném ošetření mléka nad 60 – 70 °C na rozdíl od kaseinu denaturují. Syrovátkové frakce jsou tvořeny β-laktoglobulinem, α-laktalbuminem, imunoglobuliny, proteozo-peptony, sérum albuminem a makroglobuliny [7, 10, 20, 21].

β-laktoglobulin se skládá ze 162 aminokyselin, tvoří asi 50 % syrovátkových bílkovin. Izoelektrický bod β-laktoglobulinu je 5,35 – 5,41. β-laktoglobulin při záhřevu na 60 – 65 °C nevratně denaturuje, tedy zpřístupňuje tiolové skupiny a vznikají disulfidické můstky. S vyšší teplotou a delší dobou působení může vznikat v mléce vařivá chuť [13, 21, 22].

α-laktalbumin tvoří asi 25 % obsahu syrovátkových bílkovin. Je druhou nejdůležitější syrovátkovou bílkovinou v mléce. α-laktalbumin se skládá ze 123 aminokyselin, má pI 4,20 – 4,50 a obsahuje velké množství tryptofanu [13, 21, 23, 24].

Sérum (sérový) albumin se skládá z 582 aminokyselin. V syrovátce je zastoupen asi z 6 %. Sérum albumin se v mléce vyskytuje ve větším množství při mastitidách [13, 10, 23].

Imunoglobuliny jsou po chemické stránce glykoproteiny. Jedná se o různorodou skupinu protilátek pocházející z krevního séra dojnice [5, 6]. Glykoproteiny jsou součástí přirozeného antimikrobiálního systému mléka, který zpomaluje růst kontaminující mikroflóry v čerstvě nadojeném mléce. Jeden z imunoglobulinů, aglutinin, vyvolává při teplotách pod 15 °C shlukování tukových kuliček, což vede k prudkému vyvstávání tuku

na povrchu mléka. Když se aglutinin inaktivuje, dojde ke ztrátě schopnosti vyvstávání tuku na povrchu mléka. Imunoglobuliny se nejvíce vyskytují v mlezivu, proto dochází k přenosu imunity z matky na mládě. Dále je obsah imunoglobulinů vyšší při mastitidách. Imunoglobuliny v mléce jsou důležité hlavně pro narozené mládě, které díky jejich přítomnosti v mléce získá důležité antimikrobní látky, které poskytují ochranu proti mikroorganizmům a toxinům. Obsah imunoglobulinů u zralého mléka je velmi nízký [10, 13, 21, 23, 25, 26].

Proteozo-peptony se od ostatních odlišují tím, že se nesráží zahřátím na teplotu 95 – 100 °C. Obsahují fosfor a mají kratší molekuly [21, 23, 24].

Makroglobuliny tvoří příčné vazby u membrán tukových kuliček. Makroglobuliny mají schopnost shlukovat tuk na povrchu mléka. Při záhřevu nad 100 °C po několik minut dochází ke koagulaci proteinu, což je prevencí vzniku tukové (smetanové) vrstvy na povrchu mléka [24, 25].

1.1.2.3 Nebílkovinné dusíkaté látky

Nebílkovinné dusíkaté látky se mohou v mléce stanovit po odstranění všech bílkovinných látek. Vyskytují se hlavně zplodiny metabolizmu dusíku, které přichází přímo z krve. Obsah nebílkovinných dusíkatých látek stoupá se zvyšujícím se přísunem bílkovin v potravě. Mezi nebílkovinné dusíkaté látky patří především močovina, amoniak, kreatin, kreatinin, kyselina močová. V mléce jich je obsaženo 5 – 7 % z celkového množství bílkovin [15, 27].

Močovina v mléce představuje odpadní koncovkou bílkovinného metabolizmu. Močovina může ovlivňovat bod mrznutí a je přirozenou složkou mléka. Obsah močoviny v mléce je konečný stav dusíkatého a energetického metabolizmu zvířete a je odvislý od krmné dávky a užitkovosti dojnice. Také je důležitý obsah močoviny z hlediska technologického, protože se vztahuje k tepelné stabilitě mléka. Dojnice s vyváženou krmnou dávkou má obsah močoviny v mléce mezi 20 – 30 $mg \cdot 100\ ml^{-1}$ (tj. 3,3 – 5 $mmol \cdot l^{-1}$). Pokud je nadbytek močoviny v krmné dávce, tak se dostane do krevního oběhu velké množství amoniaku a v játrech se mění na močovinu. Nadbytkem močoviny se zhorší i kvalita mléka a také dojde ke špatnému zpracování mléka. Zároveň není dobrý ani nízký obsah močoviny, protože dojde ke snížení bodu mrznutí, který se blíží k 0 °C [6, 8, 12, 19].

1.1.3 Sacharidy

Monosacharidy jsou v mléce zastoupeny fruktózou, glukózou a galaktózou. Disacharid laktóza složený z glukózy a galaktózy, tvoří 90 % všech sacharidů v mléce [10, 12]. Laktóza je redukující sacharid, který tvoří dva anomery, α- a β-laktózu. V mléce je obsah laktózy 4 – 5 %. Množství laktózy v mléce se mění podle plemene dojnice a individuálních faktorů stádia laktace (ve druhé polovině laktace je obsah laktózy v mléce vyšší, méně jí je v mlezivu). Laktóza společně s chloridovými, sodíkovými a draslíkovými ionty má významnou úlohu při udržování osmotického tlaku v mléčném systému [10, 14, 26, 27].

Laktóza je méně sladká než sacharóza, ale její sladivost je v mléce charakteristická. Laktóza u mléčných výrobků má vliv na vlastnosti daného výrobku (chuť a barvu). Při vyšších teplotách dochází k neenzymatickému hnědnutí laktózy. Karamelizace laktózy nastává při 150 °C i vyšších teplotách [8, 10].

Část lidské populace může trpět laktózovou intolerancí, která se hlavně objevuje u dětí. Dochází k špatnému hydrolyzování laktózy v tenkém střevě. Intolerance na laktózu není klasickou alergií, ale přesněji se dá říci, že se jedná o metabolickou poruchu štěpení mléčného cukru. Porucha bývá vrozená. Nemoc vzniká díky tomu, že ve střevě chybí enzym laktáza, který se stará o štěpení mléčného cukru. U lidí, kteří nemají enzym se cukr nerozštěpí a organizmus na něj reaguje jako na cizí látku. Onemocnění se projeví zvracením, průjmem, kožními projevy. Onemocnění je celoživotní, ale s postupujícím věkem může dojít k nepatrnému zlepšení. Lidé postižení intolerancí na laktózu musí ze svého jídelníčku vyřadit konzumaci všech druhů mlék, ale mohou konzumovat sýry a kysané mléčné výrobky, ve kterých je laktóza přeměněna na kyselinu mléčnou. V těchto výrobcích je laktóza v nepatrném množství [3, 7, 27, 28, 29].

Laktóza je dobrý substrát pro rozvoj bakterií, které potřebujeme při výrobě fermentovaných mléčných výrobků a sýrů. Bakterie mléčného kvašení využívají laktózu při technologickém procesu [30, 31].

1.1.4 Minerální látky

Sušina v mléce je tvořena převážně organickými látkami. Hlavní stavební jednotkou organických látek jsou minerální látky a organické prvky. Mléko obsahuje anorganické a organické soli. Solemi lze označovat ty složky mléka, které jsou přítomny ve formě iontů v mléce. Soli se v mléce vyskytují v různých formách: v pravém roztoku nebo v koloidní

formě [4, 10]. Zastoupení solí v mléce je asi 0,7 – 0,8 %. Soli se podílí na stabilitě bílkovinných koloidů a kaseinových komplexů. Nejvýznamnější minerální látky v mléce jsou uvedeny v Tab. 3. Společně s laktózou upravují osmotický tlak. Na obsah minerálních látek v mléce má zásadní vliv fáze laktace [10, 26, 30].

Tab. 3: Minerální látky v mléce a jejich obsah (upraveno podle [3, 30])

prvek	obsah v mléce	prvek	obsah v mléce	prvek	obsah v mléce
Ca	1120 $mg \cdot l^{-1}$	P	890 $mg \cdot l^{-1}$	I	100 – 770 $\mu g \cdot l^{-1}$
Na	530 $mg \cdot l^{-1}$	Fe	0,5 $mg \cdot l^{-1}$	F	20 $\mu g \cdot l^{-1}$
K	1360 $mg \cdot l^{-1}$	Cu	0,09 $mg \cdot l^{-1}$	Ni	26 $\mu g \cdot l^{-1}$
Mg	110 $mg \cdot l^{-1}$	Zn	3,9 $mg \cdot l^{-1}$	Mo	50 $\mu g \cdot l^{-1}$
Cl	970 $mg \cdot l^{-1}$	Mn	30 $\mu g \cdot l^{-1}$	Cr	2,0 $\mu g \cdot l^{-1}$

Minerální látky v mléce mají význam hlavně v primární výživě mláďat, ale lze říci, že mají význam také pro výživu dospívajících a dospělé populace. Především kvůli obsahu vápníku, hořčíku a zinku, které jsou pro člověka z mléka dobře využitelné. Z technologického hlediska se minerální látky podílí na udržení acidobazických a osmotických rovnováh v mléce. Měď, hořčík a zinek mají význam jako kofaktory pro správnou funkci enzymů [10, 12, 19, 20].

Minerální látky lze rozdělit na makroelementy, mezi které patří draslík, vápník, sodík, hořčík, chlór a fosfor, a mikroelementy, které se v mléce vyskytují ve stopovém množství. Draslík a sodík jsou přítomny v pravém roztoku ve formě disociovaných solí (94 %) a zbytek se váže na kasein. Chlór se v mléce vyskytuje ve formě solí a to hlavně jako chlorid sodný, chlorid vápenatý a chlorid draselný [8, 10, 11, 12]. Vápník je z technologického hlediska nejvýznamnější minerální látkou mléka. Aktivita vápenatých iontů významně ovlivňuje koloidní stabilitu kaseinu, termostabilitu mléka a také sladké srážení mléka (vlastnosti sýřeniny při výrobě sýrů). Vápník je v mléce přítomný v rozpustné formě v mléčném séru (hlavně jako hydrogenfosforečnan a citronan vápenatý), dále ve formě disociované [5, 8, 24].

Obsah mikroelementů v mléce největší měrou ovlivňují zootechnické faktory, doprava a zpracování mléka. Železo se podílí na správném fungování enzymových systémů. Měď bývá součástí oxidáz a mangan peptidáz [6, 32].

1.1.5 Vitaminy

Vitaminy patří mezi organické nízkomolekulární látky, které bývají získávány jako exogenní látky potravou a některé z nich prostřednictvím střevní mikroflóry. Tělo je potřebuje ve stopovém množství, pro látkovou přeměnu a regulaci metabolizmu. Lidské tělo si většinu vitaminů nedovede syntetizovat. Vit. D se syntetizuje v kůži člověka účinkem UV záření. Nejsou zdrojem energie ani stavebním materiálem, ale mají funkci jako součást katalyzátoru biochemických reakcí, proto je označujeme jako exogenní esenciální biokatalyzátory [4, 6, 33].

Podle chemické struktury i jejich funkce v organizmu je rozdělujeme na vitaminy rozpustné ve vodě a rozpustné v tucích, obsah je uveden v Tab. 4. Podle výživy dojnic se mění i zastoupení jednotlivých forem vitaminů. V létě se u dojnic krmených zelenou pící a pasoucích se zvýší obsah karotenoidů a vitaminů A, D, E [10, 12].

Tab. 4: Obsah vitaminů v kravském mléce [mg·kg^{-1}] (upraveno podle [3])

vitamin	**obsah v mléce[mg·kg^{-1}]**	**vitamin**	**obsah v mléce [mg·kg^{-1}]**
retinol (vit. A)	0,1 – 1,0	niacin (vit. B_3)	0,8 – 5,0
kalciferol (vit. D)	0,001 – 0,0012	kys. panthothenová (vit. B_5)	0,4 – 4,0
tokoferoly (vit. E)	0,20 – 1,84	pyridoxin (vit B_6)	0,2 – 2,0
vit. K	0,01 – 0,03	kobalamin (vit. B_{12})	0,003 – 0,038
tiamin (vit. B_1)	0,3 – 0,7	biotin (vit. H)	0,01 – 0,09
riboflavin (vit. B_2)	0,2 – 3,0	vit. C	5 – 20

Mezi vitaminy rozpustné v tucích patří vitamin A, D, E a K, které jsou obsaženy v mléčném tuku a po odstředění ve smetaně. Mají různou funkci. Obsah v mléce je velice variabilní a ovlivňuje ho řada faktorů [2, 8, 27]. Především karotenoidy přispívají k nažloutlé barvě mléka a riboflavin, který zapříčiňuje nazelenalou barvu syrovátky. Vitaminy skupiny B mohou podporovat činnost bakterií mléčného kvašení, které se používají jako zákysové kultury pro fermentované mléčné výrobky. Nedostatek vit. B může zpomalovat kysání kultur ve výrobnících fermentovaných mléčných výrobků. Vit. C

je v mléce obsažen v nepatrném množství a z hlediska výživy není tak zásadní, ale má velký význam v ochranně některých složek mléka před rychlou oxidací [3, 30].

1.1.6 Enzymy

Mléko je bohaté na různorodé spektrum enzymů. V mléce savců se nachází až 100 různých enzymů. Koncentrace enzymů, ve 100 mililitrech mléka je řádově v mikrogramech až miligramech. Enzymy mléka se dělí podle různých kritérií. Podle původu to jsou exogenní enzymy (mikrobiální enzymy – přirozené i z kontaminující mikroflóry), endogenní enzymy (původní, nativní enzymy – syntetizované v mléčné žláze, které přechází z krve dojnice) a enzymy, které se do mléka přidávají během technologického zpracování. Některé enzymy se podílí na přirozeném antimikrobiálním systému v mléce a některé mohou katalyzovat biochemické reakce, které pak vedou ke vzniku senzorických vad nebo ke změně technologických vlastností mléčných výrobků. Enzymy ovlivňují nejrůznější životní děje, ve své podstatě to jsou bílkoviny, přičemž některé z nich obsahují další složku (kofaktor), který může být i nebílkovinné povahy [3, 5].

Některé z enzymů mohou být na povrchu tukových kuliček a přechází do smetany (aldehydreduktáza, fosfatáza, lipáza). Pro stanovení aktivity enzymů je potřeba znát vlastnosti daných enzymů. Aktivita enzymů závisí na teplotě a pH. Při záhřevu mléka dochází k denaturaci a inaktivaci enzymů. Podle přítomnosti daného enzymu lze stanovit mléka od různorodých savců, dále lze rozlišit kravské mlezivo a mléko [12, 17].

1.1.6.1 Oxidoreduktázy

Laktoperoxidáza je první enzym, který byl v mléce objeven a izolován v čistém stavu. Rozkládá se za pomocí sulfokyanidu na atomární kyslík, který působí mikrobicidně. Laktoperoxidáza patří do obranného systému mléčné žlázy a tím dochází k ochraně mléka. Díky ní lze prodloužit dobu skladování syrového mléka. Laktoperoxidáza má velkou tepelnou stabilitu, je inaktivována až při teplotě 75 °C/30 minut nebo 80 °C/30 sekund. Nepřítomnost laktoperoxidázy v tepelně ošetřeném mléce stanoví, že vysoká pasterace proběhla správně. [5, 33].

Kataláza je obsažená ve všech tkáních a tekutinách živého organizmu. V mléce od zdravých dojnic je kataláza v nízké koncentraci, ve vyšší koncentraci je kataláza u mléka od dojnic s mastitidou [12, 26, 33].

1.1.6.2 Hydrolázy

Lipázy v mléce způsobují hydrolytické žluknutí mléčného tuku. Jejich množství vzrůstá s postupující fází laktace. V mléce jsou nativního původu [12, 24].

Fosfatáza je přirozenou součástí syrového mléka a je v něm ve formě alkalické a kyselé. Fosfatáza štěpí estericky vázanou kyselinu fosforečnou. Alkalická fosfatáza má původ v epitelu mléčné žlázy, v krvi a v buněčných útvarech. Má výrazně vyšší aktivitu než kyselá fosfatáza, což není žádoucí. Může způsobovat defosforylaci kaseinu při delším skladování mléka. Alkalická fosfatáza ztrácí aktivitu při teplotách nad 70 °C po dobu minimálně 15 sekund. Kyselá fosfatáza má původ v leukocytech. Deaktivuje se teplotou 80 °C po dobu působení 15 sekund. Koncentrace kyselé fosfatázy roste při zánětech mléčné žlázy. Přítomnost fosfatázy se využívá ke kontrole správného provedení tepelného záhřevu (šetrné pasterace) u mléka [15, 26].

Proteázy štěpí peptidové vazby. V mléce se vyskytují jak v endogenní (alkalické i kyselé proteázy) tak i v exogenní podobě. Nativní proteázy vykazují v mléce malou aktivitu. Mikrobiální proteázy pochází z kontaminující mikroflóry. Mohou tvořit velký podíl proteolytické aktivity mléka. Plazminogen je prekurzor plazminu. Plazmin štěpí α a β frakce kaseinu. Při výrobě sýrů z nepasterovaného mléka se plazmin podílí na proteolýze bílkovin [8, 13, 15, 30].

Amyláza je součástí mléka, což je dáno geneticky. V mléce vzniká primárně činností mléčné žlázy. Štěpí škrob na maltózu. Ve větší koncentraci se vyskytuje při nárůstu leukocytů v mléce. Díky ní lze prokázat, že mléko pochází od zdravých dojnic. Pasterace amylázu inaktivuje [12, 30].

Lysozym štěpí glykosidické vazby mukoproteinů (peptidoglykanů) obsažených v buněčné stěně hlavně grampozitivních bakterií. Lysozym je součástí obranného mechanizmu mléka. Aktivita lysozymu se stádiem laktace klesá, naopak stoupá při poruše mléčné sekrece [12].

1.1.7 Hormony

Hormony jsou produkty žláz s vnitřní sekrecí. Katalyzují a řídí metabolické pochody v organizmu. Přítomné hormony v organizmu dojnice se také objeví i v mléce, ve kterém se vyskytují v nepatrném množství a nepředstavují pro konzumenty žádné riziko [6].

1.2 Vlastnosti mléka

1.2.1 Senzorické vlastnosti mléka

K základním senzorickým vlastnostem mléka patří chuť, vůně, barva a konzistence. Mléko má harmonickou chuť, je mírné nasládlé bez cizích příchutí. Nasládlá chuť mléka je způsobena laktózou. Na chuť mléka mohou negativně působit některé látky z krmiva. Vůně mléka je příjemně čistá, bez cizích pachů. Mléko snadno přijímá různé pachy z prostředí, které se vážou na tukové kuličky. Proto je nutné při zisku mléka dodržovat přísné hygienické podmínky. Barva mléka je neprůhledná bílá až slabě nažloutlá, stejná v celém obejmu. Barva mléka je dána přítomností kaseinových micel a tukových kuliček což způsobuje, že mléko je neprůhledné. Barva je také závislá na krmné dávce, ve které se nacházejí karotenoidy a riboflavin. Mléko má hustší konzistenci než voda, nesmí obsahovat žádné usazeniny a nečistoty. Tuk nesmí vyvstávat na povrchu [3, 34, 35].

1.2.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti mléka

Fyzikální a fyzikálně-chemické vlastnosti mléka závisí na faktorech vnějších a vnitřních. Vnější faktory jsou například teplota, ošetření mléka po nadojení a vnitřní faktory jsou například zastoupení jednotlivých složek mléka a jak na sebe působí [4, 35, 36, 37].

1.2.2.1 Hustota

Hustota je hmotnost jednotky látky při teplotě 20 °C a je vyjádřená v $kg \cdot m^{-3}$ nebo $g \cdot cm^{-3}$ nebo jako hodnota L_{20} (laktodenzimetrické číslo). Hustotu mléka lze stanovit podle vzorečku:

$$\frac{1}{\rho} = \sum i \frac{m_x}{\rho_t}$$

kde: m_x je hmotnost a ρ_t je hustota specifické složky mléka při dané teplotě.

Hustota se obvykle pohybuje v rozmezí hodnot 1,026 – 1,036 $g \cdot cm^{-3}$, dle závislosti na obsahu základních složek. S rostoucím obsahem tuku se hustota snižuje a hodnoty pod 1,028 $g \cdot cm^{-3}$ mohou ukazovat na zvodnění mléka. Naopak, pokud se zvýší obsah bílkovin, laktózy a minerálních látek, hustota se zvýší nad 1,032 $g \cdot cm^{-3}$ [4, 36, 37, 38].

1.2.2.2 Povrchové napětí

Povrchové napětí je energie potřebná k vytvoření co nejmenšího množství povrchu kapaliny. Podle obsahu jednotlivých složek má mléko nižší povrchové napětí než voda, proto může snadno zatéci do prasklin a pórů, odkud se špatně odstraňuje, a tato místa mohou být zdrojem mikrobiologické kontaminace. Z toho vyplývají vyšší nároky na dezinfekci a dezinsekci zařízení. Mléko má povrchové napětí při 20 °C $47 \cdot 10^{-3}$ $N \cdot m^{-1}$. Chlazením se povrchové napětí snižuje, ale zvyšuje se pěnivost mléka [3, 6, 38, 39].

1.2.2.3 Oxidačně-redukční potenciál (redox potenciál)

Redox potenciál je udáván přítomností sloučenin podporující oxidačně-redukční reakce. U mléka syrového se vodivost pohybuje mezi 200 – 300 mV. Tepelným ošetřením a destrukcí některých látek podporujících oxidačně-redukční procesy se redox potenciál mléka snižuje na 100 – 150 mV. Rozvoj některých mikroorganizmů (MO) (aerobní bakterie rodu *Pseudomonas* a *Micrococcus,* fakultativně anaerobní koliformní bakterie nebo některé bakterie mléčného kvašení) vede ke snížení obsahu kyslíku v mléce a ke snížení redox potenciálu mléka (i do záporných hodnot) [3, 6, 37, 39, 40].

1.2.2.4 Bod mrznutí

Bod mrznutí je důležitý technologický i fyzikální ukazatel mléka. Posuzuje se podle něho přidání vody do syrového mléka. Bod mrznutí u nakupovaného mléka byl stanoven na mezní hodnotu ≤ -0,520 °C [6, 40].

Bod mrznutí může kolísat díky působení následujících faktorů:

- neúmyslné zvodnění, ke kterému mohlo dojít z technického důvodu (reziduální, kondenzační voda v potrubí),
- nebo došlo ke změně složení a vlastností mléka (vliv sezóny, laktace, krmné dávky, plemene, užitkovosti) [6, 40].

1.2.2.5 Kyselost mléka

Kyselost mléka se rozděluje na titrační a aktivní. U čerstvého mléka měření pH nemá zásadní význam jako ukazatel kvality. Ukazatel pH má zásadní význam při diagnostice mastitid a při výrobě sýrů a fermentovaných výrobků. V čerstvém mléce nelze měřením pH stanovit nepatrné změny aktivní kyselosti, které jsou způsobeny fermentací laktózy. U čerstvého mléka je důležitým ukazatelem titrační kyselost, protože mléko má

tzv. pufrační schopnost. Pufrační systém v mléce je schopen vyrovnávat do určité míry změny pH. Pufrační schopnost mají složky mléka jako fosfáty, citráty, koloidní kalcium-fosfát, uhličitany, proteiny a soli kyseliny mléčné [11, 38, 40, 41, 42].

Titrační kyselost zjistíme při analytickém rozboru mléka. Vyjadřuje se jako spotřeba hydroxidu sodného o koncentraci 0,25 $mol \cdot l^{-1}$ potřebného k neutralizaci kysele reagujících složek ve 100 ml mléka na indikátor fenolftalein. Běžně se uvádí v jednotkách Soxhlet-Henkelových (SH) nebo v $mmol \cdot l^{-1}$. U čerstvého mléka od zdravých a dobře krmených dojnic se pohybuje kolem 7 SH (6,2 – 7,8 SH) [4, 6, 42].

Aktivní kyselost se stanoví pH-metrem. Mléko z hlediska koncentrace vodíkových iontů vykazuje přibližně neutrální reakci. U čerstvě nadojeného mléka se pohybuje pH v rozmezí 6,4 – 6,8, ale obvykle je hodnota pH 6,6 [38, 43, 44].

1.2.3 Technologické vlastnosti mléka

1.2.3.1 Kysací schopnost

Kysací schopnost je schopnost tvorby kyseliny mléčné z laktózy pomocí bakterií mléčného kvašení. Používají se čisté mlékařské kultury, které se úmyslně přidávají při zpracování mléka na různé výrobky. Bakterie mléčného kvašení bývají většinou citlivé na podmínky prostředí a je řada faktorů, které mohou zpomalit nebo i zastavit jejich růst [3, 5, 43, 45].

1.2.3.2 Syřitelnost

Syřitelnost je schopnost srážet se syřidlem a tvořit sýřeninu požadovaných vlastností. V sýrařské technologii je základním kritériem jakosti mléka. Syřitelnost je ovlivněna obsahem kaseinu, velikostí a stavem kaseinových micel, zastoupením jednotlivých frakcí, obsahem a formou vápníku a fosforu a dalších minerálních látek, pH mléka, technologickým zpracováním mléka [3, 6, 43].

1.2.3.3 Tepelná stabilita

Tepelná stabilita udává odolnost mléčných bílkovin proti srážení při záhřevu. Patří mezi důležitou podmínku při technologickém opracování mléka (u výrobků, na které působí vyšší teplota např. trvanlivé mléko). Tepelnou stabilitu ovlivňuje řada faktorů (zdravotní stav, počet laktací a stádium laktace), kyselost mléka, obsah a skladba bílkovin [3, 6, 40, 43].

2 VYBRANÉ METODY HODNOCENÍ SYROVÉHO MLÉKA

2.1 Orientační stanovení složek mléka pomocí analyzátorů mléka

Na přístroji MilkoScope, Lactostar, MilcoScan, aj. lze stanovit následující složky a vlastnosti mléka: voda, tukuprostá sušina, tuk, bílkoviny, laktóza, minerální látky, stupně denzitometrické (hustota mléka), teplota. Uvedené přístroje jsou vysokorychlostní analyzátory mléka, které využívají hlavně mlékárny pro orientační stanovení složek v mléce [8].

2.2 Měrná vodivost

Elektrická vodivost je důležitý ukazatel kvality mléka. Způsobují jí hlavně disociované soli. Mléko od zdravých dojnic má elektrickou vodivost 0,4 – 0,52 $S \cdot m^{-1}$. Mastitidy elektrickou vodivost zvyšují, protože se snižuje obsah nevodivé laktózy [6, 44].

2.3 Hustota

Hustota je důležitým faktorem kontroly složení mléka. Referenční metodou pro stanovení hustoty mléka je metoda pomocí vážení mléka při 20 °C v pyknometru. Mléko bylo zahřáto na teplotu 40 °C a rychle ochlazeno na teplotu 20 °C, aby tuková fáze byla v kapalném stavu. Dále lze hustotu stanovit mléčným hustoměrem (laktodenzimetrem) [44, 45, 46].

2.4 Kyselost

Kyselost v mléce lze stanovit jako aktivní a titrační [6].

2.4.1 Aktivní kyselost

Aktivní kyselost představuje pH mléka. Pro stanovení aktivní kyselosti se využívá potenciometrická metoda, měření se provádí pH-metrem. pH je definované jako záporně vzatý dekadický logaritmus koncentrace oxoniových kationtů ($pH = -\log [H_3O^+]$). Kyselost lze stanovit na pH metru kalibrovaném roztokem o pH 7 a dalšími roztoky o pH 4 nebo 9 [43 45, 46, 47].

2.4.2 Titrační kyselost

Kyselost mléka podle Soxhlet-Henkela (SH) udává spotřebu roztoku NaOH o koncentraci 0,25 $mol \cdot l^{-1}$ potřebného k neutralizaci kysele reagujících složek ve 100 ml mléka na indikátor fenolftalein. 1 SH odpovídá 1 ml spotřebovaného roztoku NaOH [6, 43].

2.5 Sušina

Sušinu mléka lze stanovit několika způsoby. První způsob je výpočtem: sušina je podíl všech složek mléka zjištěný výpočtem z hustoty (laktodenzimetricky) a tuku (acidobutyrometricky). Je daná jako procentuální podíl [40, 43, 44].

Provozní zároveň i referenční metodou pro stanovení sušiny mléka je stanovení metodou vážkovou. Sušina mléka patří mezi základní parametry pro posouzení mléka, k zjištění jeho případného porušení a pro určení jeho technologické hodnoty. Sušina mléka je podíl, který zbývá po vysušení při teplotě 102 ± 2 °C za daných podmínek metody. Daný vzorek mléka se suší do konstantní hmotnosti a obsah sušiny se vypočítá z rozdílu hmotnosti před sušením a po vysušení a udává se v % nebo v $g \cdot 100\ g^{-1}$ [44, 45, 48].

2.6 Tuk

Referenční metodou pro stanovení obsahu tuku v mléce je metoda gravimetrická dle Röse-Gottlieba. Obsah tuku lze vyjádřit jako podíl extrahovaný za podmínek dané metody. Po rozpuštění bílkovin amoniakem se za přídavku etanolu, extrahuje tuk pomocí směsi dietyleteru a petroeteru a množství tuku se následně zváží [43, 48].

Provozní metodou pro stanovení obsahu tuku v mléce je metoda acidobutyrometrická (dle Gerbera). Obsah tuku v mléce je vyjádřený jako podíl tuku, který lze po rozpuštění bílkovin kyselinou sírovou (91 %) a za přídavku amylalkoholu oddělit v butyrometru odstředěním při 1100 otáčkách za minutu při teplotě 65 °C. Když by klesla teplota pod 65 °C během odstřeďování, tak po odstředění lze butyrometry vložit do vodní lázně o teplotě 65 – 68 °C. Odečtený obsah tuku lze vyjádřit v $g \cdot 100\ ml^{-1}$ mléka nebo ho lze přepočítat na $g \cdot 100\ g^{-1}$ mléka (tj. %) [42, 43, 48].

K moderním instrumentálním metodám lze zařadit metody na principu infračervené spektrometrie, či metodu turbidimetrickou, která měří zákal tukových kuliček [48].

2.6.1 Volné mastné kyseliny

Podle ČSN 57 0533 z roku 1997 lze stanovit obsah volných mastných kyselin v mléce pomocí extračně-titrační metody. Obsah volných mastných kyselin se v mléce zvyšuje lipolýzou mléčného tuku [48].

2.7 Bílkoviny

Bílkoviny lze stanovit pomocí přístrojové automatizované metody na principu kjeldalizace (mineralizace, destilace, titrace), nebo pomocí metody infračervené spektrometrie (MIR, NIR) založené na absorpci infračerveného záření vazbami mezi N a H peptidicky vázanými aminokyselinami v bílkovinách. Dále je lze stanovit pomocí reakce bílkovin s barvivy (amidočerní 10B), kdy se na bílkoviny mléka váže barvivo, jehož úbytek zjištěný spektrometricky je úměrný obsahu bílkovin, nebo metodou s využitím iontově selektivní elektrody [42, 48].

Bílkoviny lze též stanovit pomocí technické metody dle Steineggera, kde se stanovuje takzvané aldehydové číslo, nebo-li kyselost mléka po přídavku formaldehydu, kterým se blokují volné skupiny -NH_2. Aldehydové číslo je dáno počtem ml 0,25 mol·l^{-1} NaOH potřebného k neutralizaci vzorku (přičemž 1 ml 0,25 mol·l^{-1} NaOH odpovídá 0,0758 g bílkovinného dusíku). Daný výsledek vydělený hustotou udává obsah bílkovin v % [43, 48].

2.7.1 Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek (hrubé bílkoviny)

Prvním krokem při stanovení dusíkatých látek podle metody Kjeldahla je proces mineralizace. Dusíkaté látky (vázané organicky) se mineralizují mokrou cestou, kdy působením kyseliny sírové dojde k převedení na $(NH_4)_2SO_4$. Proces rozkladu se urychlí zvýšením teploty varu (Na_2SO_4) a použitím katalyzátoru (síran sodný, síran měďnatý, selen) [12, 48].

$$2\,NH_3 + H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4$$

Ze síranu amonného se roztokem kontrovaného hydroxidu sodného uvolňuje amoniak, který je destilován vodní parou v Parnas-Wagnerově destilační aparatuře [46, 47, 48].

$$(NH_4)_2SO_4 + 2\,NaOH \rightarrow 2\,NH_3 + Na_2SO_4 + 2\,H_2O$$

Amoniak se jímá v předloze s nadbytečným množstvím roztoku kyseliny sírové [45, 48].

$$2\,NH_3 + H_2SO_4 \rightarrow Na_2SO_4 + 2\,H_2O$$

Množství nezreagované kyseliny sírové se stanoví titračně odměrným roztokem hydroxidu sodného za použití indikátoru Tashiro nebo metylčerveně [48, 49].

$$H_2SO_4 + 2\ NaOH \rightarrow Na_2SO_4 + 2H_2O$$

Při stanovení bílkovin pomocí metody Kjeldahla s úpravou podle Winklera se uvolněný amoniak jímá do předlohy s kyselinou boritou [48, 49].

$$6\ NH_3 + 2\ H_3BO_3 \rightarrow 2\ (NH_4)_3BO_3$$

Vzniklý boritan amonný se stanoví titračně odměrným roztokem kyseliny sírové na indikátor Tashiro nebo metylčerveň [48, 49].

$$2\ (NH_4)_3BO_3 + 3\ H_2SO_4 \rightarrow 3\ (NH_4)_3SO_4 + 2\ H_3BO_3$$

2.7.2 Termostabilita bílkovin

Termostabilita bílkovin se stanovuje před použitím tepelného zákroku, při zpracování mléka je potřeba zjistit, zda bílkoviny syrového mléka mají dostatečnou termostabilitu (nesmí docházet ke srážení bílkovin ve vločkách). Termostabilitu lze zjišťovat alkoholovou zkouškou. Alkohol odnímá hydratační vodu a převádí koloidní roztok bílkovin v gel. Dostatečně stabilní bílkoviny mléka odolávají působení etanolu o koncentraci 75 %. Odolnost bílkovin mléka vůči teplotě lze stanovit i záhřevem, působením konkrétních parametrů času a teploty (využívaných při technologickém opracování) [48].

2.7.3 Amoniak a močovina

Obsah amoniaku a močoviny v mléce lze stanovit použitím testu Urea/Amoniak Rapid, kdy se močovina hydrolyzuje na NH_3 a CO_2 za pomoci ureázy. V přítomnosti GIDH (glutamátdehydrogenázy) a redukovaného NADPH reaguje NH_3 (ve formě NH_4^+) s 2-oxoglutarátema vytváří kyselinu L-glutamovou a $NADP^+$. Obsah vytvořeného $NADP^+$ je úměrný amoniaku. Na každý zreagovaný mol močoviny se spotřebovávají 2 moly NADPH a jeho spotřeba se zjišťuje snížením absorbance při 340 nm [45, 48].

K dalším metodám, které lze používat v laboratořích je např. metoda enzymaticko-konduktometrická, která se provádí na přístroji Urekvant, či infračervená spektrometrie [46].

2.8 Laktóza

Laktózu v mléce lze stanovit polarimetricky na základě měření optické aktivity (tj. schopnost stáčet rovinu polarizovaného světla o určitý úhel) vzorku mléka. Analyzované vzorky pro měření optické aktivity musí být čiré, proto se provádí čiření pomocí činidel Carrez (I., II.), kterými se odstraní bílkoviny [45, 48, 49].

$$K_4[Fe](CN_6) + 2\ ZnSO_4 \rightarrow 2\ K_2SO_4 + Zn_2[Fe(CN_6)]$$

Na polarimetru se měří úhel stočení roviny polarizovaného světla za konstantních podmínek [49].

Úhél otočení je úměrný koncentraci sacharidů [47, 48]:

$$\alpha = [\alpha]_\lambda^t \cdot l \cdot c$$

kde $[\alpha]_\lambda^t$ - specifická otáčivost při teplotě t a vlnové délce λ [°]

l - délka polarimetrické trubice [dm]

c - koncentrace stanovované látky [$g \cdot ml^{-1}$]

2.9 Chloridové ionty

Chloridové ionty lze stanovit argentometrickou titrací po přidání kyseliny dusičné, kdy dojde k vysrážení chloridů přebytkem roztoku sulfokyanidu draselného, který lze stanovit zpětnou titrací [46, 48].

Chlorcukrové číslo je poměr mezi obsahem chloridových iontů a obsahem laktózy v mléce. Číslo je vhodnou charakteristikou mléka od mastitidních dojnic [46, 48].

2.10 Vápník

Vápník v mléce lze stanovit chelatometrickou titrací odměrným roztokem chelatonu (komplexu) 3 (disodná sůl kyseliny etylendiamintetraoctové) při použití murexidu jako indikátoru. Průběh komplexotvorných reakcí je ovlivněn hodnotou pH, kterou je třeba v průběhu titrace udržovat na stálé hodnotě (pH 12). 1 ml 0,01 $mol \cdot l^{-1}$ komplexonu 3 odpovídá 0,40 mg vápníku [17, 48].

2.11 Průkaz pasterace mléka

K důkazu, zda bylo mléko pasterováno na předepsanou teplotu a dobu lze využívat enzymatické, mikrobiologické (stanovení pasteračního efektu) a fyzikální metody (registrace průběhu pasterace) [43, 46, 50].

2.11.1 Enzymatické zkoušky

Enzymatickými metodami lze prokázat aktivitu primárních enzymů syrového mléka (peroxidázy a fosfatázy). V syrovém nebo nedostatečně pasterovaném mléce nebo ve směsi mléka pasterovaného a syrového jsou zjišťovány enzymy ve vysoké koncentraci, v mléce tepelně ošetřeném je jejich obsah nízký a výsledek testů je pak negativní. Stanovení lze provádět pouze u čerstvých vzorků mléka [43, 46, 50].

2.11.1.1 Peroxidázová zkouška podle Storcha

Enzym peroxidáza odštěpuje z peroxidu vodíku kyslík, který dává s p-fenylendiaminem modré zbarvení. Podle této metody lze prokázat záhřev mléka nad 80 °C. Zkouška tedy slouží k průkazu vysoké pasterace. Při dalším uchování mléka však dojde k regeneraci peroxidázy vlivem mikrobiální činnosti. Za průkaznou se považuje zkouška v den, kdy mléko bylo tepelně ošetřeno a uchováno při teplotě do 10 °C. Dá se prokázat příměs nejméně 1 % nepasterovaného mléka v mléce pasterovaném [43, 46, 50].

2.11.1.2 Fosfatázová zkouška

Zkouška slouží k průkazu mléka zahřátého na teplotu 71 – 74 °C. Fosfatáza, která je obsažená v syrovém mléce nebo mléce zahřátém na méně než 71 °C, štěpí za alkalické reakce fenylester kyseliny fosforečné. Uvolněný fenol kondenzuje s indikátorem, vzniká barevný produkt. Pro průkaz pasterace lze využít vhodný komerčně vyráběný test [43, 46].

2.11.2 Stanovení pasteračního efektu

Účinnost pasterace lze stanovit mikrobiologickou metodou na základě stanovení přežívajících mikroorganizmů v poměru k jejich počtu před pasterací. Pasterační efekt účinného záhřevu mléka musí být 99,90 – 99,99 % [43].

3 TEPELNÉ OŠETŘENÍ MLÉKA

Mléko tepelně neošetřené lze koupit u prvovýrobců (na farmě, nebo v mlékomatech). Mléko, které jde do spotřební sítě, musí být až na výjimky tepelně ošetřené. K tepelnému ošetření nemusí dojít v případě, že se mléko dále zpracovává na výrobu sýrů dlouhodobě zrajících (mohou zrát několik měsíců i let), např. sýr Parmezán, u nás Gran Moravia, ale v takových případech se využívá termizačního záhřevu, kterým se sníží počet MO. Tepelným ošetřením mléka dojde k inaktivaci patogenních a podmíněně patogenních MO, popřípadě ke zničení ostatní technologicky nežádoucí mikroflóry. Dále dojde k deaktivaci enzymů jak nativních, tak i syntetizovaných kontaminující mikroflórou. Podle zvoleného způsobu tepelného ošetření a podle druhu a množství usmrcených MO dojde k prodloužení trvanlivosti mléka [3, 30, 39, 51, 52].

3.1 Termizační záhřev

Termizační záhřev je pod teplotní hranicí pasterace. Využívá se teploty 63 – 68 °C/15 sekund. Dojde ke snížení počtu vegetativních MO a k inaktivaci tepelně labilních enzymů. Termizační záhřev je volen pouze v některých případech. Může se použít jako první ošetření mléka před pasterací, čímž dojde k prodloužení trvanlivosti mléka o několik hodin. [3, 30].

3.2 Pasterace

Pasterace je tepelné ošetření mléka, při kterém dojde k zničení přítomných vegetativních MO, které se v daném prostředí mohou vegetovat. Spory MO nejsou inaktivovány a za vhodných podmínek mohou v daném prostředí vyklíčit. Pasterací mléka se sleduje omezení počtu nežádoucích MO, napomáhá k zajištění zdravotní nezávadnosti a prodloužení trvanlivosti mléka a mléčných výrobků. Při pasteraci je důležité zajistit co nejmenší změny vlastností mléka (fyzikálních, chemických, biologických) [3, 30, 51, 52, 53, 54].

Pasterační efekt je kombinace teploty a času výdrže. Pasterace je tím účinnější, čím je výchozí surovina z prvovýroby mikrobiologicky jakostnější. Pasterační efekt lze vypočítat podle vztahu:

$$\mathrm{PE} = \frac{\mathrm{CPM_0} - \mathrm{CPM_P}}{\mathrm{CPM_0}} \cdot 100$$

kde $\mathrm{CPM_0}$ - počet MO před pasteračním zásahem

CPM_P - počet MO po tepelném záhřevu [3].

Pasterace mléka se provádí v kontinuálních pasteračních zařízeních (deskové či trubkové pasterační zařízení), nebo diskontinuálních (šaržových, kotlových) pasterech. Nejvyužívanější jsou desková pasterační zařízení, naopak diskontinuální pastery se využívají minimálně (záhřev probíhá v duplikátorové nádobě). Mléko se přečerpává z úschovné nádrže do I. regenerační sekce, kde dojde k předehřátí mléka na teplotu 40 – 60 °C. Ohřívací kapalinou je zde pasterované mléko, které má vyšší teplotu a předává část svého tepla mléku, které přichází k pasteraci. Předehřáté mléko je odvedeno mezistěnou pasteru do odstředivky (úprava tuku v mléce). Po standardizaci obsahu tuku se mléko vrací mezistěnou a vstupuje do II. regenerační sekce, kde se ohřívá horkým pasterovaným mlékem z výdržníku. Z II. regenerační sekce vstupuje mléko mezistěnou do termosekce. V termosekci dochází k ohřevu mléka na pasterační teplotu, zde je ohřívacím mediem horká voda s regulací teploty (rozdíl v teplotách by neměl být větší jak 2 – 4 °C, aby nedocházelo k napékání mléčného kamene na desky pasteru). Zahřáté mléko odchází z termosekce do výdržníku, který je umístěn v pasterační stanici mimo deskové pasterační zařízení. Jde o izolovanou nádobu vybavenou systémem potrubí, kde mléko proudí požadovanou dobu podle zvolené technologie. Pasterované mléko, které odchází z výdržníku proudí do II. regenerační sekce, kde předává část svého tepla mléku, které proudí do termosekce. Pak pasterované mléko odchází do I. regenerační sekce, kde předehřeje mléko vstupující ze zásobního tanku. Mléko vystupující z výdržníku se v II. a I. regenerační sekci částečně ochladí. Následně mléko proudí do chladící sekce (chladícím mediem je ledová voda). Chladící sekce může být rozdělena do dvou subsekcí. V první subsekci může být chladícím mediem studená voda, ve druhé subsekci je to ledová voda nebo solanka. Ochlazuje se na předepsanou teplotu (6 – 8 °C) [3, 30, 54, 56, 57, 58, 59].

3.2.1 Šetrná pasterace

Šetrná (krátkodobá) pasterace představuje záhřev na teplotu 72 – 75 °C/15 – 20 sekund. Tato pasterace se využívá při výrobě sýrů i konzumních mlék. Při pasteraci dojde k inaktivaci alkalické fosfatázy, ale zůstává zachována aktivita laktoperoxidázy, senzorické a technologické vlastnosti jsou ovlivněny jen minimálně, denaturace sérových bílkovin je z 15 %, změny vápníku jsou minimální. Pasterační efekt je 99,5 – 99,9 % [3, 14, 17, 54].

3.2.2 Dlouhodobá pasterace

Při dlouhodobé pasteraci se mléko zahřeje na teplotu 63 – 65 °C/30 minut. Tato pasterace se v dnešní době už moc nevyužívá, jedná se o zastaralý způsob. Dochází k inaktivaci alkalické fosfatázy. Pasterační efekt je 95 – 99 %. Jedná se o diskontinuální proces (šaržovité kotlové uspořádání). Při dlouhodobé pasteraci dojde ke ztrátě vitaminů a destrukci sérových bílkovin [3, 17, 30, 54, 60].

3.2.3 Vysoká pasterace

Při vysoké pasteraci se mléko zahřívá na teplotu 85 °C i vyšší po dobu několik sekund. Vyšší teplota se volí např. při výrobě jogurtů (90 – 95 °C/sekundy až minuty, obvykle po dobu 2 minut). Tato pasterace se používá tehdy, když je žádoucí denaturace sérových bílkovin (cca z 50 %). Vysokou pasterací dojde k inaktivaci laktoperoxidázy i alkalické fosfatázy, dále k inaktivaci některých psychrotrofních proteáz a lipáz a k rozsáhlé změně forem vápníku (vznikají nerozpustné formy vápníku). Pasterační efekt je 99,9 – 99,99 % [3, 17, 30, 54, 60].

3.2.4 Pasterace smetany

Při pasteraci smetany se zahřívá smetana na teplotu nejméně na 90 °C po dobu několika sekund. Mléčný tuk vede teplo hůře, proto se v mlékárenských závodech ohřívá mléko na 100 – 105 °C, paster pracuje za mírného přetlaku a proto lze ohřívat nad 100 °C. Další důvod volby vyšší teploty pasterace je, že MO více kumulují na povrchu tukových kuliček, smetana má vyšší viskozitu než mléko. Při vyšší teplotě dochází k inaktivaci lipázy, k uvolňování tiolových skupin, které mohou působit jako antioxidační činidla ochraňující do určité míry látky lipidové povahy před oxidačními změnami, ale mohou vznikat nežádoucí pachové látky např. vařivá příchuť. Smetana dále prochází přes deaerační komoru (přímým podtlakem), kde dojde k odvětrání pachových látek [3, 30, 52].

3.2.5 Ultrapasterace

V případě ultrapasterace se mléko zahřívá na teplotu 125 – 145°C po dobu 0,3 – 0,4 sekund. Jedná se o zvláštní druh vysoké pasterace. Dojde k prodloužení trvanlivosti mléka na 30 – 40 dní, jedná se o tzv. extended-shelf-life (ESL) mléko [3, 30].

3.3 Sterilace

Při tepelném ošetření mléka pomocí sterilace dojde k prodloužení trvanlivosti mléka na měsíce až roky. Sterilací dojde ke zničení MO včetně jejich spor, které mohou v daném prostředí škodit. MO, které neškodí, mohou přežít. Při sterilaci je nutné zachovat senzorické a některé technologické vlastnosti i nutriční hodnotu mléka [3, 26, 59, 61].

Sterilace se rozděluje na sterilaci v obalu a UHT ošetření. Sterilace mléka v obalu se provádí většinou diskontinuálně v autoklávech či kontinuálně. Po předehřátí mléka se steriluje při teplotě 115 – 125 °C/10 – 30 minut. Při kontinuální sterilaci lze využít tzv. hydrostatických sterilátorů s vodními uzávěry a sterilačním prostorem (sterilační věže nebo kolony). Kontinuální sterilace výrobků v obalech se nyní v mlékárenských provozech neprovádí. Steriluje se v distribučních obalech (většinou sklo) diskontinuálním procesem. Mléko a sklenice se předehřejí, mléko se naplní do sklenic a uzavře se hermeticky kovovým uzávěrem a poté se steriluje v autoklávech (stojatých nebo ležících, plnění ze shora či ze strany). Autokláv je v podstatě tlaková nádoba. Výrobky jsou naplněny do košů, které se umístí do autoklávu, který se uzavře a naplní vodou. Využívá se protitlakové sterilace (obvyklý tlak pro teplotu 120 °C je 0,2 – 0,4 MPa). V některých autoklávech dochází k rotaci naplněných košů, pomocí otáčivého zařízení s frekvencí maximálně několika desítek otáček/minuta. Po dosažení předepsané teploty a předepsané doby výdrže se obsah v autoklávu ochlazuje chladící vodou a tím dochází k poklesu přetlaku. Po vychlazení pod 40 °C se tlak v autoklávu vyrovná okolnímu (atmosférickému) tlaku. Koše se vyjmou a výrobky se nechají okapat a oschnout. Při sterilaci v obalu mohou vznikat nežádoucí senzorické a nutriční změny. Mléko je jemně nahořklé, má vařivou příchuť a nahnědlou barvu. Sterilace v obalech se v současné době k výrobě konzumního mléka nevyužívá. Využívá se při sterilaci smetany do kávy, kdy se sklenice do košů postaví hrdlem vzhůru a rotací se převrací, tím dochází k promíchání celého obsahu a to přispívá ke snížení degradačních změn [3, 30, 61].

UHT-záhřev (ultra high temperature), tedy vysokotepelné ošetření mléka, lze provádět přímým a nepřímým způsobem, podle toho, zda dojde ke styku zahřívacího media s mlékem (přímý UHT-záhřev), nebo nedojde ke styku s ohřívacím mediem (nepřímý UHT-záhřev) [3, 30, 61].

Přímý UHT-záhřev se provádí při teplotě nad 140 °C a lze ho provádět vstříknutím páry do mléka (steam injection systém, uperizace) nebo vstřikem mléka do páry (steam infusion

systém, palarizace). U obou způsobů přímého UHT-záhřevu dochází nejprve k předehřátí mléka v deskovém výměníku na 80 °C (jako ohřívací medium může být voda či sterilované mléko). Předehřáté mléko vstupuje do parního injektoru nebo parního infuzoru (u obou je přetlak 0,3 – 0,4 MPa), kdy sytá pára při kontaktu s mlékem ho mžikově ohřeje na teplotu nad 140 °C. Zároveň sytá pára zkondenzuje a dojde k mírnému zvodnění mléka. Přetlak v parním injektoru i parním infuzoru zvýší bod varu mléka tak, aby nedošlo k jeho odpaření. Ohřáté mléko jde do výdržníku, kde proudí po předepsanou dobu. Tepelně ošetřené mléko se čerpá do expanzní komory, kde je mírný podtlak. Dochází k mžikovému ochlazení teploty pod 100 °C a k odparu části vody. Teplota a podtlak se sleduje, aby nedocházelo k velkému odparu vody. Teplota a tlak v expanzní komoře se volí podle zvolené technologie (80 – 45 °C s tlakem 0,04 – 0,01 MPa). Sekundární efekt expanzní komory je, že dojde k odstranění případných pachů a plynů díky podtlaku. Následuje dvoustupňová homogenizace mléka za aseptických podmínek, aby nedošlo ke kontaminaci ošetřeného mléka. Po homogenizaci se mléko ochlazuje v deskovém výměníku a přečerpává do aseptického tanku, nebo mléko odchází přímo na aseptické balící zařízení. V tomto systému je také zpětný ventil, který zabraňuje nedostatečně tepelně ošetřenému mléku vstoupit do balícího zařízení a vrací jej na počátek výrobní linky do zásobního tanku. Moderní linky bývají vybaveny systémem CIP zajišťujícím čištění, dezinfekci a následný dokonalý oplach vnitřních částí zařízení. Sterilace systému před započetím výroby je řízena automaticky [3, 30, 61].

Nepřímý UHT-záhřev se provádí za teploty 135 – 142 °C s výdrží několika sekund. Provádí se v deskových nebo trubkových výměnících. Nedochází ke styku ohřívané kapaliny a zahřívacího media (vody), proto nedojde ke změně obsahu sušiny mléka. Mléko se nejprve čerpá ze zásobníku tanku do regenerační sekce, kde dochází k předehřátí mléka nad 70 °C. Předehřáté mléko jde do homogenizátoru, který nemusí být aseptický. Po homogenizaci mléka se mléko přečerpá do termosekce, kde je ohřívacím mediem voda, která se ohřívá pomocí páry (mimo deskový výměník pro UHT ošetření). Ve výměníku se udržuje tlak 0,4 – 0,5 MPa, aby se bod varu mléka zvýšil. Mléko se následně čerpá do výdržníku, chladí se a odchází přímo do aseptického plnícího zařízení nebo do aseptického tanku [3, 30, 58, 61].

4 LEGISLATIVA

4.1 Národní legislativa

Potravinami se zabývá už zákon č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích (v platném znění) [62]. Dále zákon č. 166/1999 Sb. o veterinární péči (v platném znění) se zabývá požadavky na chovatele hospodářských zvířat, státní a krajskou veterinární správu, na živočišné produkty, atd. [63]. V těchto zákonech nejsou uvedeny konkrétní požadavky na mléko, proto se jimi diplomová práce dále nezabývá.

Chovatel může v malých množstvích prodávat se souhlasem krajské veterinární správy syrové mléko (mlékárensky neošetřené) přímo konečnému spotřebiteli pro spotřebu v jeho domácnosti podle § 13 odstavce 1, vyhlášky č. 61/2009 Sb. o veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty, které nejsou upraveny přímo použitelnými předpisy Evropského společenství. Syrové mléko musí pocházet od zdravých zvířat z hospodářství úředně prostého tuberkulózy a brucelózy a musí být získáno hygienickým způsobem. Za malé množství syrového (mlékárensky neošetřeného) mléka se považuje takové množství, které odpovídá obvyklé denní spotřebě mléka v domácnosti podle §13 odstavce 6 této vyhlášky. Podle této vyhlášky §13 odstavce 4 syrové mléko určené k přímému prodeji musí být do 2 hodin po nadojení zchlazeno na 8 °C a zchlazené prodáno do 24 hodin po nadojení [64].

Ve vyhlášce č. 77/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje (v platném znění) jsou charakterizovány základní pojmy týkající se mléka, mléčných výrobků, tepleného ošetření, aj. Dále jsou zde uvedeny požadavky na označování a jakost mléka a mléčných výrobků. [65].

V ČSN 57 0529 Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování jsou uvedeny základní požadavky na získání mléka od dojnic, které jsou z chovu prostých tuberkulóz a brucelóz, nesmí vykazovat zjevné příznaky onemocnění přenosných na lidi. Dále nesmí vykazovat zjevné příznaky poruch celkového zdravotního stavu a zánětu, poranění mléčné žlázy a kůže mléčné žlázy a musí dojit nejméně 2 litry denně, ale nesmí být změněna frekvence dojení před procesem zaprahování. Mléko podle normy musí být čerstvé, z jedné nebo více dojí, získané úplným vydojením dojnic. Dále jsou v normě uvedeny požadavky na získání mléka od dojnic, a fyzikálně-chemické a mikrobiologické požadavky na jakost. V normě jsou také uvedeny smyslové požadavky na jakost mléka.

Barva mléka by měla být bílá, popřípadě s lehce nažloutlým odstínem. Z hlediska konzistence a vzhledu musí být mléko tekutina stejnorodá v celém obsahu bez usazenin, vloček a hrubých nečistot. Chuť a vůně mléka musí být čistě mléčná bez cizích příchutí a pachů. Dále jsou v normě uvedeny požadavky na rozbor mléka. Mlékárny, které vykupujímléko od prvovýrobců musí odebírat vzorky syrového mléka od každého odběratele (zvlášť do označených vzorkovnic) a provádět jejich rozbor. U celkového počtu mikroorganizmů se sleduje geometrický klouzavý průměr na dvouměsíční období, kdy musí být odebrané 2 vzorky za měsíc. Počet somatických buněk je také dán klouzavým geometrickým průměrem za tříměsíční období, kdy se minimálně jednou měsíčně odebírají vzorky [34].

4.2 Nadnárodní legislativa

Podle Nařízení Komise (ES) č. 1662/2006, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, se syrovým mlékem rozumí mléko produkované sekrecí mléčné žlázy hospodářských zvířat, které pochází od zdravých dojnic, kterým nebyly podány nepovolené léčiva, a byla dodržena ochranná lhůta stanovená pro tyto přípravky. Mlezivem se podle tohoto nařízení rozumí tekutina vylučovaná mléčnými žlázami zvířat s mléčnou užitkovostí 3 až 5 dní po porodu, které je bohaté na protilátky a minerály a předchází produkci syrového mléka. Mlezivo se musí dojit odděleně, nesmí dojít k smíchání s mlékem, došlo by totiž k jeho znehodnocení. Bezprostředně po nadojení musí být mléko skladováno v chladícím tanku a ihned zchlazeno na teplotu do 10 °C (při každodenním svozu je teplota 8 °C, nebo při obdenním svozu do 6 °C). Během přepravy musí být zachován chladící řetězec, kdy nesmí teplota překročit 10 °C. Dále jsou v nařízení uvedené požadavky na personál, hygienické požadavky na syrové mléko, požadavky na provozovatele potravinářských podniků a požadavky na tepelné ošetření mléka. Nařízení vyžaduje, aby pasterace představovala takové tepelné ošetření, které zajistí, aby výrobky (mléko) bezprostředně po pasteraci vykazovaly negativní reakci při testu na alkalickou fosfatázu. Nařízení stanoví, že se pasterace dosahuje ošetřením:

- vysokou teplotou po krátkou dobu (nejméně 72 °C/15 sekund),
- nízkou teplotou po dlouhou dobu (nejméně 63 °C/30 minut),
- jakoukoliv jinou kombinací času a teploty vedoucí ke stejnému účinku.

Nařízení udává, že ošetření velmi vysokou teplotou (UHT) lze dosáhnout záhřevem zahrnující přítok tepla za teploty 135 °C po krátkou dobu, tak aby v ošetřeném výrobku

nebyly žádné živé mikroorganizmy ani jejich spory schopné růst v prostředí aseptické uzavřené nádoby při pokojové teplotě [66].

V Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1308/2013, kterým se stanoví společná organizace trhů se zemědělskými produkty, je oddíl 3 věnován mléku a mléčným výrobkům. Podle tohoto nařízení se mlékem rozumí výhradně běžná tekutina vyloučená mléčnou žlázou získaná z jednoho nebo více dojení bez toho, aby se do ní cokoli přidávalo nebo z ní odebíralo. Konečnému spotřebiteli může být bez zpracování dodáváno nebo prodáváno, ať již přímo nebo prostřednictvím restaurací, nemocnic, jídelen nebo dalších podobných zařízení, pouze mléko, které splňuje požadavky stanovené pro konzumní mléko. Konzumním mlékem se rozumí syrové mléko nebo-li mléko, které nebylo zahřáto na více než 40 °C, ani ošetřeno jiným způsobem s rovnocenným účinkem. Konzumní mléko musí mít dle tohoto nařízení bod mrznutí blížící se průměrnému bodu mrznutí syrového mléka, který byl zjištěn ve sběrné oblasti původu, dále musí mít specifickou hmotnost nejméně 1028 $g \cdot l^{-1}$ a obsahovat nejméně 2,9 % (w/w) bílkovin u mléka s obsahem tuku 3,5 % (w/w) při teplotě 20 °C, nebo ekvivalentní hmotnost na litr v případě mléka s jiným obsahem tuku.

Dále nařízení rozděluje mléko podle tučnosti:

- plnotučné mléko je tepelně ošetřené, se standardizací s obsahem tuku nejméně 3,50 % (w/w), bez standardizace s obsahem tuku, který se od doby dojení nezměnil ani přidáním mléčného tuku nebo smíšením s mlékem, kde byl tuk upraven,
- polotučné mléko je tepelně ošetřené, u kterého byl obsah tuku snížen na min. 1,50 % (w/w) a max. 1,80 % (w/w),
- odstředěné mléko je mléko tepelně ošetřené, u kterého je obsah tuku max. 0,50 % (w/w).

Tepelně ošetřené mléko, které neodpovídá požadavkům na obsah tuku uvedených výše, se považuje za konzumní mléko za předpokladu, že obsah tuku je s jedním desetinným místem jasně a čitelně uveden na obalu slovy „obsah tuku … %“. Mléko pak nesmí být označené jako plnotučné, polotučné nebo odstředěné mléko [67].

Požadavky na jakost mléka, které vychází z ČSN 57 0529 a platné legislativy jsou součástí přílohy PI.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo sledovat vliv 2 různých tepelných ošetření na základní fyzikální, fyzikálně-chemické a senzorické parametry kravského mléka z farmy a mléčného automatu. Po dosažení tohoto cíle byly stanoveny následující dílčí cíle:

- zpracovat literární rešerši zabývající se chemickým složením mléka, jeho senzorickými, technologickými a fyzikálně-chemickými vlastnostmi, tepelným ošetřením mléka a legislativou týkající se mléka;
- provést dvě tepelná ošetření syrového mléka z farmy a mléčného automatu na úrovni šetrné a vysoké pasterace (72 °C/30 sekund a 85 °C/2 sekundy);
- u syrových i tepelně ošetřených mlék stanovit vybrané fyzikální a fyzikálně-chemické vlastnosti (hustota, aktivní a titrační kyselost, sušina, tukuprostá sušina, tuk, tuk v sušině, bílkoviny, laktóza, chloridy, vápník, peroxidázou zkouška);
- u tepelně ošetřených mlék provést senzorické hodnocení;
- získané výsledky statisticky vyhodnotit a diskutovat.

6 METODIKA

6.1 Použité chemikálie, přístroje a pomůcky

6.1.1 Chemikálie

Amylalkohol

Carrez I. ($ZnSO_4$)

Carrez II. ($K_4[Fe(CN)_6]$)

Dusičnan stříbrný

Dihydrát kyseliny šťavelové

Fenolftalein

Hydroxid sodný

Chelaton 3 (disodná sůl kyseliny ethylemdiamintetraoctové)

Chroman draselný

Kyselina boritá

Kyselina dusičná

Kyselina chlorovodíková

Kyselina sírová

Murexid

p-fenylendiamin (směs s mořským pískem 1:1)

Peroxid vodíku

Síran železitoamonný

Směsný katalyzátor Na_2SO_4 + $CuSO_4$ (poměr 10:1)

Sulfokyanid draselný

Tashirův indikátor (metylenová modř, metylčerveň)

6.1.2 Přístroje a pomůcky

analytické váhy

automatický titrátor

běžné laboratorní pomůcky a laboratorní sklo

butyrometry

exsikátor

mineralizátor Bloc Digest 12

mineralizační zkumavky

mlékovar

Parnas-Wagnerova destilační aparatura

pH metr

polarimetr POL 1

předvážky KB 600-2 pyknometry

sušárna Venticell 111 Comfort

teploměr se sondou

vodní lázeň MEMMERT

vysokorychlostní analyzátor mléka MilkoScope (model Julie C5 Automatic)

6.2 Charakteristika a odběr vzorků mléka

Senzorické a chemické analýzy byly stanoveny u dvou vzorků mléka. První vzorek mléka byl zakoupen v mléčném automatu ve Zlíně (provozovatel: AGRODELTA s.r.o Zlín). Druhý vzorek byl poskytnut z rodinné farmy na Vysočině.

Vzorek z mléčného automatu byl odebrán do PET lahve, která byla zakoupena v automatu. Teplota mléka při odběru byla 7 °C. Vzorek z farmy byl z bazénu (úschovná a chladící nádrž na mléko na farmě). Před odběrem vzorku bylo mléko v nádrži promícháno míchacím zařízením umístěném v chladícím tanku. Na farmě byl vzorek odebrán do

sterilních skleněných lahví, teplota mléka při odběru byla 6 °C. Vzorky byly při převozu uchovány v přenosné chladící tašce, aby nedošlo ke zvýšení teploty mléka nad 8 °C.

6.3 Tepelné ošetření mléka

Vzorky z mlékomatu i farmy byly rozděleny na tři části. Jedna část mléka byla ponechána v syrovém stavu, zbylé dvě části byly ošetřeny pasterací šetrnou (72 °C/30 s) a vysokou (85 °C/2 s). Mléko bylo zahříváno v dvouplášťovém mlékovaru, teplota byla sledována pomocí sondy teploměru a čas výdrže byl měřen pomocí stopek. Poté bylo mléko rychle zchlazeno na teplotu pod 8 °C. Vzorky pasterovaného i syrového mléka byly uchovány ve sterilních skleněných lahvích. Až do provedení analýz (max. po dobu 24 hodin) byly vzorky uchovány v lednici při teplotě do 8 °C. Před jednotlivými analýzami bylo mléko promícháno, aby bylo homogenní v celém objemu.

6.4 Stanovení vybraných fyzikálních a fyzikálně-chemických parametrů mléka

6.4.1 Orientační stanovení složek mléka

Vzorky mléka byly zahřáty na teplotu 40 °C (mléko bylo ohříváno ve vodní lázni tak, aby teplota vzrostla během 3 – 5 minut) a poté byly vzorky mléka ochlazeny na 20 °C za stálého míchání (teplota byla měřena sondou teploměru). Přístroj byl před vlastním stanovením propláchnut destilovanou vodou a dále se postupovalo dle návodu k přístroji. Výsledek je průměr ze dvou stanovení [48].

6.4.2 Peroxidázová zkouška s p-fenylendiaminem (dle Storcha)

Do zkumavky bylo odpipetováno 5 ml mléka, ke kterému byla přidána špetka p-fenylendiaminu. Po promíchání byly přidány 1 – 2 kapky 1% peroxidu vodíku. Obsah zkumavky byl promíchán, nechán 2 minuty stát a poté bylo vyhodnoceno zbarvení [40, 48, 49].

Dle zbarvení lze říci, zda bylo mléko syrové nebo pasterované [45, 48 49]:

zbarvení:	tmavomodré	syrové mléko
	šedomodré	mléko zahřáté pod 80 °C nebo příměs syrového mléka
	bílé (slabě šedé)	mléko pasterované nad 80 °C

6.4.3 Hustota

Předsušené prázdné pyknometry byly zváženy na analytických vahách. Pyknometr byl naplněn destilovanou vodou o teplotě 20 °C až k hrdlu a uzavřen zátkou tak, aby přebytečná voda vytryskla kapilárkou v zátce bez vzniku vzduchových bublinek. Dále byl pyknometr osušen a zvážen, voda byla nahrazena připraveným mlékem a pyknometr byl opět zvážen [46, 47, 48, 70]. Výsledek je průměr ze tří stanovení.

Nejprve byl z tabelární hodnoty hustoty vody při dané teplotě uvedené v Tab. 5 vypočítán přesný objem použitého pyknometrů [ml] [49, 68]:

$$V_p = \frac{(m_v - m_p) \cdot 10^3}{\rho_v}$$

A následně byla vypočítána hustota mléka v [kg·cm^{-3}] [49]:

$$\rho_m = \frac{(m_m - m_p) \cdot 10^3}{V_p}$$

kde m_p - hmotnost prázdného pyknometru [g]

m_m - hmotnost pyknometru s mlékem [g]

m_v - hmotnost pyknometru s vodou [g]

ρ_v - hustota vody při teplotě měření [kg·cm^{-3}]

Tab. 5: Hustota vody v závislosti na teplotě (upraveno podle [49])

teplota [°C]	hustota [kg·m^{-3}]	teplota [°C]	hustota [kg·m^{-3}]	teplota [°C]	hustota [kg·m^{-3}]
15	999,1	20	998,2	27	996,5
16	998,9	23	997,6	28	996,3
17	998,8	24	997,3	29	996,0
18	998,6	25	997,1	30	995,7
19	998,4	26	996,8		

6.4.4 Kyselost

6.4.4.1 Aktivní kyselost

Měrná elektroda nakalibrovaného pH metru byla opláchnuta destilovanou vodou, osušena a ponořena do vzorku mléka. Po proměření byla opět opláchnuta destilovanou vodou, osušena a na elektrodu byl nasazen ochranný kryt s uchovávacím roztokem, který zabraňuje vysychání. Výsledek je průměr ze tří stanovení [42, 46, 48].

6.4.4.2 Titrační kyselost

Pro stanovení byl připraven odměrný roztok 0,25 $mol \cdot l^{-1}$ NaOH a byla provedena jeho standardizace. Na analytických vahách (s přesností 0,0001 g) bylo naváženo vypočítané množství dihydrátu kyseliny šťavelové. Navážka byla převedena do titrační baňky, zředěna 50 ml destilované vody a bylo přidáno několik kapek indikátoru Tashiro. Roztok byl titrován 0,25 $mol \cdot l^{1}$ NaOH z fialového zbarvení do šedého nádechu. Dále bylo přidáno 10 ml 20% chloridu vápenatého ($CaCl_2$) a roztok byl opatrně dotitrován do zeleného zbarvení [42, 45, 46, 48]. Výsledek standardizace NaOH je průměr ze tří stanovení.

Standardizace probíhá podle následující rovnice:

$$(COOH)_2 + 2\ NaOH \rightarrow (COONa)_2 + 2\ H_2O$$

Výpočet navážky dihydrátu kyseliny šťavelové [49, 70]:

$$n = F \cdot c_{NaOH} \cdot V_{NaOH} \cdot M$$

kde n - navážka $(COOH)_2 \cdot 2\ H_2O$ [g]

F - faktor $(COOH)_2 \cdot 2\ H_2O$

c_{NaOH} - koncentrace NaOH [$mol \cdot l^{-1}$]

V_{NaOH} - spotřeba NaOH [ml]

M - molární hmotnost $(COOH)_2 \cdot 2\ H_2O$ [$g \cdot mol^{-1}$]

Výpočet skutečné koncentrace odměrného roztoku NaOH [46, 48, 68]:

$$c_{NaOH} = \frac{F_{NaOH} \cdot n_{(COOH_2)\cdot 2\ H_2O}}{V_{NaOH} \cdot M_{(COOH_2)\cdot 2\ H_2O}}$$

kde c_{NaOH} - přesná koncentrace NaOH [$mol \cdot l^{-1}$]

V_{NaOH} - spotřeba NaOH [ml]

M - molární hmotnost $(COOH)_2 \cdot 2\ H_2O$ [g·mol^{-1}]

n - navážka $(COOH)_2 \cdot 2\ H_2O$ [g]

Vlastní stanovení titrační kyselosti bylo provedeno tak, že do titrační baňky bylo odpipetováno 50 ml mléka, byly přidány 2 ml roztoku fenolftaleinu (etanolický 2%) a roztok byl titrován za stálého míchání 0,25 mol·l^{-1} NaOH do slabě růžového zbarvení, stálého 30 sekund [46, 47, 48]. Výsledná hodnota titrační kyselosti se stanoví jako aritmetický průměr ze tří stanovení.

Výpočet titrační kyselosti mléka v SH (tj. [ml] NaOH o c 0,25 [mol·l^{-1}]) [46, 47, 49]:

$$SH = 2 \cdot V \cdot \frac{c}{0{,}25}$$

kde V - spotřeba odměrného roztoku NaOH [ml]

c - přesná koncentrace NaOH [mol·l^{-1}]

6.4.5 Sušina

Do předsušených a zvážených hliníkových misek byl na předvážkách navážen vysušený mořský písek, poté byly vloženy skleněné tyčinky do každé vysoušečky a vše bylo zváženo na analytických vahách. Do vysoušečky s pískem bylo napipetováno 5 ml mléka a zváženo. Mléko s pískem bylo důkladně promícháno, pod vysoušečku byl položen filtrační papír. Poté byly vysoušečky vloženy do elektrické sušárny vyhřáté na 50 °C. Po čtvrt hodině byly vysoušečky vyndány a tyčinkou byl opatrně rozmíchán vytvořený povlak a opět byly vloženy do sušárny (50 °C), po půl hodině byl tento proces opakován. Vysoušečky byly dány do sušárny, která byla předehřátá na teplotu 102 °C. Sušení probíhalo do konstantní hmotnosti [42, 45, 46, 47, 48]. Výsledek byl stanoven jako aritmetický průměr ze tří stanovení.

Výpočet sušiny mléka v [% (w/w)] [46, 47, 48]:

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

kde m_2 - hmotnost vysoušečky se vzorkem mléka po vysušení [g]

m_1 - hmotnost vysoušeky s pískem [g]

n - navážka vzorku [g]

6.4.6 Tuk

Do butyrometrů bylo napipetováno 10 ml kyseliny sírové (91%, tzv. Gerberovy) a mléčnou pipetou bylo po stěně opatrně napipetováno 11 ml mléka, tak aby nedošlo k promísení obou kapalin. Nakonec byl přidán 1 ml amylalkoholu. Butyrometr byl zazátkován pryžovou zátkou a obsah byl prudce protřepán do dokonalého rozpuštění bílkovin (vymizení bílých hrudek). Převracením butyrometru došlo k promísení obsahu, posunutím zátky byl upraven stav hladiny tak, aby hladina sahala výš, než byl očekávaný obsah tuku nebo mírně nad nejvyšší dílek stupnice, čímž byla zaručená možnost odečtu po odstředění. Po protřepání byly butyrometry vloženy ještě za horka do odstředivky a odstřeďování probíhalo při 1100 otáčkách za minutu. Když klesla teplota butyrometru při odstřeďování pod 65 °C, bylo nutné butyrometry vložit do vodní lázně a zahřát je na 65 °C. Nakonec byl na stupnici butyrometru odečten obsah tuku v %. Zjištěný obsah tuku byl v g·100 ml^{-1} (x), který byl pomocí výpočtu převeden na obsah tuku v g·100 g^{-1} mléka (y) [42, 46, 47]. Výsledek se stanovil jako aritmetický průměr ze čtyř stanovení.

Výpočet obsahu tuku v [g·100 ml^{-1}[46, 47, 48]:

$$x = b - a$$

kde a - % (obj.), které odpovídá dolní hladině tukového sloupce butyrometru

b - % (obj.), které odpovídá spodnímu meniskusu horní hladiny tukového sloupce butyrometru

Výpočet obsahu tuku v [g·100 g^{-1}] [46, 47]:

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

6.4.7 Bílkoviny

6.4.7.1 Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek (hrubé bílkoviny)

Do suché mineralizační zkumavky byly naváženy 2 g vzorku (s přesností 0,0001 g). Ke vzorku do mineralizační zkumavky bylo přidáno 5 ml koncentrované kyseliny sírové, pár kapek H_2O_2 a lžička katalyzátoru (Na_2SO_4 + $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ v poměru 10:1), zkumavky byly vloženy do mineralizátoru a na ně byl nasazen jímač par. Teplota termobloku byla 400 °C a mineralizace probíhala po dobu 1 hodiny, poté byly přístroje vypnuty. Zkumavky byly ponechány vychladnout ve stojanu se zapnutou pračkou par. Čirý, zchladlý mineralizát byl

kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 50 ml a byl doplněn po rysku destilovanou vodou a důkladně promíchán [46, 47, 49, 68].

Do destilační baňky Parnas-Wagnerovy aparatury bylo napipetováno 10 ml mineralizátu. Přídavkem 20 ml 30% (w/w) roztoku hydroxidu sodného byl uvolněn amoniak, který byl předestilován s vodní parou a jímán do titrační baňky s 50 ml 2% (w/w) kyseliny borité. Destilace probíhala po dobu 20 minut od počátku varu v destilační baňce. Destilát byl titrován 0,025 $mol \cdot l^{-1}$ kyselinou sírovou na indikátor Tashiro do stálého červenofialového zbarvení. Z množství spotřebované kyseliny sírové byl vypočítán obsah dusíku a ten byl přepočítán na obsah hrubé bílkoviny vynásobením přepočítacím faktorem (6,38) [46, 47, 48, 68]. Výsledek je průměr ze tří provedených stanovení.

Výpočet obsahu hrubé bílkoviny v [% (w/w)] [47, 48, 49, 68]:

$$m = \frac{V \cdot 10^{-3} \cdot c \cdot M_N \cdot f_t \cdot f_{př}}{n} \cdot 100$$

kde V - spotřeba odměrného roztoku H_2SO_4 při titraci [ml]

$c\ (H_2SO_4)$ - přesná koncentrace odměrného roztoku H_2SO_4 [$mol \cdot l^{-1}$]

M_N - molární hmotnost dusíku [$g \cdot mol^{-1}$]

f_t - titrační faktor

f_z - zřeďovací faktor

$f_{př}$ - přepočítací faktor

n - navážka [g]

6.4.7.2 Stanovení bílkovin podle Steineggera

Před vlastním stanovením byla provedena neutralizace formaldehydu potřebného pro blokaci $–NH_2$ skupin. V odměrném válečku bylo odměřeno 5 ml formaldehydu, do kterého byly kápnuty 2 kapky fenolftaleinu. Poté byla provedena jeho neutralizace připraveným odměrným roztokem NaOH za stálého promíchávání do růžového zbarvení[46, 47, 48, 70].

Do titrační baňky bylo napipetováno 50 ml mléka a k němu byly přidány 2 ml 1% etanolového roztoku fenolftaleinu. Titrace byla provedena pomocí 0,25 $mol \cdot l^{-1}$ hydroxidu sodného. První spotřeba udávala kyselost mléka. Poté bylo přidáno 5 ml 30% zneutralizovaného formaldehydu a bylo necháno 2 minuty stát v klidu. Pak byla provedena

druhá titrace, která udává aldehydové číslo (spotřeba V) a byl vypočítán obsah bílkovin [44, 46, 48]. Výsledek je průměr ze tří stanovení.

Výpočet obsahu bílkovin [g·100 ml^{-1}] [46, 48, 68]:

$$B = \frac{V \cdot 2 \cdot 0{,}0758 \cdot 6{,}38 \cdot c}{0{,}25}$$

kde V - spotřeba odměrného roztoku NaOH [ml]

c - přesná koncentrace odměrného roztoku NaOH [$mol \cdot l^{-1}$]

Výsledek vydělený hustotou udává obsah bílkovin v [% (w/w)][46, 48]:

$$b = \frac{B}{\rho_m} \cdot 100$$

kde ρ_m - hustota mléka [$g \cdot cm^{-3}$]

6.4.8 Laktóza

Do zvážené 100 ml odměrné baňky bylo odpipetováno 50 ml mléka a zváženo. Dále bylo přidáno 5 ml Carrez I. a po promíchání 5 ml Carrez II. Odměrná baňka byla po promíchání doplněna destilovanou vodou po značku. Obsah byl promíchán a zfiltrován přes suchý filtr do suché kádinky. Čirý filtrát byl nalit do polarimetrické trubice a byl změřen úhel otočení roviny polarizovaného světla [46, 48, 68]. Výsledná hodnota je průměr ze tří stanovení.

Výpočet obsahu laktózy v [% (w/w)] [46, 48, 49, 68]:

$$L = \frac{100 \cdot \alpha \cdot F}{n \cdot [\alpha]_\lambda^t \cdot l} \cdot 100$$

kde α - úhel otočení [°]

F - faktor pro objemovou korekci na sraženinu vzniklou vyčiřením

$[\alpha]_\lambda^t$ - specifická otáčivost při teplotě t a vlnové délce λ [°]

n - navážka [g]

l - délka polarimetrické trubice [dm]

6.4.9 Vápník

Do 250 ml odměrné baňky bylo odváženo 10 g mléka a doplněno destilovanou vodou po rysku. Z toho bylo odpipetováno do titrační baňky 50 ml a bylo zředěno 100 ml

destilované vody. Pak bylo přidáno 5 ml roztoku 4 $mol \cdot l^{-1}$ NaOH a 0,1 g murexidu. Dále bylo titrováno roztokem 0,01 $mol \cdot l^{-1}$ chelatonu 3 z růžovofialového zbarvení do fialového [46, 49]. Výsledek je průměr ze tří stanovení.

Obsah vápníku v [$mg \cdot 100\ g^{-1}$ mléka] [49]:

$$V = \frac{b \cdot 0{,}40 \cdot f_p}{n} \cdot 100$$

kde

b - spotřeba odměrného roztoku chelatonu 3 [ml]

f_p - poměrový faktor

n - navážka vzorku [g]

6.4.10 Chloridy

Nejdříve byla provedena standardizace odměrného roztoku 0,1 $mol \cdot l^{-1}$ $AgNO_3$. Vypočtené množství NaCl v g bylo naváženo na analytických vahách (s přesností na 0,0001 g) a převedeno do titrační baňky. Do titrační baňky byla k NaCl přidaná destilovaná voda a 1 ml 5% chromanu draselného (indikátor). Odměrným roztokem $AgNO_3$ bylo titrováno do prvního (stálého) hnědočerveného zbarvení, které při zamíchání nemizelo. Ze získaných údajů byla vypočítaná přesná koncentrace odměrného roztoku $AgNO_3$ [46, 49]. Výsledná koncentrace je aritmetický průměr ze tří stanovení.

Standardizace probíhá podle rovnice:

$$NaCl + AgNO_3 \rightarrow AgCl + NaNO_3$$

Výpočet navážky NaCl [g] [46, 49, 70]:

$$n = V \cdot c \cdot M_{NaCl}$$

kde V - spotřeba odměrného roztoku $AgNO_3$ [ml]

c - koncentrace $AgNO_3$ [$mol \cdot l^{-1}$]

M_{NaCl} - molární hmotnost NaCl [$g \cdot mol^{-1}$]

Výpočet přesné koncentrace $AgNO_3$ [$mol \cdot l^{-1}$] [44]:

$$c = \frac{n_{NaCl}}{M_{NaCl} \cdot V_{AgNO_3} \cdot f_{AgNO_3}}$$

kde n_{NaCl} - navážka NaCl [g]

M_{NaCl} - molární hmotnost NaCl [g·mol^{-1}]

V_{AgNO_3} - spotřeba odměrného roztoku $AgNO_3$ [ml]

f - faktor titrace

Standardizace 0,1 mol.l^{-1} KSCN byla provedena na odměrný roztok $AgNO_3$. Do titrační baňky bylo odpipetováno 10 ml odměrného roztoku 0,1 mol.l^{-1} KSCN a bylo zředěno 5 ml destilované vody a poté byl přidán 1 ml 5% K_2CrO_4. Odměrným roztokem $AgNO_3$ bylo titrováno do prvního stálého hnědočerveného zbarvení, které po zamíchání nemizelo. Ze získaných údajů byla vypočítaná přesná koncentrace odměrného roztoku KSCN [44, 48, 49, 68]. Výsledná koncentrace je aritmetický průměr ze tří stanovení.

Standardizace probíhá podle rovnice:

$$AgNO_3 + KSCN \rightarrow AgSCN + KNO_3$$

Výpočet přesné koncentrace KSCN [mol.l^{-1}] [46, 48, 49]:

$$c = \frac{V_{KSCN}}{M_{KSCN} \cdot V_{AgNO_3} \cdot f_{KSCN}}$$

kde V_{KSCN} - množství KSCN odpipetovaného pro standardizaci [ml]

f_{KSCN} - faktor KSCN

V_{AgNO_3} - spotřeba odměrného roztoku $AgNO_3$ [ml]

M_{KSCN} - molární hmotnost KSCN [g·mol^{-1}]

Do titrační baňky bylo odváženo 10 g mléka (s přesností na 0,0001 g). K mléku bylo přidáno 5 ml 25% HNO_3 a 1 ml roztoku $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$. Po promíchání bylo přidáno 10 ml roztoku 0,1 mol·l^{-1} $AgNO_3$ a za stálého míchání bylo titrováno roztokem 0,1 mol·l^{-1} KSCN až do trvalého červenohnědého zbarvení [46, 47, 48, 68]. Výsledek je aritmetickým průměrem ze třech stanovení.

Výpočet obsahu chloridových iontů v [g·kg^{-1}] [46, 48, 49, 68]:

$$x = \frac{(10 - V_{KSCN}) \cdot 3{,}546}{n} \cdot f$$

kde n - navážka mléka [g]

V_{AgNO_3} - spotřeba roztoku $AgNO_3$ [ml]

f - faktor KSCN

6.5 Senzorické hodnocení mléka

K senzorickému hodnocení byly předloženy 4 vzorky pasterovaného mléka (2 různá tepelná ošetření u dvou mlék; viz kapitola 6.2 a 6.3). Senzorické hodnocení bylo provedeno ve stejný den, kdy proběhlo telené ošetření mléka. Senzorický panel byl složen z 12 akademických pracovníků Fakulty technologické, tzn. vybraných posuzovatelů [69]. Hodnocení bylo provedeno v senzorické laboratoři s individuálními kójemi odpovídající normě ČSN ISO 8589 [70]. Mléko bylo hodnotitelům předloženo v kádinkách označených příslušným kódem (50 ml, 6 °C).

K senzorické analýze byly použity stupnicové, párové porovnávací a preferenční pořadové zkoušky [71].

Při hodnocení pomocí stupnice byla použita pětibodová ordinální hédonická stupnice 2. druhu, byla hodnocena přijatelnost znaku od výborného (1) po nevyhovující (5) za použití číselné a slovní charakteristiky [71, 72]. Hodnocenými znaky byly vzhled a barva, konzistence, chuť a vůně.

Při párové zkoušce se podle normy ČSN EN ISO 5495 posuzují organoleptické vlastnosti dvou vzorků a stanoví se rozdíl mezi nimi podle určitého znaku či preference. Zkouška je s nucenou volbou, hodnotitel tedy musí vybrat jeden vzorek z dané dvojice, i když je pokládá za totožné [71, 72]. Při této zkoušce byla hodnocena sladkost a intenzita vařivé příchutě.

Při pořadové zkoušce měli posuzovatelé vzorky seřadit podle celkových preferencí od nejlepšího (nejvíce preferovaného) po nejhorší (nejméně preferovaný). Dotazník pro senzorické hodnocení mléka je uveden v Příloze II.

6.6 Statistické vyhodnocení

Statistické hodnocení analytických i senzorických zkoušek bylo provedeno pomocí programu StatK25 na hladině významnosti 5 %. Pro výpočty průměrů, směrodatných odchylek (S) a variačních koeficientů byl využit program MX Excel.

Výsledky všech analytických stanovení jsou uvedeny jako aritmetický průměr se směrodatnou odchylkou (n = 3 – 4). Ke statistickému hodnocení byl zvolen parametrický test srovnávající střední hodnoty dvou nezávislých výběrů.

Výsledky senzorického hodnocení pomocí stupnice jsou uvedeny jako mediány četností bodového hodnocení u jednotlivých znaků. Medián je prostřední hodnota uspořádaných hodnot. Medián tedy dělí řadu podle velikosti seřazených výsledků na dvě stejně početné poloviny. Pozitivem mediánu je, že ho neovlivní extrémní hodnoty. Z tohoto důvodu je vhodné ho používat v případě, kdy aritmetický průměr vykazuje nevhodné výsledky. Výsledky ze stupnicové zkoušky byly statisticky vyhodnoceny pomocí Kruskall-Wallisova testu. Výsledky párové porovnávací zkoušky byly statisticky vyhodnoceny pomocí jednostranného testu o parametru binomického rozdělení. Výsledky pořadové preferenční zkoušky jsou prezentovány jako součty pořadí, přičemž nižší součet pořadí značí preferovanější vzorek. Výsledky pořadové zkoušky byly statisticky vyhodnoceny pomocí Friedmanova testu [73].

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Výsledky stanovení složek mléka na analyzátoru MilkoScope

Orientační stanovení vybraných složek a vlastností mléka bylo u vzorků mléka provedeno podle postupu uvedeného v kapitole 6.4.1. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v Tab. 6 Stanovení jednotlivých složek mléka na přístroji MilkoScope mělo pouze informační charakter. Výsledky jsou průměrem ze dvou opakování, a proto u nich nebyla stanovena směrodatná odchylka a nebylo provedeno ani statistické vyhodnocení.

Dle nařízení č. 1662/2006 musí být bezprostředně po nadojení mléko chlazeno na teplotu nejvýše 8 °C, kdy je svoz mléka každý den. Při obdenním svozu se mléko chladí na teplotu 6 °C. Během přepravy mléka musí být zachován chladící řetězec, teplota mléka nesmí překročit 10 °C [63]. Teplota při odběru vzorku mléka z farmy byla 6 °C a u vzorku mléka z mlékomatu byla 7 °C. Požadavek nařízení tedy byl splněn u obou vzorků. Při převozu mléka byl zachován chladící řetězec (mléko bylo převáženo v chladícím boxu). Výsledky stanovení teploty ovlivnila laboratorní příprava mléka pro toto stanovení, kdy se mléko ohřálo na 40 °C a poté ochladilo na teplotu blízkou 20 °C. Zahřátím se mléko zbavilo vzduchových bublin a tuk byl převeden do tekutého stavu. Převedení tuku do kapalného stavu je nutné pro stanovení hustoty.

Hustota byla u mléka v rozmezí hodnot 1,0275 – 1,0276 $g \cdot cm^{-3}$. Hustota byla na přístroji MilkoScan stanovena ve °Den (denzitometrických), ale pro účely diplomové práce byly hodnoty uvedeny v $g \cdot cm^{-3}$. Po tepelném ošetření mléka se hustota prakticky nezměnila. Hustota se podle Buňky a kol. [3] pohybuje v rozmezí 1,026 – 1,036 $g \cdot cm^{-3}$. Výsledná hodnota závisí na obsahu základních složek mléka. Zvýšený obsah tuku v mléce snižuje hustotu. Hustotu zvyšují bílkoviny, laktóza, minerální látky a další složky tukuprosté sušiny [5]. Stanovené hodnoty hustoty se pohybují v rozmezí uváděném Buňkou [3].

Hodnota bodu mrznutí (BMM) byla u mléka v rozmezí hodnot -0,522 až -0,546 °C. Podle ČSN 57 0529 by hodnota BMM měla být ≤ -0,515 °C [34]. Podle Gajduška by se hodnota BMM měla pohybovat v rozmezí ≤ -0,540 až -0,570 °C. Pro zpeněžování byla stanovena mezní hodnota bodu mrznutí ≤ -0,520 °C [5]. Stanovené hodnoty splňují požadavek na BMM při zpeněžování i požadavek ČSN 57 0529.

Tab. 6: Výsledky orientačního stanovení vybraných složek a vlastností mléka na analyzátoru MilkoScope

parametr	TO	farma	mlékomat
teplota [°C]	S_M	24	22,1
	$Š_P$	25	21,5
	V_P	24	21,5
hustota [$g \cdot l^{-1}$]	S_M	1,0275	1,0276
	$Š_P$	1,0275	1,0276
	V_P	1,0276	1,0275
bod mrznutí [°C]	S_M	-0,522	-0,531
	$Š_P$	-0,541	-0,546
	V_P	-0,542	-0,540
voda [%]	S_M	0,00	0,00
	$Š_P$	0,00	0,00
	V_P	0,00	0,00
TPS [%]	S_M	8,17	8,32
	$Š_P$	8,41	8,53
	V_P	8,47	8,51
tuk [%]	S_M	4,24	3,97
	$Š_P$	4,28	4,06
	V_P	4,26	4,18
bílkoviny [%]	S_M	3,11	3,17
	$Š_P$	3,19	3,24
	V_P	3,22	3,31
laktóza [%]	S_M	4,48	4,57
	$Š_P$	4,61	4,68
	V_P	4,65	4,79
minerální látky [%]	S_M	0,69	0,68
	$Š_P$	0,69	0,70
	V_P	0,70	0,72

Pozn. TO – tepelné ošetření, S_M – syrové mléko, $Š_P$ – šetrná pasterace, V_P – vysoká pasterace

Z Tab. 6 je zřejmé, že nedošlo k zvodnění mléka (podle obsahu vody (0,00 %) lze říci, že mléko nebylo porušeno přidáním vody).

Tukuprostá sušina (TPS) byla stanovena v rozmezí hodnot 8,17 – 8,53 %. Tukuprostá sušina je podle Doležala [6] sumárním ukazatelem podléhajícím vlivům, které působí na jednotlivé složky (TPS je tvořena bílkovinami, laktózou, minerálními látkami, vitaminy). Podle ČSN 57 0529 [34] je stanoven její minimální obsah na 8,50 % pro standardní mléko a představuje doplňkový ukazatel kvality pro zpeněžování. Obsah tukuprosté sušiny v mléce rozhoduje o výtěžnosti v některých zpracovatelských technologiích. Nižší hodnoty TPS mohou poukazovat na příměs cizí vody. Dále to může poukazovat na nedostatek energie, dusíkatých látek ve výživě krav nebo na vyšší výskyt subklinických mastitid. Uvedenou hranici 8,5 % TPS splnily jen dva vzorky, což ovšem můžeme přičítat orientačnímu charakteru tohoto stanovení. Snížení TPS vlivem zvodnění bylo při testu vyloučeno.

U mléka byl tuk stanoven v rozmezí hodnot 3,97 – 4,28 %. Podle Šustové [30] by v mléce mělo být min. 3,3 % tuku. Požadavek na min. obsah tuku v mléce tedy byl splněn u všech vzorků. Tuk v mléce byl po tepelném ošetření ovlivněn minimálně.

Podle ČSN 57 0529 [34] by mléko mělo obsahovat min. 2,8 % bílkovin, ale pro účely zpeněžování by mělo mléko obsahovat min. 3,2 % bílkovin. V mléce byl obsah bílkovin 3,11 – 3,31 %. Stanovené hodnoty bílkovin splňují limit uvedený v normě, ale nesplňují požadavek na hodnotu bílkovin při zpeněžování. Po tepelném ošetření se obsah bílkovin mírně zvýšil.

Podle Gajdůška [5] by mléko mělo obsahovat kolem 4,8 % laktózy, podle Janštové [48] by to mělo být 4,5 – 4,8 %. Na obsah laktózy v mléce má vliv druh savce. Nižší obsah laktózy než 4,5 % může poukazovat na onemocnění dojnic mastitidami [6]. Obsah laktózy v mléce byl 4,48 – 4,79 %. Syrové mléko z farmy nesplnilo požadavek na obsah laktózy v mléce o dvě setiny. Ostatní hodnoty splňovaly rozmezí hodnot uváděné Janštovou. Obecně lze říci, že obsah laktózy v mléce z farmy byl nižší než v mléce z mlékomatu. Po tepelném ošetření mléka se obsah laktózy mírně zvýšil.

Podle Šustové [30] se obsah minerálních látek v mléce pohybuje okolo 0,7 %. Podle Janštové by mléko mělo obsahovat 0,68 – 0,77 % [48]. V mléce bylo stanoveno 0,68 – 0,72 % minerálních látek. Stanovené hodnoty odpovídaly uváděným množstvím. Po tepelném ošetření mléka se obsah minerálních látek téměř nezměnil.

7.2 Výsledky stanovení peroxidázové zkoušky

Stanovení důkazu vysoké pasterace mléka (tedy záhřevu nad 80 °C) pomocí peroxidázové zkoušky u vzorků mléka bylo provedeno a vyhodnoceno podle postupu v kapitole 6.4.2.

Na základě stanovení aktivity laktoperoxidázy v mléce byla stanovena správnost provedené pasterace mléka. Kdy bylo vyhodnoceno zbarvení vzorků mléka podle přítomnosti či nepřítomnosti peroxidázy v mléce. U syrového mléka byla zkouška pozitivní na peroxidázu, mléko se zbarvilo tmavomodře. Šetrně pasterované mléko mělo barvu šedomodrou, zkouška tedy byla stále pozitivní, i když zbarvení ukazovalo na záhřev pod hranicí 80 °C. Negativní byla zkouška na peroxidázu při ošetření mléka vysokou pasterací. Podle Nařízení č. 1662/2006 [66] je peroxidáza přítomná v syrovém mléce nebo v mléce zahřátém na teplotu nižší než 80 °C, v mléce zahřátém nad 80 °C není přítomna. Podle Foxe a McSweeneyho [10] a Bylunda [33] se peroxidáza inaktivuje záhřevem nad 80 °C. U mléka z farmy i z mlékomatu ošetřeného vysokou pasterací byl prokázán důkaz pasterace mléka teplotou nad 80 °C.

7.3 Výsledky stanovení hustoty

Stanovení hustoty u vzorků mléka bylo provedeno a vyhodnoceno podle postupu v kapitole 6.4.3. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v Tab. 7.

U mléka z farmy byla stanovena hustota 1,0283 – 1,0286 $g \cdot cm^{-3}$. U mléka z mlékomatu byla hustota 1,0284 – 1,0287 $g \cdot cm^{-3}$. Vzorky mléka z farmy a mlékomatu vykazovaly podobné hodnoty ($P \geq 0,05$) a ani pasterační záhřev hustotu neovlivnil ($P \geq 0,05$). Hustota se podle Buňky [3] pohybuje v rozmezí 1,026 – 1,036 $g \cdot cm^{-3}$, Navrátilová [4] uvádí hodnotu hustoty plnotučného mléka 1027 – 1033 $kg \cdot m^{-3}$. Podle Nařízení č. 1308/2013 musí mít konzumní mléko hustotu min. 1028 $g \cdot l^{-1}$ [67]. Stanovené hodnoty hustoty splňují legislativní podmínku na min. hustotu [67] a zároveň se zjištěné hodnoty pohybují v rozmezí uváděném v literatuře [3, 4]. Hustotu mléka ovlivňuje obsah tuku. Vyšší hustota jak 1,032 $g \cdot cm^{-3}$ může ukazovat na odstředění mléka, hustota nižší než 1,028 $g \cdot cm^{-3}$ může poukazovat na zvodnění mléka [36, 38].

Tab. 7: Výsledky analytického hodnocení mléka

parametr	TO	farma	mlékomat
hustota [g·cm^{-3}]	S_M	1,0283 ± 0,0003^{a}A	1,0284 ± 0,0005^{a}A
	$Š_P$	1,0285 ± 0,0010^{a}A	1,0286 ± 0,0008^{a}A
	V_P	1,0286 ± 0,0010^{a}A	1,0287 ± 0,0010^{a}A
pH	S_M	6,7 ± 0,01^{a}A	6,8 ± 0,01^{a}B
	$Š_P$	6,7 ± 0,01^{a}A	6,8 ± 0,01^{a}B
	V_P	6,7 ± 0,01^{a}A	6,8 ± 0,01^{a}B
titrační kyselost [SH]	S_M	6,8 ± 0,01^{a}A	7,2 ± 0,01^{a}B
	$Š_P$	6,8 ± 0,01^{a}A	7,2 ± 0,01^{a}B
	V_P	6,8 ± 0,01^{a}A	7,3 ± 0,01^{b}B
sušina [%]	S_M	13,1 ± 0,08^{a}A	13,2 ± 0,08^{a}A
	$Š_P$	13,1 ± 0,08^{a}A	13,2 ± 0,05^{a}A
	V_P	13,1 ± 0,04^{a}A	13,2 ± 0,09^{a}A
tuk [%]	S_M	5,1 ± 0,05^{a}A	4,6 ± 0,07^{a,b}B
	$Š_P$	5,4 ± 0,05^{b}A	4,5 ± 0,05^{a}B
	V_P	5,4 ± 0,06^{b}A	4,6 ± 0,04^{b}B
bílkoviny dle Kjeldahla [%]	S_M	3,8 ± 0,12^{a}A	3,7 ± 0,03^{a}A
	$Š_P$	3,7 ± 0,03^{a}A	3,7 ± 0,02^{a}A
	V_P	3,7 ± 0,02^{a}A	3,7 ± 0,06^{a}A
bílkoviny dle Steineggera [%]	S_M	3,5 ± 0,08^{a}A	3,5 ± 0,04^{a}A
	$Š_P$	3,7 ± 0,04^{b}A	3,6 ± 0,08^{b}A
	V_P	3,7 ± 0,09^{b}A	3,6 ± 0,10^{b}A
laktóza [%]	S_M	4,5 ± 0,17^{a}A	4,4 ± 0,17^{a}A
	$Š_P$	4,5 ± 0,17^{a}A	4,4 ± 0,17^{a}A
	V_P	4,4 ± 0,18^{a}A	4,4 ± 0,17^{a}A
vápník [mg·100 g^{-1}]	S_M	69,9 ± 1,63^{a}A	69,3 ± 0,94^{a}A
	$Š_P$	69,2 ± 1,89^{a}A	70,6 ± 0,94^{a}A
	V_P	70,5 ± 0,94^{a}A	70,3± 0,94^{a}A
chloridy [g·kg^{-1}]	S_M	0,9 ± 0,02^{a}A	0,9 ± 0,03^{a}A
	$Š_P$	0,8 ± 0,01^{b}A	0,8 ± 0,02^{b}A
	V_P	0,8 ± 0,03^{b}A	0,8 ± 0,02^{b}A

Pozn. TO – tepelné ošetření, S_M – syrové mléko, $Š_P$ – šetrná pasterace, V_P – vysoká pasterace. Výsledky jsou uvedeny jako průměr ± směrodatná odchylka. Hodnoty ve sloupcích následované alespoň jedním shodným horním indexem se statisticky významně neliší ($P \geq 0,05$). Hodnoty v řádcích následované různými velkými písmeny se statisticky významně liší ($P < 0,05$).

7.4 Výsledky stanovení kyselosti

7.4.1 Aktivní kyselost

Stanovení aktivní kyselosti mléka u vzorku bylo provedeno a vyhodnoceno podle postupu v kapitole 6.4.4.1. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v Tab. 7.

Aktivní kyselost mléka z farmy byla stanovena na 6,7. U vzorku mléka z mlékomatu bylo pH 6,8. Všechny vzorky mléka z farmy a mlékomatu jak syrového, tak i tepelně ošetřeného vykazovaly podobné hodnoty ($P \geq 0{,}05$). Aktivní kyselost mléka se podle Buňky [3], Foxe a McSweeneyho [10] a Vlkové [74] obvykle pohybuje v rozmezí 6,5 – 6,7. Podle Gajdůška [5] se aktivní kyselost mléka pohybuje v intervalu 6,4 – 6,8. Aktivní kyselosti u vzorku mléka z farmy i mlékomatu uvedeným rozmezím odpovídají. Aktivní kyselost může ovlivnit mastitida u dojnic (zvýšený PSB). Metabolická acidóza, mikrobiální kysání mléka a rezidua čistících a dezinfekčních prostředků zvýší pH u mléka [6, 21].

7.4.2 Titrační kyselost

Stanovení titrační kyselosti mléka u vzorků bylo provedeno a vyhodnoceno podle postupu v kapitole 6.4.4.2. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v Tab. 7.

Titrační kyselost u mléka z farmy byla 6,8 SH. U mléka z mlékomatu byla titrační kyselost signifikantně vyšší, pohybovala se v rozmezí 7,2 – 7,3 SH ($P < 0{,}05$). Titrační kyselost u mléka z farmy i mlékomatu nebyla ovlivněna šetrnou ani vysokou pasterací ($P \geq 0{,}05$). Titrační kyselost podle ČSN 57 0529 [34] stanovená metodou Soxhlet-Henkela se pohybuje v rozmezí 6,2 – 7,8 SH, Červenka [75] uvádí stejné hodnoty SH. Stanovené hodnoty titrační kyselosti splňují požadavek na titrační kyselost uvedený v normě a v literatuře [34, 75]. Kyselost čerstvě nadojeného mléka udává zastoupení bílkovin, fosforečnanových aniontů a oxid uhličitý, s narůstající dobou vzniká kontaminující mikroflóra, která zvyšuje kyselost mléka [6, 24].

7.5 Výsledky stanovení sušiny

Stanovení sušiny mléka u vzorků pomocí vážkové metody bylo provedeno a vyhodnoceno podle postupu v kapitole 6.4.5. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v Tab. 7.

Sušina u mléka z farmy byla stanovena na hodnotu 13,1 % a u mléka z mlékomatu na 13,2 %, hodnoty u obou mlék byly podobné ($P \geq 0{,}05$). Šetrná ani vysoká pasterace

nezpůsobila změnu sušiny mléka z mlékomatu ani farmy ($P \geq 0,05$). Obsah sušiny v mléce podle Buňky [3] je 12,0 – 14,0 %. Vlková [74] uvádí průměrný obsah sušiny v mléce 12,5 %. Stanovené hodnoty se pohybují v rozmezí uváděném v literatuře [3, 74]. Na obsah sušiny v mléce má vliv zastoupení jednotlivých složek sušiny.

Z výsledků stanovení sušiny a tuku lze vypočítat tukuprostou sušinu a tuk v sušině. Tukuprostá sušina se u mléka z farmy pohybovala v rozmezí 7,9 – 8,0 %, u mléka z mlékomatu v rozmezí 8,6 – 8,7 %. Tukuprostá sušina představuje doplňkový ukazatel kvality pro zpeněžování. V ČSN 57 0529 [34] je stanoven min. obsah tukuprosté sušiny 8,5 % pro standardní mléko. Mléko z mléčného automatu splňuje požadavek normy, ale mléko z farmy tento požadavek nesplňuje, má nižší obsah tukuprosté sušiny o 0,5 %. Obsah tuku v sušině byl u mléka z mlékomatu mezi 34,1 – 34,9 %, u mléka z farmy 34,7 –38,9 %.

7.6 Výsledky stanovení tuku

Stanovení tuku bylo u vzorků provedeno a vyhodnoceno podle postupu v kapitole 6.4.6. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v Tab. 7.

Obsah tuku v mléce farmovém byl 5,1 – 5,4 %. V mléce z mlékomatu byl obsah tuku 4,5 – 4,6 %. Obsah tuku u mléka z farmy byl vyšší než obsah tuku v mléce z mlékomatu o 0,5 – 0,9 % ($P < 0,05$). Zatímco v případě mléka z farmy způsobilo tepelné ošetření signifikantní zvýšení obsahu tuku o 0,3 % ($P < 0,05$), u mléka z mlékomatu se obsah tuku po záhřevu nezměnil ($P \geq 0,05$). Rozdíl byl zaznamenám pouze mezi mléky ošetřenými šetrnou a vysokou pasterací ($P < 0,05$). Obsah tuku v mléce podle ČSN 57 0529 musí být min. 33,0 $g \cdot l^{-1}$, tedy 3,3 % [34]. Podle Buňky [3] se obsah tuku v syrovém mléce pohybuje v rozmezí 3,5 – 5,5 %. Podle nařízení č. 1308/2013 [67] musí mít konzumní mléko plnotučné se standardizací i bez standardizace min. 3,5 % tuku. Stanovený obsah tuku odpovídá rozmezí hodnot uváděných v literatuře a zároveň splňuje legislativní požadavky na min. obsah tuku v mléce [3, 34, 67]. Na obsah tuku v mléce má vliv skladba krmné dávky, plemeno dojnice a stádium laktace. Při tepelném záhřevu může docházet ke změně membrán tukových kuliček a k nepatrné oxidaci tuku. Acidobutyrometrická metoda podle Gerbera je normovanou metodou pro stanovení tuku, ale stanovení tuku na jedno desetinné místo vyžaduje velkou zručnost, proto stanovení není naprosto přesné.

7.7 Výsledky stanovení bílkovin

Obsah bílkovin v mléce musí být podle ČSN 57 05 29 [34] min. 28,0 $g \cdot l^{-1}$ (tj. 2,8 %), ale pro účely zpeněžování má být alespoň 32,0 $g \cdot l^{-1}$ (3,2 %). Podle nařízení č. 1308/2013 musí mléko konzumní obsahovat min. 2,9 % (w/w) u mléka s obsahem tuku 3,5 % (w/w) nebo mít ekvivalentní koncentraci hmotnosti na litr v případě mléka s jiným obsahem tuku [67]. Podle Šustové [30] se obsah bílkovin v mléce pohybuje v rozmezí 3,1 – 3,8 %.

7.7.1 Stanovení bílkovin podle Kjeldahla s úpravou podle Winklera

Stanovení bílkovin pomocí Kjeldahlovy metody ve Winklerově úpravě u vzorků mléka bylo provedeno a vyhodnoceno podle postupu v kapitole 6.4.7.1. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v Tab. 7.

Obsah bílkovin stanovených pomocí Kjeldahlovy metody byl u mléka z mlékomatu 3,7 % a u farmového mléka 3,7 – 3,8 %, hodnoty obsahu tuku byly podobné ($P \geq 0{,}05$). Zároveň se od sebe v obsahu bílkovin nelišily ani pasterované a syrové vzorky mléka ($P \geq 0{,}05$).

7.7.2 Stanovení bílkovin podle Steineggera

Stanovení bílkovin podle Steineggera bylo u vzorků provedeno a vyhodnoceno podle postupu v kapitole 6.4.7.2. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v Tab. 7.

Obsah bílkovin u vzorků mléka z mlékomatu byl 3,5 – 3,6 %, u mléka z farmy byl obsah bílkovin stanoven na 3,7 – 3,8 %, přičemž odpovídající si vzorky mléka z mlékomatu a farmy vykazovaly podobné obsahy bílkovin ($P \geq 0{,}05$). Nejnižší obsah bílkovin (3,5 %) vykazovala syrová mléka z mlékomatu i farmy ($P < 0{,}05$). Šetrná i vysoká pasterace zapříčinila významný nárůst obsahu bílkovin u obou mlék ($P < 0{,}05$).

U obou metod stanovení byl obsah bílkovin prakticky stejný, max. o 0,3 % nižší u metody dle Steineggera. Stanovení bílkovin podle Steineggera je rychlá provozní metoda, která je používaná jen pro orientační stanovení obsahu bílkovin a výsledky se tedy od skutečného obsahu bílkovin mohou mírně lišit. Kjeldahlova metoda je sice náročnější, ale je normovaná a přesná [48]. U mléka z farmy i mlékomatu stanovený obsah bílkovin splňoval požadavek normy na min. obsah bílkovin 2,8 %, zároveň splňoval požadavek na min. obsah bílkovin 3,2 % při zpeněžování [34]. Stanovené hodnoty se pohybují v daném rozmezí uváděné v literatuře [30]. Obsah bílkovin u tepelně ošetřených mlék splňoval

legislativní požadavek na obsah bílkovin 2,9 % v konzumním mléce [67]. Obsah bílkovin v mléce ovlivní složení krmné dávky, výživa dojnic, plemeno, stádium a pořadí laktace. Tepelný záhřev ovlivní bílkoviny tak, že dochází k částečné denaturaci. U šetrné pasterace syrovátkové bílkoviny denaturují z 15 % a u vysoké pasterace z 50 % [33].

7.8 Výsledky stanovení laktózy

Stanovení laktózy u vzorků mléka bylo provedeno a vyhodnoceno podle postupu v kapitole 6.4.8. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v Tab. 7.

U mléka z farmy byl obsah laktózy stanoven v rozmezí 4,4 – 4,5 %, u mléka z mlékomatu byl obsah laktózy 4,4 %. Hodnoty obsahu laktózy v obou mlécích byly podobné ($P \geq 0,05$). Šetrná ani vysoká pasterace nezpůsobily změnu v obsahu laktózy ($P \geq 0,05$). Obsah laktózy v mléce se podle Buňky [3] pohybuje v rozmezí 4,5 – 5,0 %. Vlková [74] uvádí obsah laktózy v mléce 4,4 – 4,8 %. Stanovené hodnoty se pohybují v uváděných rozmezích [3, 74]. Na obsah laktózy v mléce má vliv druh savce. Dále ovlivní obsah laktózy v mléce plemeno skotu, stádium a pořadí laktace, množství nadojeného mléka od jedné dojnice a zdravotní stav mléčné žlázy. Tepelný záhřev může negativně ovlivnit obsah laktózy, ale tato změna není moc častá u pasterovaného mléka. Častěji dochází ke vzniku laktulózy, nebo Maillardovým reakcím, tyto změny jsou nežádoucí [3, 6, 30].

7.9 Výsledky stanovení vápníku

Stanovení vápníku v mléce pomocí chelatometrické titrace bylo provedeno a vyhodnoceno podle postupu v kapitole 6.4.9. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v Tab. 7.

V mléce z farmy byl obsah vápníku 69,2 – 70,5 $mg \cdot 100\ g^{-1}$, u mléka z mlékomatu byl stanoven obsah vápníku 69,3 – 70,6 $mg \cdot 100\ g^{-1}$. Hodnoty obsahu vápníku v mlécích byly podobné ($P \geq 0,05$). Nelišily se ani vzorky tepelně ošetřené od syrových ($P \geq 0,05$). Obsah vápníku podle Buňky [3] a podle Foxe [10] je v mléce 1100 – 1300 $mg \cdot l^{-1}$, tedy asi 110 – 130 $mg \cdot 100\ g^{-1}$. Hui [17] uvádí průměrnou hodnotu obsahu vápníku 117 $mg \cdot 100\ g^{-1}$. V normě ČSN 57 05 29 [34] je požadován minimální obsah vápníku 1,2 $g \cdot l^{-1}$ (tj. asi 120 $mg \cdot 100\ g^{-1}$). Stanovené hodnoty se nepohybují v rozmezí uvedeném v literatuře ani nesplňují požadavek normy [3, 10, 17, 34]. Chelatometrická titrace pro stanovení vápníku je pouze orientační metoda a výsledky jsou tedy podhodnocené. Pro přesné

stanovení obsahu vápníku a dalších minerálních látek v mléce je možné využít atomovou absorpční spektrometrii [76].

7.10 Výsledky stanovení chloridů

Stanovení chloridů v mléce pomocí argentometrické titrace bylo provedeno a vyhodnoceno podle postupu v kapitole 6.4.10. Výsledky hodnocení jsou uvedeny v Tab. 7.

Obsah chloridů u mléka z farmy a mlékomatu byl 0,8 – 0,9 $g \cdot kg^{-1}$ (asi 800 – 900 $mg \cdot l^{-1}$), obě mléka vykazovala podobný obsah chloridů ($P \geq 0,05$). Nejvyšší obsah chloridů byl zaznamenán u obou syrových mlék ($P < 0,05$). Šetrná a vysoká pasterace způsobily zvýšení obsahu chloridů o 0,1 $g \cdot kg^{-1}$ ($P < 0,05$). Obsah chloridů v mléce je podle Gajdůška [5] 0,8 – 1,4 $g \cdot l^{-1}$, podle Buňky [3] a Foxe a McSweeneyho [17] je obsah chloru jako chloridů 900 – 1100 $mg \cdot l^{-1}$. Stanovené hodnoty se tedy pohybují v rozmezí uváděném v literatuře [3, 5, 10].

7.11 Výsledky senzorické analýzy

Senzorické hodnocení bylo provedeno dle postupu uvedeného v kapitole 6.5. Při senzorickém hodnocení byla použita stupnicová zkouška, párová porovnávací zkouška a pořadová preferenční zkouška.

7.11.1 Senzorické hodnocení mléka pomocí stupnic

Mléko bylo hodnoceno pomocí stupnicové zkoušky ve třech znacích: vzhledu a barvě, konzistenci, chuti a vůni. Výsledky zkoušky prezentované jako mediány jsou uvedeny v Tab. 8.

Ve vzhledu a barvě byla všechna mléka bez rozdílu hodnocena jako výborná ($P \geq 0,05$). V posuzované konzistenci převažovalo hodnocení výborné a velmi dobré ($P \geq 0,05$). V chuti a vůni byly vzorky šetrně pasterovaného mléka z farmy hodnoceny hůře než ostatní vzorky, ale statisticky významně se navzájem vzorky nelišily ($P \geq 0,05$). Lze tedy konstatovat, že hodnotitelé nepoznali rozdíl mezi šetrně pasterovaným mlékem a mlékem podrobeným vysoké pasteraci, a to v žádném ze sledovaných znaků. V ČSN 57 0529 [34] jsou uvedeny požadavky na organoleptické vlastnosti mléka. Barva mléka má být bílá, popřípadě s lehce nažloutlým odstínem. Má se jednat o stejnorodou tekutinu bez usazenin, vloček a hrubých nečistot. Chuť a vůně mléka má být čistě mléčná bez jiných příchutí a pachů. Konzistence, vzhled, barva, chuť i vůně mléka těmto požadavkům odpovídaly.

Tab. 8: Výsledky senzorického hodnocení pomocí stupnicové zkoušky

Sledovaný znak	**$Š_{Pf}$**	**V_{Pf}**	**$Š_{Pm}$**	**V_{Pm}**
vzhled a barva	1^a	1^a	1^a	1^a
konzistence	1^a	1^a	$1{,}5^a$	2^a
chuť a vůně	3^a	1^a	2^a	2^a

Pozn. $Š_{Pf}$ – šetrná pasterace farma, V_{Pf} – vysoká pasterace farma, $Š_{Pm}$ – šetrná pasterace mlékomat, V_{Pm} – vysoká pasterace mlékomat. Výsledky jsou uvedeny jako mediány (nižší medián znamená lepší hodnocení). Mediány následované různými horními indexy se statisticky významně liší ($P < 0{,}05$).

7.11.2 Senzorické hodnocení mléka pomocí párové porovnávací zkoušky

Cílem rozdílových (párových porovnávacích) zkoušek bylo zjistit rozdíl ve sladkosti mléka a rozdíl ve vařivé příchuti. Při statistickém hodnocení bylo zjištěno, že hodnotitelé nepoznali rozdíl mezi jednotlivými záhřevy ani ve sladkosti, ani v intenzitě vařivé příchutě. Vzorky šetrně i vysoce pasterovaného mléka z farmy i mlékomatu lze tedy považovat z hlediska těchto parametrů za podobné ($P \geq 0{,}05$).

7.11.3 Senzorické hodnocení mléka pomocí pořadové preferenční zkoušky

Cílem preferenční pořadové zkoušky bylo zjistit, které mléko bylo pro hodnotitele nejlepší (nejpreferovanější). Výsledky zkoušky prezentované jako součty pořadí jsou uvedeny v Tab. 9.

Tab. 9: Výsledky senzorického hodnocení pomocí pořadové preferenční zkoušky

$Š_{Pf}$	**V_{Pf}**	**$Š_{Pm}$**	**V_{Pm}**
38^a	17^b	33^b	32^b

Pozn. $Š_{Pf}$ – šetrná pasterace farma, V_{Pf} – vysoká pasterace farma, $Š_{Pm}$ – šetrná pasterace mlékomat, V_{Pm} – vysoká pasterace mlékomat. Výsledky jsou uvedeny jako mediány (nižší medián znamená lepší hodnocení). Mediány následované různými horními indexy se statisticky významně liší ($P < 0{,}05$).

Vzorek mléka z farmy ošetřený šetrnou pasterací byl hodnocen hůře, než ostatní tři vzorky tepelně ošetřeného mléka ($P < 0,05$). Naproti tomu vzorek z farmy podrobený vysoké pasteraci vykazoval nejnižší součet pořadí, ovšem na základě statistického hodnocení lze konstatovat, že se nelišil od mlék z mlékomatu ($P \geq 0,05$). Tepelný záhřev se může negativně projevit v barvě mléka (z důvodu probíhajících Maillardových reakcí) a mohou vzniknout senzoricky aktivní látky, které ovlivní chuť a vůni mléka. Tyto reakce probíhají ve větším rozsahu při intenzivnějším tepelném zákroku [3, 34]. Naše výsledky toto tvrzení ovšem nepotvrzují, hodnotitelé šetrně pasterovaná mléka nepreferovali a intenzivnější tepelný záhřev se na senzorických vlastnostech mléka negativně neprojevil.

ZÁVĚR

Mléko má na naše zdraví značný vliv, protože ho většina lidí konzumuje od útlého věku. Má nejkomplexnější složení ze všech potravin. Mléko má vhodné nutričně významné složky (bílkoviny, vápník, hořčík, biotin, vitaminy (A, D, B), minerální látky). Spotřebitel má možnost zakoupit mléko syrové, které by měl před konzumací převařit, nebo si může koupit mléka tepelně ošetřená pasterací či UHT-záhřevem. Tepelným ošetřením mléka dojde k prodloužení doby trvanlivosti a k snížení počtu mikroorganizmů. Při šetrné pasteraci dochází k záhřevu mléka na teplotu 72 – 75 °C/15 – 20 sekund. Šetrná pasterace ovlivní mléko minimálně, způsobuje inaktivaci alkalické fosfatázy, denaturaci syrovátkových bílkovin asi z 15 %, minimální přechod rozpustného vápníku na nerozpustnou formu, také senzorické a technologické vlastnosti jsou ovlivněny nepatrně. Vysoká pasterace u mléka probíhá při teplotě 85 °C po dobu několika sekund. Pasterace vysoká ovlivňuje mléko o něco více než pasterace šetrná. Při vysoké pasteraci dochází k inaktivaci alkalické fosfatázy i laktoperoxidázy, dochází k značnému přechodu rozpustného vápníku na nerozpustný, denaturují se syrovátkové bílkoviny asi z 50 %.

Diplomová práce pojednává o rozdílu v obsahu složek mléka z rodinné farmy a z mléčného automatu a o rozdílu mezi syrovým mlékem a mlékem tepelně ošetřeným (šetrnou a vysokou pasterací). U mléka bylo provedeno stanovení hustoty, kyselosti (pH a titrační kyselost), obsahu sušiny, tuku, bílkovin, laktózy, vápníku a chloridů. Dále byla provedena peroxidázová zkouška na průkaz vysoké pasterace.

Pomocí peroxidázové zkoušky byl prokázán záhřev mléka nad 80 °C. U mléka z farmy byly stanoveny následující hodnoty: hustota 1,0283 – 1,0286 $g \cdot cm^{-3}$, titrační kyselost 6,8 SH, pH 6,7, sušina 13,1 %, tuk 5,1 – 5,4 %, bílkoviny podle Kjeldahla 3,7 – 3,8 % a podle Steineggera 3,5 – 3,7 %, laktóza 4,4 – 4,5 %, vápník 69,2 – 70,5 $mg \cdot 100\ g^{-1}$, chloridy 0,8 – 0,9 $g \cdot kg^{-1}$. Mléko z mlékomatu vykazovalo následující hodnoty: hustota 1,0284 – 1,0287 $g \cdot cm^{-3}$, pH 6,8, titrační kyselost 7,2 – 7,3 SH sušina 13,2 %, tuk 4,5 – 4,6 %, bílkoviny podle Kjeldahla 3,7 % a podle Steineggera 3,5 – 3,6 %, laktóza 4,4 %, vápník 69,3 – 70,6 $mg \cdot 100\ g^{-1}$, chloridy 0,8 – 0,9 $g \cdot kg^{-1}$.

Vzorky mléka z farmy a mlékomatu se navzájem statisticky významně lišily pouze v hodnotách pH, titrační kyselosti a obsahu tuku. Šetrná i vysoká pasterace se u vzorků mléka z farmy i mlékomatu projevily na změně v obsahu tuku, bílkovin (stanovených pouze podle Steineggera) a chloridů. Ostatní parametry tepelný záhřev neovlivnil.

K senzorické analýze byly předloženy pouze vzorky mléka tepelně ošetřeného pomocí šetrné a vysoké pasterace, nikoli vzorky syrového mléka. Hodnotitelé hodnotili vzorky podle stupnicové, párové a pořadové zkoušky. U stupnicové zkoušky byly sledovanými znaky vzhled a barva, konzistence, chuť a vůně. U párové zkoušky byla hodnocena sladkost a intenzita vařivé příchutě. Pořadová zkouška byla zaměřena na preferovanost jednotlivých vzorků. Kromě vzorku mléka z farmy tepelně ošetřeného šetrnou pasterací, který byl hodnocen jako nejméně preferovaný, nebyly mezi vzorky pozorovány žádné další rozdíly. Nelze tedy říci, že by hodnotitelé preferovali mléko ošetřené šetrnou pasterací, při které dochází k menším organoleptickým změnám. Hodnotitelé také nepozorovali žádné změny v barvě, konzistenci, chuti a vůni mléka, ani rozdíly ve sladkosti a vařivé příchuti.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] KOPÁČEK, J., M. ELLMANN. Mléko a sója – dva zcela odlišné produkty. *Mlékařské listy: zpravodaj*. Praha: Výzkumný ústav mlékárenský, 2009, 113/114, s. 2 – 4.

[2] Mléko ve výživě. In: *web2.mendelu.cz* [online], 23. 8. 2013. [cit. 2014-03-28]. Dostupný z: http://web2.mendelu.cz/af-291-projekty2/vseo/stranka.php?kod=1684.

[3] BUŇKA, František, Vendula PACHLOVÁ, Leona BUŇKOVÁ, a Michaela ČERNÍKOVÁ. *Mlékárenská technologie I*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013, 258 s. ISBN 978-80-7454-254-1.

[4] NAVRÁTILOVÁ, Pavlína, Michaela KRÁLOVÁ (DRAČKOVÁ), Bohumíra JANŠTOVÁ, Hana PŘIDALOVÁ, Šárka CUPÁKOVÁ a Lenka VORLOVÁ. *Hygiena produkce mléka*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012, 129 s. ISBN 978-80-7305-624-7.

[5] GAJDŮŠEK, Stanislav. *Laktologie*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003. Vyd. 1. ISBN 80-7157-657-3.

[6] DOLEŽAL, Oldřich a kol. *Mléko, dojení, dojírny*. Praha: © Ing. František Savov – Agrospoj, 2000.

[7] MENDELU. Základní chemické složení mléka. In: *web2.mendelu.cz* [online]. © 24. 8. 2013. [cit. 2014-03-28]. Dostupný z: http://web2.mendelu.cz/af-291-projekty2/vseo/stranka.php?kod=1685.

[8] LUKÁŠOVÁ, Jindra a kol. *Hygiena a technologie produkce mléka*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 1999, 101 s. ISBN 80-85114-53-4.

[9] FOX, Patrik F. a Paul L. H. MSWEENEY. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 2. Lipids. 1* st. ed. New York: Blackie Academic, 2006, 801 p.

[10] FOX, Patrik F. a Paul L. H. MSWEENEY. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Germany: Thomson Science, 1998, 463 s. ISBN 0-412-72000-0.

[11] FOX, Patrik F. *Fundamentals of Cheese Science*. Gaithersburg: Copyright © 2000 by Aspen Publishers, Inc. ISBN 0-8342-1260-9.

[12] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 2 sv. ISBN 978-80-86659-17-6.

[13] GAJDŮŠEK, Stanislav a Václav KLÍČNÍK. *Mlékařství*. Brno: Vysoká škola zemědělská, 1993, 128 s. ISBN 80-7157-073-7.

[14] ŠUSTOVÁ, Květoslava. *Laktologie (přednášky)*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2009.

[15] FOX, Patrik F. a Paul L. H. MSWEENEY. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 1, Proteins. 1* st. ed. New York: Kluwer Academic, 2006, 1346 p.

[16] LOCH, J. a kol. Two mode sof faty acis indig to bovine β-lactoglobulin-crystalographyc and spectoscopsis studie. *Journal of Molecular Recognition*, 24 (4 – 5), p. 341 – 349.

[17] HUI, Y. H. *Dairy Science and Technology Handbook*. Copyright © Wiley-VCH, 1993. ISBN 1-56081-078-5 .

[18] GURCAN, E. K. Association between milk protein polymorphism and milk production trans in Black and White dairy cattle in Turkey, 2011. *African Journal of Biotechnology* 10 (6), p. 1044 – 1048.

[19] MERGL, Miloš, a Eva ČERNÁ. *Mléko jako surovina pro mlékárenský průmysl*. Vyd. 1. Praha: Česká akademie zemědělská – Výzkumný ústav potravinářského průmyslu – Středisko technických informací potravinářského průmyslu, 1971, 212 s.

[20] WALSTRA, Pieter a Jan T. WOUTERS a T. GEURTS. *Dairy Science and Technology*. Vyd. 2. Boca Raton: CRC/Taylor & Francis, 2006, 782 p. Food science and technology (Taylor, 146. ISBN 0-8247-2763-0.

[21] ZADRAŽIL, Karel. *Mlékařství: přednášky*. Vyd. 1. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2002. ISBN 80-886642-15-1.

[22] TAMINE, A. *Structure of Dairy Products.* Oxford: Blackwell Publishers Ltd.,, 007, 288 p.

[23] DRBOHLAV, J. a M. VODIČKOVÁ. *Tabulky látkového složení mléka a mléčných výrobků*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2002.

[24] HOLEC, Josef. *Hygiena a technologie mléka a mléčných výrobků*. 2., přeprac. vyd. Praha: SPN, 1989, 362 s. ISBN 80-85114-60-7.

[25] SIMEONOVOVÁ, Jana a Ivo INGR a Stanislav GAJDŮŠEK. *Zpracování a zbožíznalství živočišných produktů*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003, 122 s. ISBN 978-80-7157-708-9.

[26] BŘEZINA, Pavel a Jaroslav JELÍNEK. *Chemie a technologie mléka*. Vyd. 1. Praha: MON, 1990, 325 s. ISBN 80-7080-075-5.

[27] SMITHERS, Geoffrey W. a Mary Ann AUGUSTIN. *Advances in dairy ingredients*. Ames, Iowa: Institute of Food Technologists, 2013, xviii, 328 p. ISBN 978-081-3823-959.

[28] KVASNIČKOVÁ, Alexandra. *Alergie z potravin*. Vyd. 1. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1998, 60 s. ISBN 80-85120-93-3.

[29] RUJNER, Jolanta a Barbara A. CICHAŃSKA. *Bezlepková a bezmléčná dieta*. Vyd. 1. [české]. Brno: Computer Press, 2010, 108 s. ISBN 978-80-251-3255-5.

[30] ŠUSTOVÁ, Květoslava a Vladimír SÝKORA. *Mlékárenské technologie*. Vyd. 1. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2013. ISBN 978-80-7375-704-5.

[31] KADLEC, Pavel a kol. *Technologie potravin I.* 1. Vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, 300 s. ISBN 80-708-0509-9.

[32] KADLEC, P. a K. MELZOCH a M. VOLDŘICH. *Co byste měli vědět o výrobě potravin? Technologie potravin*. 1. Vyd. Ostrava: Key Publishing, 2009, 534 s. ISBN 978-80-7418-060-6.

[33] BYLUND, Gösta. *Dairy processing handbook*. Lund: Tetra pak Processing Systems ABS-22186, 1995, 436 p.

[34] ČSN 57 0529. *Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování*. Praha: Český normalizační institut, 1993 (1998).

[35] JANŠTOVÁ, Bohumíra a kol. *Technologie mléka a mléčných výrobků*. Vyd. 1. Brno: veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012. ISBN 978-80-7305-635-3.

[36] SMETANA, Pavel. *Faremní zpracování mléka v ekologickém zemědělství: kvalita mléka, hygienické požadavky na jeho zpracování, přímý prodej mléka: zásady ekologického chovu skotu, ovcí a koz.* Olomouc: Bioinstitut, 2009, 62 s. ISBN 978-80-904174-5-8.

[37] MENDELU. Požadavky na nadojené mléko. In: *web2.mendelu.cz* [online]. © 24. 8. 2013. [cit. 2014-03-28]. Dostupný z: http://web2.mendelu.cz/af-291-projekty2/vseo/stranka.php?kod=1687.

[38] SMIT, Edited by Gerrit. *Dairy processing: improving quality*. 1st published. Cambridge: Woodhead, 2003. ISBN 08-493-1758-4.

[39] FOX, P, John W. FUQUAY a Hubert RROGINSKI. *Encyclopedia of Dairy Sciences.* 1 st. ed. Amsterdam: Academic Press, 2003, Ix 2799 p. ISBN 01-222-7235-8.

[40] PEŠEK, Milan. *Ošetřování, hodnocení jakosti a zpracování mléka na farmě.* Vyd. 1. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, 1999, 54 s. ISBN 80-7105-191-8.

[41] SAMKOVÁ, Eva. *Mléko: produkce a kvalita*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2012, 240 s. ISBN 978-80-7394-383-7.

[42] DRAGOUNOVÁ, Hedvika. *Hodnocení jakosti mléka a mlékárenských výrobků: návody pro praktická cvičení.* Vyd. 1. Praha: Česká zemědělská univerzita Brno, Agronomická fakulta, 2003, 57 s. ISBN 80-86642-24-0.

[43] JANŠTOVÁ, Bohumíra a Josef HOLEC. *Hygiena a technologie mléka a mléčných výrobků: návody k praktické výuce v mlékařské dílně*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2004, 71 s. ISBN 80-7305-486-8.

[44] ŠÍPALOVÁ, Markéta. *Změny jakostních parametrů mléka a mléčných výrobků*. Teze disertační práce. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2012, 47 s. ISBN 978-80-7454-222-0.

[45] JANŠTOVÁ, Bohumíra. *Hygiena a technologie mléka a mléčných výrobků: Praktická část II.* Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2009. ISBN 978-80-7305-060-3.

[46] LUKÁŠOVÁ, *Jindra. Praktická cvičení z hygieny a technologie mléka.* Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2000, 67 s. ISBN 80-7305-388-8.

[47] LUKÁŠOVÁ, Jindra. *Praktická cvičení z hygieny a technologie mléčných výrobků.* Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2003, 51 s. ISBN 80-7305-469-8.

[48] JANŠTOVÁ, Bohumíra, Šárka CUPÁKOVÁ, Michaela DRÁČKOVÁ, Pavlína NAVRÁTILOVÁ a Lenka VORLOVÁ. *Hygiena a technologie mléka a mléčných výrobků: Praktická cvičení I.* Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2009, 84 s. ISBN 978-7305-061-0.

[49] ŠUSTOVÁ, Květoslava. *Laktologie (návody do cvičení).* Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2005, 40 s.

[50] HAVLOVÁ, Jana, Eva JIČÍNSKÁ a Hana HRABOVÁ. *Mikrobiologické metody v kontole jakosti mléka a mlékárenských výrobků.* 1. Vyd. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1993, 243 s. ISBN 80-85-120-37-2.

[51] GRIFFITHS, Mansel. *Improving the safety and quality of milk.* Boca Raton: CRC Press, c2010, 2 sv. ISBN 978-1-4398-0218-21.

[52] MENDELU. Tepelné ošetření mléka. In: *web2.mendelu.cz* [online]. © 24. 8. 2013. [cit. 2014-03-28]. Dostupný z: http://web2.mendelu.cz/af-291-projekty2/vseo/stranka.php?kod=1690.

[53] FORMAN, Ladislav. *Mlékárenská technologie II.* 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1994, 217 s. ISBN 80-708-0214-6.

[54] MENDELU. Pasterace. In: *web2.mendelu.cz* [online]. © 24. 8. 2013. [cit. 2014-03-28]. Dostupný z: http://web2.mendelu.cz/af-291-projekty2/vseo/stranka.php?kod=1691.

[55] FORMAN, Ladislav. *Moderní metody zpracování mléka I. část. Výroba hodnocení a zpracování mléka.* Brno: Vysoká škola zemědělská v Brně, 1983, 175 s.

[56] GAJDŮŠEK, Stanislav. *Mlékařství II.* Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1998, 135 s. ISBN 80-715-7342-6.

[57] EARLY, Ed. by Ralph. *The technology of dairy products*. 2. ed. London [u.a.]: Blackie Acad. Professional, 1998. ISBN 07-514-0344-X.

[58] KADLEC, Pavel. *Procesy potravinářských a biochemických výrob.* Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003, 308 s. ISBN 80-7080-527-7.

[59] KRATOCHVÍL, Lubomír. *Výroba mléka*. Vyd. 1. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1988.

[60] FRANCIS, Frederick J. *Food Science and Technology*. Massachusetts: University of Massachusetts Copyright © 2000. ISBN 0-471-19255-4.

[61] Sterilace a UHT. In: *web2.mendelu.cz* [online], 24. 8. 2013. [cit. 2014-03-28]. Dostupný z: http://web2.mendelu.cz/af-291-projekty2/vseo/stranka.php?kod= 1693.

[62] Zákon č. 110 ze dne 24. dubna 1997o potravinách a tabákových výrobcích. In: *Sbírka zákonů České Republiky*. 1997, částka 38.

[63] Zákon č. 166 ze dne 13. července 1999 o veterinární péči (veterinární zákon). In: *Sbírka zákonů České Republiky*, 1999, částka 57.

[64] Vyhláška č. 61 ze dne 6. března 2009 o veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty. In: *Sbírká zákonů České Republiky*. 2009, částka 20.

[65] Vyhláška č. 77 ze dne 27. března 2003, kterou se stanoví požadavky na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé oleje. In: *Sbírka zákonů České Republiky,* 2003, částka 32.

[66] Nařízení Komise (ES) č. 1662 ze dne 6. listopadu 2006, kterým se mění nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853 ze dne 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. In: *Úřední věštník Evropské unive: eur-lex.europa.eu*, 2006, L 302/1.

[67] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1308 ze dne 17. prosince 2013, kterým se stanoví společná organizace trhů se zemědělskými produkty. In: *Úřední věštník Evropské unive:eur-lex.europa.eu*. 2013, L3 47/641.

[68] MARSHALL, Robert. *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*. 16th ed. Washington: American Public Health Association, 1992, 546 s. ISBN 0875532101.

[69] ČSN ISO 8586-1. *Senzorická analýza: Obecná směrnice pro výběr, výcvik a sledování činnosti posuzovatelů.* Praha: Český normalizační institut, 2002, 23 s.

[70] ČSN ISO 8589. *Senzorická analýza: Obecné pokyny pro uspořádání senzorického pracoviště.* Praha: Český normalizační institut, 2008, 20 s.

[71] BUŇKA, František, Jan Hrabě a Bohumír VOSPĚL. *Senzorická analýza potravin I.* Vyd. 2. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2010, 157 s. ISBN 978-80-7318-887-0.

[72] INGR, Ivo, Jan POKORNÝ a Helena VALENTOVÁ. Senzorická analýza potravin. Vyd. 2., nezměn. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007, 101 s. ISBN 978-80-7375-032-9.

[73] KŘÍŽ, Oldřich, František BUŇKA a Jan HRABĚ. *Senzorická analýza potravin II.: statistické metody.* Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2007, 127 s. ISBN 978-80-7318-494-0.

[74] VLKOVÁ, Eva, Vojtěch RADA a Jiří KILLER. *Potravinářská mikrobiologie. 2*. vyd. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2009, 168 s. ISBN 978-80-213-1988-2.

[75] ČERVENKA, Jaroslav. *Výroba, jakost a obchod s mlékem v podmínkách EU II.* Vyd. 1. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, Informační a poradenské centrum PEF, 2005, 92 s. ISBN 80-213-1276-9.

[76] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

A	albuminové mléko
BMM	bod mrznutí mléka
CPM	celkový počet mikroorganizmů
°Den	Denzinometrické stupně
GIDH	glutamátdehydrogenáza
K	kaseinové mléko
MO	mikroorganizmy
NADPH	nikotinamid-adenindinukleotid fosfát
pI	izoelektrický bod
PSB	počet somatických buněk
RIL	rezidua inhibičních látek
S	směrodatná odchylka
S_M	syrové mléko
$Š_P$	šetrná pasterace
$Š_{Pf}$	šetrná pasterace farma
$Š_{Pm}$	šetrná pasterace mlékomat
V_P	šetrná pasterace
V_{Pf}	vysoká pasterace farma
V_{Pm}	vysoká pasterace mlékomat

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Schéma složení mléka (upraveno podle [8]) 15

Obr. 2: Složení hrubých bílkovin v mléce (upraveno podle [4, 5, 14]) 18

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Obsah hlavních složek v různých druzích kaseinových (K) a albuminových (A) mlék v % (upraveno podle [4]) 14

Tab. 2. Zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku (upraveno podle [8, 9]) 17

Tab. 3. Minerální látky v mléce a jejich obsah (upraveno podle [3, 30]) 23

Tab. 4. Obsah vitaminů v kravském mléce [$mg \cdot kg^{-1}$] (upraveno podle [3]) 24

Tab. 5. Hustota vody v závislosti na teplotě (upraveno podle [68]) 50

Tab. 6: Výsledky orientačního stanovení vybraných složek a vlastností mléka na analyzátoru MilkoScope 60

Tab. 7: Výsledky analytického hodnocení mléka 63

Tab. 8: Výsledky senzorického hodnocení pomocí stupnicové zkoušky 69

Tab. 9: Výsledky senzorického hodnocení pomocí pořadové preferenční zkoušky 70

SEZNAM PŘÍLOH

P I: Požadavky na jakost mléka (upraveno podle [3, 30, 34, 66, 67])

P II: Dotazník pro senzorické hodnocení

PŘÍLOHA P I: POŽADAVKY NA JAKOST MLÉKA

složka / parametr	rozsah hodnot	průměrné hodnoty	krajní popřípadě limitní hodnota
voda	86,0 -88,0 %	87,0	
sušina	11,9 – 14,2 %	12,5	min. 12,0
tuk	3,4 – 6,1 %	3,8	min. 33,0
tuk v sušině		28,0	min. 27,0
tukuprostá sušina	8,5 – 9,0 %	8,9	min. 8,5
bílkoviny	2,8 – 3,7 %	3,3	min. 28,0
kasein	2,2 – 2,8 %	2,5	
syrovátkové	0,4 – 0,7 %	0,6	
močovina	1,5 – 5,0 $mmol \cdot l^{-1}$		
laktóza	4,0 – 5,0 %	4,7	
minerální látky	0,68 – 0,77 $g \cdot 100g^{-1}$	0,7	
Ca	97 – 159 $mg \cdot 100g^{-1}$	137	min. 1,2 $g \cdot l^{-1}$
P	36,7 – 129 $mg \cdot 100g^{-1}$	91	
Mg	6,2 – 35 $mg \cdot 100g^{-1}$	13	
K	100 – 75 $mg \cdot 100g^{-1}$	145	
Na	32 – 75 $mg \cdot 100g^{-1}$	50	
Cl	90 – 140 $mg \cdot 100g^{-1}$	100	
PSB			≤ 400 000 (v 1 ml)
CPM			≤ 100 000 (v 1 ml)
RIL			negativní
bod mrznutí		-0,520 až – 0,540	-0,520 °C
titrační kyselost (SH)	6,2 – 7,8	7,0	6,2 – 7,8
aktivní kyselost (pH)	6,4 – 6,7	6,55	
hustota	1026 – 1032 $kg \cdot m^{-3}$	1030	min. 1026
chlorcukrové číslo			2,5
kysací aktivita			min. 25 podle SH
koliformní MO			max. 100 000 (v ml)
psychrotrofní MO			max. 50 000 (v ml)
termorezistentní MO			max. 2000 (v ml)
anaerobní sporotvorné MO			negativní

PŘÍLOHA P II: DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

SENZORICKÉ HODNOCENÍ ČERSTVÉHO MLÉKA

Jméno a příjmení: Podpis:

Datum: Hodina:

1. STUPNICOVÁ ZKOUŠKA

Ochutnejte předložené vzorky mléka a do tabulky zaznamenejte hodnocení pomocí kategorií 1 – 5 z přiložené stupnice.

	Vzhled a barva	**Konzistence**	**Chuť a vůně**
A			
B			
C			
D			

2. ROZDÍLOVÁ ZKOUŠKA – PÁROVÁ POROVNÁVACÍ ZKOUŠKA

Ochutnejte předložené vzorky mléka a určete, který vzorek z dvojice je sladší. Sladší vzorek zakroužkujte. Zkouška je s nucenou volbou – vyberete prosím sladší vzorek i v případě, že pokládáte oba za totožné.

A -------- B B -------- C

A -------- C B -------- D

A -------- D C -------- D

3. ROZDÍLOVÁ ZKOUŠKA – PÁROVÁ POROVNÁVACÍ ZKOUŠKA

Ochutnejte předložené vzorky a určete, který vzorek z dvojice má intenzivnější vařivou příchuť. Vzorek s intenzivnější vařivou příchutí zakroužkujte. Zkouška je s nucenou volbou – vyberete prosím vzorek s intenzivnější vařivou příchutí i v případě, že pokládáte oba za totožné.

A -------- B

B -------- C

A -------- C

B -------- D

A -------- D

C -------- D

4. POŘADOVÁ PREFERENČNÍ ZKOUŠKA

Ochutnejte předložené vzorky mléka a seřaďte je dle Vašich preferencí od nejlepšího (1) po nejhorší (4). Pořadí preferencí (1 – 4) zapište do tabulky. Zkouška je s nucenou volbou – přiřaďte prosím každému vzorku své pořadí, i v případě, že pokládáte vzorky za totožné.

Vzorek	**Preference**
A	
B	
C	
D	

STUPNICE PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ ČERSTVÉHO MLÉKA

Vzhled a barva

1. **Výborný** – barva mléka je neprůhledná, bílá až slabě nažloutlá, stejnorodá a homogenní v celém objemu
2. **Velmi dobrý** – barva mléka je neprůhledná, bílá až slabě nažloutlá, stejnorodá a homogenní v celém objemu, pouze s nepatrnými odchylkami od výborné
3. **Dobrý** – barva mléka je téměř neprůhledná, bílá či nažloutlá, stejnorodá a homogenní v celém objemu
4. **Méně dobrý** – barva mléka je mírně průhledná, více žlutá, našedlá, či s modrým nádechem, mírně nestejnorodá a nehomogenní
5. **Nevyhovující** – barva mléka je netypická pro mléko, průhledná, výrazně žlutá, šedá, namodralá, nestejnorodá a nehomogenní

Konzistence

1. **Výborný** – mléko má hustší konzistenci než voda, je homogenní a stejnorodé v celém objemu, bez usazenin, vloček či příměsí, tuk nevyvstává na povrchu
2. **Velmi dobrý** – mléko má hustší konzistenci než voda, je homogenní a stejnorodé v celém objemu, bez usazenin, vloček či příměsí, tuk nevyvstává na povrchu, mléko má jen nepatrné odchylky od vynikajícího
3. **Dobrý** – mléko má stále hustší konzistenci než voda, je homogenní a stejnorodé v celém objemu, bez usazenin, vloček či příměsí, tuk nepatrně vyvstává na povrchu
4. **Méně dobrý** – mléko má konzistenci téměř jako voda, je mírně nestejnorodé a nehomogenní, jsou patrné usazeniny, tuk vyvstává na povrchu
5. **Nevyhovující** – mléko má konzistenci jako voda, vykazuje známky ředění, je nestejnorodé a nehomogenní, s usazeninami či příměsemi, tuk zřetelně vyvstává na povrchu

Chuť a vůně

1. **Výborný** – chuť je harmonická, čistě mléčná, příjemně nasládlá, bez cizích příchutí, vůně je příjemná, čistě mléčná, bez cizích pachů
2. **Velmi dobrý** – chuť je harmonická, čistě mléčná, příjemně nasládlá, bez cizích příchutí, vůně je příjemná, čistě mléčná, bez cizích pachů, chuť i vůně se jen nepatrně odlišují od vynikající
3. **Dobrý** – chuť je stále harmonická, mléčná, nasládlá, bez výrazných cizích příchutí, vůně je stále příjemná, mléčná, bez výrazných cizích pachů
4. **Méně dobrý** – chuť je méně harmonická a čistá, sladkost je buď nepatrná, nebo naopak výrazná, jsou patrné cizí příchutě, vůně je méně příjemná a čistá, jsou patrné cizí pachy
5. **Nevyhovující** – chuť je netypická pro mléko, neharmonická, nečistá s cizími pachutěmi (vařivá, karamelizovaná, zatuchlá, hořká, ovocná, kyselá, kovová...), vůně je nečistá, nepříjemná s cizími pachy (nakyslý, žluklý, mýdlový, hnilobný...)