



## Vyšetření mléka a mléčných výrobků - návody do cvičení

Bc. Adéla Babulová, doc. MVDr. Bohumíra Janštvá, Ph.D.

IVA 2019FVHE/2340/57

1

## Vzhled a smyslové vyšetření syrového mléka

Barva	bílá, případně s lehce nažloutlým odstínem
Konzistence a vzhled	stejnorodá tekutina bez usazenin, vloček a hrubých nečistot
Chuť a vůně	čistě mléčná bez jiných příchutí a pachů

### Zkoušky vůně, pachu mléka

**Mléko** ve zkumavce zahřát na 35–40 °C, provést posouzení pachu nebo

K 20 ml mléka ve zkumavce přidat 1 pecku KOH, uzavřít a ponechat 5 minut při pokojové teplotě, provést posouzení pachu.

2

## Stanovení titrační kyselosti mléka (TK)

Kyselost mléka dle Soxhlet–Henkela (SH) je dána počtem ml roztoku hydroxidu sodného (NaOH,  $c=0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ ), spotřebovaného při titraci 100 ml mléka s indikátorem fenolftalein. 1 SH = 1 ml spotřebovaného roztoku NaOH. TK čerstvého mléka je 6,2–7,8 SH

Postup:

- Připravit do titr. baňky srovnávací roztok (1 x do skupiny) (1 ml 5% roztoku síranu kobaltnatého + 50 ml mléka) →

Dvojice studentů:

- 50 ml mléka odměřit odměř. válcem do titrační baňky →
- Přidat 2 ml fenolftaleinu (2% etanolový roztok) →
- Titrovat z byrety roztokem NaOH ( $c=0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ ) do slabě růžového zbarvení trvajícím nejméně 30 s a odpovídajícího barvě srovnávacího roztoku →



- Vypočítat titrační kyselost (SH) mléka podle vzorce:  $SH = 2 \cdot a$   
a – spotřeba odměrného roztoku NaOH v ml

3

## Stanovení aktivní kyselosti mléka

Aktivní kyselost je dána koncentrací vodíkových iontů v mléce. Vyjadřuje se v hodnotách pH.

Obvyklá hodnota aktivní kyselosti mléka je 6,4-6,7.

Postup:

- Mléko nalít do kádinky
- Stanovit jeho kyselost na pH metru kalibrovaném ústojným roztokem o pH 7 a dalšími ústojnými roztoky o pH 4 nebo 9



4

## Laktotest - k rychlému orient. stanovení kyselosti mléka

- Papírek namočit 1 s do zkoušeného mléka (všechny barevné pruhy pod hladinou mléka) a ihned porovnat vybarvení indikátorového proužku s ostatními barevnými pruhy na papírku
- Stanovit shodnost vybarvení
- Hodnotu kyselosti mléka v jednotkách pH, v jednotkách SH nebo v % kyseliny mléčné zjistit porovnáním s tabulkou uvedenou na obalu papírku. Vyhovující hodnoty dle evropské legislativy, resp. legislativy USA, jsou označeny rámečkem.

pH	°SH	% kyseliny mléčné	
6,1	10	0,23	
6,4	7,8	0,18	EU
6,5	7	0,16	USA
INDIKÁTOR INDIKÁTOR INDIKÁTOR			
6,7	6,2	0,14	

5

Přepočítání kyselosti mléka vyjádřeného v různých jednotkách (na 100 ml mléka, indikátor = fenolftalein)

SH (stupně Soxlet- Henkela) - spotřeba (v ml) 1/4 N NaOH

°Th (stupně Thörnera) - spotřeba (v ml) 1/10 N NaOH

°D (stupně Dornica) - spotřeba (v ml) 1/9 N NaOH

°SH	°Th	°D	% kys. mléčné
1	2,5	2,25	0,0225
0,4	1	0,9	0,009
4/9	10/9	1	0,01

6

## Zkrácený rozbor mléka

### Laboratorní stanovení

- Hustota – měrná hmotnost - laktodenzitometrem
- Obsah tuku acidobutyrometrickou metodou

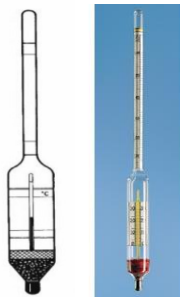
následně

### Výpočty ze zjištěných hodnot

- Obsah sušiny, sušiny tukuprosté, tuku v sušině (g/100 g, %)

7

## Měrná hmotnost mléka



Měrná hmotnost (hustota) mléka je vyjádřením hmoty v jednotce objemu. Je závislá na složení mléka a na teplotě.

Jednotky:  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ,  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ,  $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ,  $L_{20}$  (laktodenzimetrické číslo)

Obvyklá hodnota je **1028-1033 g.l<sup>-1</sup>**

Referenční metodou je stanovení vážením mléka při 20 °C v **pyknometru**,

Provozní stanovení je mléčným hustoměrem - **laktodenzimetrem**

8

### Stanovení hustoty mléka mléčným hustoměrem

- Mléko v Erlenmayerově baňce** vytemperovat ve vodní lázni na 40 °C, promíchat a ochladit na teplotu 15–25 °C
- Mlékem naplnit skleněný válec - opatrně nalévat po stěně válce; hladina musí být tak vysoko, aby po ponoření hustoměru část mléka přetékala do podložené misky
- Hustoměr** ponořovat pomalu, po uklidnění hladiny odečíst hodnotu hustoty (horní meniskus)  $Q_{20}$  (např.  $1,029 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  nebo  $1029 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ )
- Na teploměru** umístěném v hustoměru odečíst **aktuální teplotu mléka**
- Hustotu vyjádřit laktodenzimetrickým číslem ( $L_{20}$ ) vypočteným podle vzorce:  

$$L_{20} = (Q_{20} - 1) \cdot 1000$$

Příklad:  $L_{20} = (1,029 - 1) \cdot 1000 = 29$
- Pokud není při odečtu teplota mléka přesně 20 °C, **provést korekci** podle tabulky (korekční číslo najít v průsečíku  $L_{20}$  a teploty) a stanovit výslednou hodnotu  $L_{20}$  přičtením nebo odečtením korekčního čísla k zjištěné hodnotě - korekční číslo nalezené v tabulce se při teplotách nad 20 °C k hustotě ( $L_{20}$ ) přičítá, při teplotách pod 20 °C se odečítá.

*Příklad: zjištěná hustota v  $L_{20} = 29$  při teplotě 21 °C, tz. nalezené korekční číslo je 0,3. Výpočet je  $29 + 0,3 = 29,3$ , tz. výsledné laktodenzimetrické číslo je tedy **29,3***

Tabulka Korekce na teplotu 20 °C pro hustotu plynutého mléka

$L_{20}$	Teplota °C →															
	15	16	17	18	18,5	19	19,5	20	20,5	21	21,5	22	23	24	25	
15	1,0	0,9	0,7	0,5	0,4	0,3	0,1	0	0,1	0,3	0,4	0,5	0,8	1,1	1,4	
16	1,0	0,9	0,7	0,5	0,4	0,3	0,1	0	0,1	0,3	0,4	0,5	0,8	1,1	1,4	
17	1,1	0,9	0,7	0,5	0,4	0,3	0,1	0	0,1	0,3	0,4	0,5	0,8	1,2	1,5	
18	1,1	0,9	0,7	0,5	0,4	0,3	0,1	0	0,1	0,3	0,4	0,5	0,8	1,2	1,5	
19	1,1	0,9	0,7	0,5	0,4	0,3	0,1	0	0,1	0,3	0,4	0,5	0,8	1,2	1,5	
20	1,1	0,9	0,7	0,5	0,4	0,3	0,1	0	0,1	0,3	0,4	0,5	0,8	1,2	1,5	
21	1,1	0,9	0,7	0,5	0,4	0,3	0,1	0	0,1	0,3	0,4	0,5	0,8	1,2	1,6	
22	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4	0,3	0,1	0	0,2	0,3	0,4	0,6	0,9	1,2	1,6	
23	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4	0,3	0,1	0	0,2	0,3	0,5	0,6	0,9	1,3	1,6	
24	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4	0,3	0,1	0	0,2	0,3	0,5	0,6	0,9	1,3	1,6	
25	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4	0,3	0,1	0	0,2	0,3	0,5	0,6	0,9	1,3	1,6	
26	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4	0,3	0,1	0	0,2	0,3	0,5	0,6	0,9	1,3	1,7	
27	1,3	1,1	0,8	0,6	0,4	0,3	0,2	0	0,2	0,3	0,5	0,7	1,0	1,4	1,7	
28	1,3	1,1	0,9	0,6	0,5	0,3	0,2	0	0,2	0,3	0,5	0,7	1,0	1,4	1,7	
29	1,3	1,1	0,9	0,6	0,5	0,3	0,2	0	0,2	0,3	0,5	0,7	1,0	1,4	1,8	
30	1,3	1,1	0,9	0,6	0,5	0,3	0,2	0	0,2	0,3	0,5	0,7	1,1	1,4	1,8	
31	1,3	1,1	0,9	0,6	0,5	0,3	0,2	0	0,2	0,3	0,5	0,7	1,1	1,4	1,8	
32	1,4	1,2	0,9	0,6	0,5	0,3	0,2	0	0,2	0,3	0,5	0,7	1,1	1,5	1,8	
33	1,4	1,2	0,9	0,7	0,5	0,4	0,2	0	0,2	0,4	0,5	0,7	1,1	1,5	1,9	
34	1,4	1,2	0,9	0,7	0,5	0,4	0,2	0	0,2	0,4	0,5	0,7	1,1	1,5	1,9	
35	1,4	1,2	1,0	0,7	0,5	0,4	0,2	0	0,2	0,4	0,6	0,7	1,1	1,5	1,9	

### Stanovení obsahu tuku v mléce acidobutyrometrickou metodou

- Obsah tuku v mléce je podíl tuku, který se po rozpuštění bílkovin kyselinou sírovou a za přídavku amylalkoholu oddělí v butyrometru (tukoměru) odstředěním
- Je vyjádřený v g/100 ml nebo po přepočtu v g/100 g mléka (také v %)



stupnice smetana 0-40 % mléko 0-6 %

Použit ochranné brýle a zástěru nebo pracovat za krytem digestoře! 11

### POSTUP STANOVENÍ OBSAHU TUKU

- 10 ml Gerberovy kyseliny sírové dát do butyrometru na mléko dávkovačem 1
- 11 ml mléka (20 °C) pipetou „mléko“ navrstvit na kyselinu
- 1 ml amylalkoholu přidat dávkovačem 2
- Butyrometr uzavřít pryžovou zátkou
- Obsah protřepávat do dokonalého rozpuštění bílkovin (obsah hnědéne, bílé hrudky mizí)  
**Pozor, butyrometr se silně zahřívá, je třeba chránit si ruce!**
- Posunutím zátky upravit stav hladiny tak, aby sahala výš, než je očekávaný obsah tuku - tím se zaručí možnost odečtu po odstředění
- Butyrometr umístit do vodní lázně o teplotě 65 °C
- Butyrometr umístit do odstředivky na butyrometry (zátkami do patron)
- Odstředěvat 6 minut
- Po odstředění butyrometr vložit na dobu 3–5 minut do lázně s teplotou 65 °C
- Posunem zátky upravit spodní hranici tukového sloupce nejlépe tak, aby se kryl s nulou nebo rýskou označující celé procento
- Odečíst dolní hladinu menisku tuku s přesností na polovinu nejmenšího dělení, - obsah tuku je dán počtem dílků stupnice butyrometru (v g/100 ml mléka)

Pro použití do dalších výpočtů (s, stp, tvs) provést přepočtení na g/100 g 12

## Dávkače kyseliny sírové a amyalkoholu

kohoutkem otočte o 180° (ze svislé do opačné svislé polohy)



13

## Stanovení obsahu tuku



10 ml Gerberovy kys. sírové

11 ml mléka

1 ml amyalkoholu



promísit, zahřívát (65 °C)



odstředit



odečíst

14

Přepočet stanoveného obsahu tuku v g/100 ml mléka na obsah tuku v g/100 g mléka

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

- x - stanovený tuk v g/100 ml  
y - tuk v g/100 g (hmotnostní %)

Stanovení sušiny (s) mléka výpočtem na základě výsledků zkráceného rozboru (%)

$$s = 1,21 \cdot t + 0,25 \cdot L_{20} + 0,82$$

- t - tuk v g/100 g (hmotnostní %)  
L<sub>20</sub> - laktodenzimetrické číslo

15

Stanovení sušiny tukuprosté (stp) výpočtem ze zjištěného obsahu tuku a hustoty (%)

$$stp = 0,21 \cdot t + 0,25 \cdot L_{20} + 0,82$$

- t - tuk (g/100 g)  
L<sub>20</sub> - laktodenzimetrické číslo

Stanovení sušiny tukuprosté (stp) výpočtem ze zjištěného obsahu sušiny a tuku

$$stp = s - t$$

- s - obsah sušiny (g/100 g)  
t - obsah tuku (g/100 g)

Stanovení obsahu tuku v sušině (tvs) %

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

- t - obsah tuku (g/100 g)  
s - obsah sušiny (g/100 g; %)

16

Průkazy porušení mléka přidávkem vody nebo odebráním tuku - výpočty na základě zkráceného rozboru

Stanovení přidané vody (%)

$$\% \text{ přidané vody} = \frac{(\% stp_1 - \% stp_2) \cdot 100}{\% stp_1}$$

- stp<sub>1</sub> - sušina tukuprostá referenčního (neporušeného) vzorku mléka, není-li údaj k dispozici, pak dosadit hodnotu 8,8  
stp<sub>2</sub> - sušina tukuprostá vyšetřovaného vzorku mléka

Stanovení odebraného tuku (%)

$$\% \text{ odebraného tuku} = \frac{(\% t_1 - \% t_2) \cdot 100}{\% t_1}$$

- % t<sub>1</sub> - tuk referenčního (neporušeného) vzorku mléka  
% t<sub>2</sub> - tuk vyšetřovaného vzorku mléka

17

Stanovení sušiny mléka sušením (neprovádíme)

Sušina je podíl zbyvající po vysušení mléka při 102 ± 2 °C.

Postup:

Do připravené vysušené hliníkové misky s mořským pískem a skleněnou tyčinkou navážit 5 g mléka s přesností na 0,0001 g, zakrýt víčkem

Umístit do exikátoru

Vysoušet v sušárně při 102 ± 2 °C 2 hodiny - bez víčka, občas promíchat tyčinkou

Nechat vychladnout v exikátoru

Vážit po 30 minutách do konstantní hmotnosti

Vypočítat

$$\text{sušina} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100 \quad (\%; \text{ g/100 g})$$

- m<sub>0</sub> - hmotnost vysoušečky  
m<sub>1</sub> - hmotnost vysoušečky + hmotnost naváženého vzorku mléka v g  
m<sub>2</sub> - hmotnost vysoušečky + hmotnost vysušeného podílu v g



18

## Stanovení obsahu bílkovin amidočerní

Bílkoviny mléka vážou barvivo, jehož úbytek zjištěný spektrofotometricky je úměrný obsahu bílkovin.

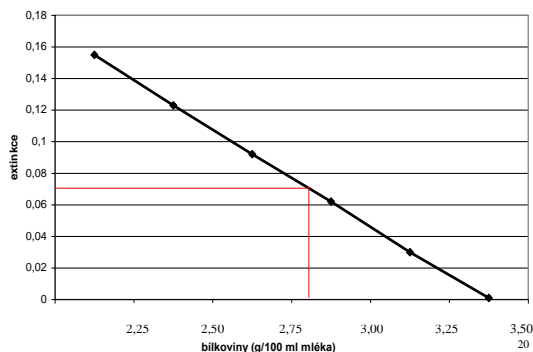
Postup:

- 5 ml mléka odpipetovat do odměrné baňky na 100 ml
- doplnit po rysku destilovanou vodou
- 2,5 ml z tohoto roztoku odpipetovat do odstředivkové zkumavky
- 5 ml roztoku amidočerní 10 B přidat dávkovačem
- ponechat vzorek v klidu 10 minut při pokojové teplotě
- odstředit vzorek 5 minut při rychlosti 2 500 ot/min
- 3 ml supernatantu napipetovat do odměrné baňky na 100 ml, doplnit destilovanou vodou po rysku, promísit
- změřit absorpenci připraveného roztoku na spektrofotometru při vlnové délce 615 nm
- stanovit odečtením ze sestrojené kalibrační křivky obsah bílkovin v mléce



19

## Kalibrační křivka - bílkoviny - syrové mléko



20

## Termostabilita bílkovin mléka

Před použitím vysokých teplot při tepelném ošetření je třeba zjistit, zda bílkoviny syrového mléka mají dostatečnou termostabilitu (nesmějí se srážet).

### Alkoholová zkouška

Alkohol odnímá hydratační vodu a převádí koloidní roztok bílkovin v gel. Za dostatečně stabilní se považují bílkoviny mléka, které odolávají působení ethanolu o koncentraci 75 %.

Postup:

- Do 3 zkumavek napipetovat 2–5 ml mléka
- Přidat stejné množství ethanolu o koncentraci 70, 75 a 80 %
- Zkumavky 2x převrátit a pozorovat chování směsi
- Vyhodnotit: zkumavka, ve které se vytvoří u příslušné koncentrace alkoholu na stěnách jemná sraženina, vypovídá o konkrétní citlivosti bílkovin

### Zkouška záhřevem (neprovádíme)

Působením parametrů teploty a času, které se používají při ošetření či zpracování mléka, se stanoví odolnost bílkovin mléka vůči této teplotě a časové expozici

Mléko naplněné ve speciální skleněné trubičce se po určenou dobu ohřívá v lázni s vodou či minerálním olejem na sledovanou teplotu

Sraženina na stěně zkumavky vypovídá o nedostatečné tepelné stabilitě bílkovin mléka

## Stanovení látkového obsahu volných mastných kyselin v mléce

Postup (připravila laborantka):

- připravit potřebné chemikálie a roztoky
- stanovit přesnou koncentraci odměrného roztoku KOH (před každou sérií pokusů):
  - hydrogenftalan draselný sušit při 100 °C po dobu 2 hodin, následně navážit cca 0,006 g a rozpustit v 5 ml destilované vody
  - roztok po přidavku 5 kapek fenolftaleínu titrovat odměrným roztokem KOH do růžového zbarvení, titraci provádět rychle a opakovat 3 x
  - přesnou koncentraci odměrného roztoku c(KOH) vypočítat podle vzorce:

$$c(KOH) = \frac{n \cdot 1000}{203,23 \cdot V} \quad [\text{mol.l}^{-1}]$$

$n$  = navážka hydrogenftalanu draselného (g)

$V$  = průměrná hodnota spotřeby odměrného roztoku KOH při vlastní titraci (ml).

22

### Postup vlastního stanovení

- Vzorek mléka ohřát ve vodní lázni na 35–40 °C, promíchat a ochladit na 20 °C
- do extrakční zkumavky napipetovat:
  - 3 ml vzorku mléka (nebo 1 ml smetany)
  - 10 ml směšného rozpouštědla
  - 6 ml petroléru
  - 4 ml redestilované vody
- zkumavku uzavřít zátkou a po dobu 15–30 vteřin intenzivně protřepávat
- ponechat asi 10 minut v klidu, až se vrstva nevodná a vodná oddělí
- z horní nevodné vrstvy odpipetovat opatrně do titrační baňky 5 ml
- přidat 6 kapek fenolftaleínu
- titrovat odměrným roztokem KOH do právě růžového zbarvení, stejného jako při slepém pokusu
- současně provést slepý pokus, kdy se místo mléka odpipetují 3 ml vody (při rozboru smetany 1 ml vody)
- u testovaného vzorku stanovit také obsah tuku mléka (smetany)
- vypočítat látkový obsah volných mastných kyselin v mléčném tuku

### Výpočet

$$VMK = \frac{(V_1 - V_0) \cdot c(KOH) \cdot 10^5}{V \cdot r_t \cdot K}$$

$V_1$  = spotřeba odměrného roztoku KOH při titraci testovaného vzorku (ml)

$V_0$  = spotřeba odměrného roztoku KOH při titraci slepého vzorku (ml)

$c(KOH)$  = přesná koncentrace odměrného roztoku KOH (0,02 mol.l<sup>-1</sup>)

$V$  = objem vzorku použitého k rozboru (ml)

$r_t$  = obsah tuku ve vzorku stanovený acidobutyrometrickou metodou (g.l<sup>-1</sup>)

$K$  = konstanta 0,628, vypočtená z poměru odpipetovaného podílu nevodné fáze k celkovému objemu nevodné fáze (5/7,96)

Rozdíl výsledků dvou souběžných stanovení, provedených v jedné laboratoři a jedním analytikem nemá být větší než 5 mmol.kg<sup>-1</sup> mléčného tuku.

24

## Stanovení obsahu vápníku v mléce provozní metodou

Vápník se stanoví přímo v mléce komplexometrickou titrací za použití metalochromního indikátoru.

**Postup:**

- Vzorek mléka vytemperovat na 20 °C
- do odměrné baňky o objemu 250 ml odvážit 10 g vzorku mléka
- doplnit destilovanou vodou po rysku a promíchat
- 50 ml tohoto roztoku odměřit do titrační baňky o objemu 250 ml
- zředít 100 ml destilovanou vodou
- přidat 5 ml roztoku NaOH (c=4 mol.l<sup>-1</sup>)
- přidat 0,2 g indikátoru
- rychle titrovat chelatonem III z růžově fialového zbarvení do modrofialového zbarvení
- zaznamenat spotřebu chelatonu III (a)
- provést **slепý pokus**:
- do titrační baňky o objemu 250 ml odměřit 150 ml destilované vody
- přidat 5 ml roztoku NaOH (c=4 mol.l<sup>-1</sup>)
- přidat 0,2 g indikátoru
- rychle titrovat chelatonem III z růžově fialového zbarvení do modrofialového zbarvení
- zaznamenat spotřebu chelatonu III (b)
- vypočítat obsah vápníku (Ca)

$$Ca = \frac{(a - b) \cdot 0,4 \cdot 100 \cdot V}{M \cdot V_1} \quad [\text{mg}/100 \text{ g}]$$

a – spotřeba odměrného roztoku chelatonu III při titraci vzorku mléka (ml)

b – spotřeba odměrného roztoku chelatonu III při titraci slepého vzorku (ml)

V – objem, na který byl vzorek ředěn (250 ml)

M – molární hmotnost vápníku (40 g/mol)

V<sub>1</sub> – objem vzorku mléka použitý k roztoku (10 g)

V<sub>2</sub> – objem vzorku roztoku odměřený k titraci (50 ml)

25

## Abnormální mléka

Tyto sekrety obvykle mají od zdravého zralého mléka odlišné a měnící se složení a vlastnosti, obsahují zvýšený počet somatických buněk a mohou být přítomny také patogenní mikroorganismy:

**Mlézivo** (kolostrum)

**Mléko vysokobřezích dojníc** (starodojné)

**Mléko dojníc s mastitidou** (mastitidní)

**Mléka aberantní** - samčí, panenské a čarodějně – jejich tvorba není vázána na předchozí graviditu

Stanovují se:

- Senzorické parametry (pach, konzistence - vodnatost srážení, vložkovitost) – neochutnávat!
- Enzymy
- Obsah chloridů
- Chlorcukerné číslo
- Elektrická vodivost
- Somatické buňky (přímé a nepřímé metody)

26

## Mlézivo - vlastnosti a složení

Barva	nažloutlá, nahnědlá
Konzistence	lepkavá, hustější, tekutá
Mikroskopický obraz	vyšší PSB, monocyty, kolostrální tělíska, epitelie
Zkouška varem	sráží se
Hustota	vyšší než mléko
Sušina , sušina tukuprostá	vyšší než mléko
Bílkoviny mléčného séra	vyšší než mléko
Enzymy	vyšší aktivita než v mléce
Titrační kyselost	vyšší než u mléka

Dny po porodu	Sušina (%)	Tuk (%)	Kasein (%)	Syrovátkové bílkoviny (%)	Laktóza (%)	Popel (%)
1	24,58	5,4	2,68	12,40	3,31	1,20
3	14,55	4,1	2,22	3,02	3,77	0,82
5	13,50	4,6	2,57	0,97	3,88	0,81
7	13,12	4,1	2,94	0,63	4,49	0,77
10	12,53	3,4	2,61	0,69	4,74	0,79

## Mastitidní mléko – senzorické vlastnosti

Ukazatel	Vzhled
Barva	nažloutlá, naředlá, namodralá, narůžovělá, červenavý sediment
Konzistence	nestejnorodá, hustější, vodnatější, vločky, hlenovitá, táhlovitá, klky
Pach	nenarušený, mírně až odporně zapáchající
Chuť	slaná, nahořklá, mýdlovitá, škrablavá <b>NEHODNOTIT!</b>
Zkouška varem	sráží se, zvýrazní se pach

28

## Mastitidní mléko – fyzikálně-chemické vlastnosti

Posuzovaná hodnota	snížení ↓	zvýšení ↑
Hustota, sušina	x	x
Tukuprostá sušina	x	
Laktóza	xxx	
Celkové bílkoviny	x	x
Kasein	xx	
Krevní bílkoviny		x
Krevní gamaglobulín		xxx
Tuk	x	
Ca, P, K, Mg, citráty	x	
Na, Cl		xxx
Kataláza		xx
Chlorcukerné číslo		xxx
Titrační kyselost	xx	
pH		xx
Elektrická vodivost		xx
Počet somatických buněk		xxx

29

## Průkaz enzymů

### Katalázová zkouška

Kataláza je enzym obsažený zejména v jaderných buňkách, v abnormálním mléku se zvyšuje jejich počet a tedy i množství katalázy.

Průkazem je zjištění kyslíku vzniklého rozkladem peroxidu vodíku katalázou.

**Postup:**

- Napipetovat vzorek mléka do ¼ zkumavky
- Přidat 3 kapky H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- Uzavřít zkumavky a promíchat
- Hodnotit: po uvolnění zátky dochází u mléka s vysokým PSB k pění až vzkypění

30

## Zkouška aktivity amylázy

Průkazem aktivity je rozložení škrobu amylázou přítomnou v abnormálním mléku. Používá se zředovací metoda, kterou se prokáže obsah nerozloženého škrobového mazu jodidovou zkouškou.

Postup:

- Do stojanu připravit 6 zkumavek
- Odměřit do zkumavek po 10 ml mléka
- Přidat pipetou čerstvý škrobový maz v množství podle tabulky

Zkumavka	1	2	3	4	5	6
ŠM (ml)	0,05 ○	0,10 ○	0,15 ○	0,20 ●	0,30 ●	0,50 ●

- Promíchat a inkubovat 30 minut při 20 °C
- Přidat do každé zkumavky 1 ml Lugolova roztoku
- Hodnotit: mléko (mleziivo) s rozloženým škrobem (s vyšším obsahem amylázy) je zbarveno žlutě, mléko s nerozloženým škrobem modře

Zralým mlékem zdravých dojníc se rozloží max. 0,15 ml škrobového mazu 31

## Stanovení obsahu laktózy v mléce

Stanovuje se pomocí polarimetru se sodíkovým spektrem. Na základě velikosti úhlu stočení roviny polarizovaného světla za jinak konstantních podmínek se vypočítá koncentrace laktózy. Obsah laktózy se stanoví ve filtrátu získaném z vyčěřeného mléka.

Postup:

- Do odměrné baňky na 100 ml odvážit přesně 50 g mléka
- Přidat 5 ml roztoku ferrokyanidu draselného  $K_4[Fe(CN_6)] \cdot 3H_2O$ ,  $c=150 \text{ g.l}^{-1}$ , promíchat
- Přidat 5 ml roztoku síranu zinečnatého  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $c=300 \text{ g.l}^{-1}$  a promíchat
- Doplnit destilovanou vodou po značku, ponechat 20 minut stát a promíchat
- Zfiltrovat nejhustším skládaným filtrem do suché kádinky, první podíl filtrátu vyliť, další filtrát použít ke stanovení
- Filtrát vytemperovat na 20 °C, naplnit do polarimetrické trubice (délka 200 mm), na polarimetru odečíst úhel otočení  $\alpha$  (střední část v zorném poli musí splynout s vnějšími v souvislou tmavošedooranžovou plochu)
- Vypočítat obsah monohydrátu laktózy (L) v %  $(\text{g}/100 \text{ g})$

$$L = \frac{0,9518 \cdot \alpha \cdot F}{a} \times 100$$



$\alpha$  - kruhové stupně odečtené na polarimetru

$a$  - navážka vzorku (g)

$F$  - objemová korekce na sraženinu (plnotučné mléko 0,954, odstředěné 0,976)

33

## Výpočet chlorcukrového čísla

Chlorcukrové číslo je poměr mezi obsahem chloridových iontů (mg/100 ml) a obsahem laktózy ( $\text{g.l}^{-1}$ ) v mléce. Číslo je vhodnou charakteristikou mléka mastitidních dojníc.

Postup:

- Obsah laktózy a chloridů stanovit podle návodu
- Vypočítat chlorcukrové číslo podle vzorce:  $\frac{\text{Cl}^- (\text{mg}/100 \text{ ml})}{\text{laktóza } (\text{g.l}^{-1})}$
- Hodnotit: smíšené mléko zdravých dojníc 1,7–2 individuální (nebo malý počet dojníc) 1,5–2,5 sekreční poruchy nad 2,5

35

## Stanovení obsahu chloridů v mléce

Chloridové ionty se stanoví po přidavku kyseliny dusičné argentometrickou titrací - chloridy se vysráží dusičnanem stříbrným a jeho přebytek se stanoví zpětnou titrací thiokyanatanem amonným. Indikátorem je síran železitoamonný. Obvyklý obsah chloridů v mléce je 80-140 mg/100 g mléka.

Postup

- Do titrační baňky o objemu 100 ml odvážit asi 10 ml mléka, zvážit s přesností na 0,0002 g (a)
- Přidat 5 ml kyseliny dusičné  $HNO_3$  (25%)
- Přidat 1 ml roztoku síranu železitoamonného  $NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ , promíchat
- Přidat 10 ml roztoku  $AgNO_3$  (0,1 M)
- Titrovat za stálého míchání thiokyanatanem amonným  $NH_4CNS$  (0,1 M) do trvale červenohnědého zbarvení (b)
- Vypočítat obsah chloridů [mg/100 g mléka]:  $x = \frac{(10-b) \cdot 3,456 \cdot 100}{a}$

32



Polarimetr

Odečítání hodnot: Prává stupnice je tvořená stupnicí vnější a stupnicí vnitřní. Hodnota "0" stupnice vnitřní ukazuje jednotky stupňů - odečti na stupnici vnější. Stupeň vnitřní stupnice, který je přesně proti stupni stupnice vnější vyjadřuje desetiny či setiny stupně - odečti na stupnici vnitřní. V případě znázorněném na obrázku je výsledná hodnota 1,30 °



34

## Stanovení elektrické vodivosti mléka

- Elektrická vodivost je důležitým diagnostickým ukazatelem jakosti mléka. Je způsobena především disociovanými solemi. Mléko zdravých dojníc má vodivost  $0,4-0,52 \text{ S.m}^{-1}$  ( $4-5,2 \text{ mS.cm}^{-1}$ ).

Měrná vodivost se zvyšuje při mastitidách, kdy je snížený obsah nevodivé laktózy, zvýšený obsah chloridů aj. iontů, ale také po přidání neutralizačních látek a u nakyslého mléka.



- Stanovení přístrojem Milk Checker: nalít mléko do „misky“ přístroje, stlačit červené tlačítko, odečíst hodnotu

36



## Průkazy somatických buněk (SB)

Limitní počet somatických buněk v bazénovém vzorku mléka je **400 000 v 1 ml** (klouzávý geometrický průměr za dobu 3 měsíců při min 1 odběru měsíčně). Individuální vzorek je aktuálně má SB cca 100 000.

Stanovujeme:

- Enzymy (viz snímky č. 26 a 27)
- Mikroskopické cytologické vyšetření SB
- Mastitis NK test

37

## Kvalitativní mikroskopické vyšetření somatických buněk

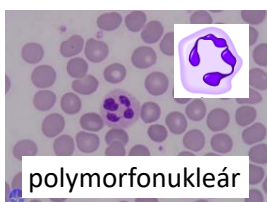
- Odstředěním mléka v **odstředivkové zkumavce** získat sediment z mléka
- Na **podložní sklo** odmaštěné xylenem nanést kapku **fyzilogického roztoku**
- Přidat kličkou sediment do zakalení kapky
- Rozetřít rovnoměrně na ploše asi 1 x 2 cm
- Ponechat zaschnout, poté fixovat plamenem
- Barvit **metylénovou nebo toluidinovou modří 3–5 minut**
- Opláchnout vodou a osušit
- Pozorovat **mikroskopem** v **olejové imerzi** při zvětšení **100 x** a hodnotit typ a vzhled somatických buněk



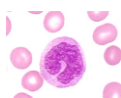
Preparát lze připravit také přímo jako nátěr mléka v kapce fyzilogického roztoku

38

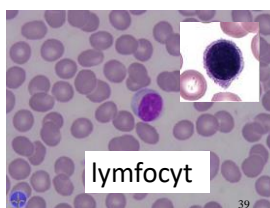
Co vidíme:



polymorfonukleár



monocyt



lymfocyt

39

## NK test

(NK – Neumann a Kudělka)

Činidlo obsahuje saponát, jehož působením praskne buněčná blána somatických buněk a dojde k despiralizaci jaderné DNA, čímž se změní viskozita mléka. Dále činidlo obsahuje acidobazický indikátor (fenolovou červeň).



Postup:

- Na misky na **posuzovací paletě** napipetovat **2 ml syrového mléka**
- Přidat **2 ml diagnostického reagensu** a promísit
- Hodnotit reakci – změnu barvy, konzistence a charakter filmu na dně misky při naklánění palety:
  - a) v šikmo dopadajícím světle za současného pomalého střídavého naklánění misky ve směru optické osy pohybu
  - b) v kolmém pohledu za současného pomalého, střídavého naklánění misky
  - c) v kolmém pohledu při krouživém pohybu v horizontální rovině

40

NK test - hodnocení	Popis reakce a vzhledu filmu při pohybu palety
– 0,0	bez změny viskozity
± 0,5	zvlněný film na dně misky
+ 1,0	závojovitý film na dně misky
++ 2,0	shlukování směsi
+++ 3,0	tvorba reliéfu na hladině směsi

Hodnocení podle barvy směsi

(reakce na kyselost mléka):

mléko zdravých dojnic – pleťová barva



zánětlivý sekret – karminové červená barva



mlezivo – žlutá barva



## Kontrola přítomnosti reziduí inibičních látek

- **Detekce a skupinová identifikace RIL 6 plotnovou metodou** (mikrobiologická difúzní metoda dle *Metodického pokynu SVS 2008, SVU Jihlava*)
- **Kysací zkouška s jogurtovou kulturou**
- **Screeningové testy**

Delvo T test

Eclipse test

Twinsensor BT

DELVO X- press test

Beta star test

Penzym test

SNAP beta laktam test

SNAP tetracyklin test

Twinsensor BT

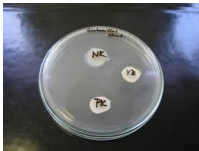
akreditované laboratoře mlékárny

mlékárny prvovýroba

42

## Mikrobiologická difúzní metoda - 6 plotnová metoda

- Přítomnost RIL v mléce je zjištěna na základě jejich schopnosti inhibovat růst některých mikroorganismů.
- Pro rychlou identifikaci a skupinovou specifikaci antibiotik (ATB) a sulfonamidů (SU) se používají mikrobiologické difúzní metody, které jsou založeny na pronikání (difúzi) ATB a SU ze vzorku mléka do půdy nasycené kulturou testovacích kmenů mikroorganismů, citlivých na uvedené inhibiční látky (IL). Je-li ve vzorku přítomna IL, testovací mikroorganismus neroste, v nepřítomnosti IL roste testovací kmen bez omezení.



43

## a) Příprava disků na plotnu a aplikace vzorku b) plotna po inkubaci



Plotny s agarem obsahujícím testovací mikroorganismus a s upraveným pH jsou laborantkou předem připraveny.

- Sterilní disk ponořit částečně do vzorkovnice s mlékem, nechat nasát a přebytek mléka odstranit otřením disku o vnitřní stranu vzorkovnice
- Disky s nasátým vzorkem mléka položit na povrch testacího media v plotnách, disky se vzorky dávat dvojmo, úhlopříčně
- Kontrolní disky položit na povrch testacího media v plotnách
- Na kontrolní disky aplikovat automatickou pipetou 10  $\mu$ l (na 6. plotnu 30  $\mu$ l) příslušného pracovního roztoku ATB nebo sulfonamidu

44

## Plotny, testovací mikroorganismy, pH půdy, kontrola, citlivost

Plotna	kmen	pH	kontrola
1	<i>Bacillus subtilis</i> BGA CCM 4062	6,0	PNC
2	<i>Bacillus subtilis</i> BGA	8,0	STM
3	<i>Kocuria rhizophila</i> CCM 552	8,0	STM
4	<i>Bacillus subtilis</i> BGA + TMP (trimethoprim)	7,2	SU
5	<i>Geobacillus stearothermophilus</i> v.c. C 953	8,0	PNC
6	<i>Escherichia coli</i> CCM 7372	8,0	ciprofloxacín

Plotna	Citlivost na skupinu antibiotik
1	tetracykliny
2	$\beta$ -laktamy a makrolidy
3	aminoglykosidy
4	sulfonamidy a tetracykliny
5	$\beta$ -laktamy a aminoglykosidy
6	chinolony (enrofloxacin, ciprofloxacín, danofloxacin, marbofloxacin, flumequine)

Pozitivní: plotny 1,2,3,4,6 - zóna 2 a více mm, plotna 5 - 1 a více mm

45

## Kysací zkouška s jogurtovou kulturou

Přítomnost reziduí inhibičních látek v mléce se projevuje snížením jeho kysací schopnosti po zaočkování zkoušeného mléka jogurtovou kulturou a inkubaci.

Mírou je dosažená titr. kyselost mléka po inkubaci stanovená podle Soxhlet-Henkela.

Postup:

- Vzorek mléka laboratorně zpastorovat v TB při teplotě 85 °C 2 minuty a zchladit na 43 °C
- Přidat 2 ml směsi čerstvé jogurtové kultury Laktoflora typ RX se sterilním mlékem nebo přímo 1 ml jogurtové kultury; baňku uzavřít fólií a obsah opatrně promíchat
- Vzorek inkubovat 3 a ½ hodiny v termostatu při teplotě 43  $\pm$  2 °C
- Stanovit titrační kyselost mléka metodou podle Soxhlet-Henkela:
  - přidat jako indikátor 2 ml etanolového roztoku fenolftaleinu (2%)
  - titrovat odměrným roztokem NaOH ( $c=0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ ) do slabě růžového zabarvení shodného s barvou srovnávacího roztoku (50 ml mléka + 1 ml 5% roztoku  $\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ )
- Vypočítat titrační kyselost mléka (SH): **SH = 2 . a**

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

- Současně stejným postupem provést slepý pokus s mlékem prostým inhibičních látek (kyselost má být optimálně 40, nejméně 36 dle SH)
- Hodnotit výsledky:

Syrové mléko musí při kysací zkoušce dosáhnout hodnoty minimálně 25 SH. Zjistí-li se titrační kyselost zkoušeného mléka o 10 SH nižší oproti kyselosti slepého pokusu, je přítomnost inhibičních látek v mléce prokázána.

46

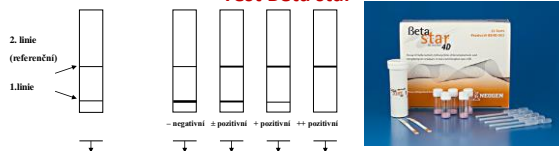
## Test na RIL - použití soupravy Delvotest T - ampule

- Zapnout inkubační stanici (64  $\pm$  0,5 °C), zkontrolovat její teplotu
- Dolním koncem pipety prorazit aluminiovou fólii ampule
- 0,1 ml (100  $\mu$ l) vzorku mléka nasát jednorázovou pipetou a vstříknout do plastové zkumavky s připraveným agarem
- Zkumavku vložit do stanice k inkubaci
- Spustit stopky
- Po 3 hodinách inkubace vyjmout zkumavku ze stanice
- Hodnotit:
  - negativní vzorek: žlutá barva
    - nejsou přítomna antibiotika nad stanovený limit
  - pozitivní vzorek: fialová barva
    - jsou přítomna antibiotika, jejichž koncentrace překračuje stanovený limit
  - podezřelý vzorek: žlutofialová barva
    - jsou přítomna antibiotika v koncentraci okolo stanovených limitů



47

## Test Beta star



Test obsahuje specifický  $\beta$ -laktamový receptor navázaný na částici zlata. V první fázi inkubace vzorku dojde k interakci  $\beta$ -laktamových antibiotik s receptorem, v následujícím kroku k přenosu na imunochromatografické medium. První proužek media naváže všechny volné receptory, které nejsou vázány  $\beta$ -laktamovými antibiotiky, druhý proužek s imunochromatografickým medium je referenční.

Postup:

- Připravit ampulky s aktivním receptorem a poklepáním přemístít všechen obsah na dno ampulky
- Odstranit plastový uzávěr a gumovou zátku
- Nasát 0,2 ml vzorku mléka přiloženou mikropipetou (špičku ponořit 1 cm)
- Napipetovat vzorek mléka do připravené ampulky
- Ampulku vložit do inkubační stanice
- Stisknout levé tlačítko start „1“, po 3 minutách se ozve signál
- Vyjmout ze zásobníku testovací proužek a zasunout do ampulky modrými špičkami dolů
- Pokračovat v inkubaci (47,5 °C) stisknutím pravého tlačítka start „2“, po 2 minutách se ozve signál
- Vyjmout testovací proužek z ampulky a odečíst výsledek porovnáním tloušťky linií
- Hodnotit výsledky

48



## Penzym test

- Penzym test je **kolorimetrická enzymatická metoda**. Je založen na aktivaci enzymu, která působí změnu barvy v případě nepřítomnosti  $\beta$ -laktamových antibiotik. Enzym DD carboxypeptidáza vytváří stabilní inaktivní komplex s těmito ATB. Během inkubace dochází k reakci enzymu s antibiotiky přítomnými ve vzorku mléka, jejímž výsledkem je inaktivace enzymu. Jestliže dojde k inaktivaci, nenastává po přidání tablety se substrátem po inkubaci další reakce, obsah lahvičky zůstává žlutý a indikuje přítomnost  $\beta$ -laktamových antibiotik. V případě, že vzorek mléka neobsahuje žádná rezidua  $\beta$ -laktamových antibiotik, enzym zůstává aktivní a reaguje se substrátem a výsledkem je červené zbarvení.
  - Laborantka:** Naředila enzym v ampulce vstříknutím 1 ml destilované vody do připravených Eppendorfových (E) zkumavek, napipetovala 10  $\mu$ l roztoku enzymu na dno, zapnula termostatový blok, po dosažení teploty 47 °C do něj vložila E zkumavku s enzymem
- Postup – studenti:**
- Napipetovat do E zkumavky 50  $\mu$ l mléka, promíchat zpětným nasáváním
  - Vložit do termostatového bloku, nastavit časový spínač na 5 minut, zapnout
  - po zaznění zvukového signálu vypnout blok levým tlačítkem a hned jej znovu zapnout
  - Do zkumavky přidat přiloženou pinzetou mikrotabletu barviva
  - Nastavit časový spínač na 10 minut, zapnout
  - po zaznění zvukového signálu hodnotit zbarvení ve zkumavce

- negativní vzorek – červené
- podezřelý vzorek – oranžové
- pozitivní vzorek – žluté



49



50

## Nařízení ES 853/2004

### Kritéria pro syrové kravské mléko

- Celkový počet mikroorganismů při 30 °C 100 000 v 1 ml**  
Klouzavý geometrický průměr za dobu dvou měsíců při alespoň dvou vzorcích za měsíc
- Počet somatických buněk 400 000 v 1 ml**  
Klouzavý geometrický průměr za dobu tří měsíců při alespoň jednom vzorku za měsíc, pokud příslušný orgán nestanoví jinou metodiku s cílem zohlednit sezónní změny v úrovni výroby
- Syrové mléko nesmí být uvedeno na trh, pokud obsahuje **rezidua antibiotik** v množství, které pro jednu z látek uvedených v přílohách I a III nařízení (EHS) č. 2377/9027 překračuje hodnotu povolenou uvedeným nařízením a pokud celkový obsah reziduí všech antibiotik překračuje nejvyšší přípustnou hodnotu

### Kritéria pro mléko jiných druhů než krav

- Celkový počet mikroorganismů při 30 °C 1 500 000 v 1 ml**  
Klouzavý geometrický průměr za dobu dvou měsíců při alespoň dvou vzorcích za měsíc
- Pro syrové mléko určené k výrobě výrobků ze syrovým mlékem postupem, který nezahrnuje tepelné ošetření max. **celkový počet mikroorganismů při 30 °C 500 000 v 1 ml**  
Klouzavý geometrický průměr za dobu dvou měsíců při alespoň dvou vzorcích za měsíc

Kravské mléko: složka, parametr	Průměr	Rozsah hodnot	Krajní hodnota, příp. limitní dle leg.
Titrační kyselost (podle SH)	7,0	6,2 - 7,8	6,2 - 7,8 *
Aktivní kyselost (pH)	6,55	6,4 - 6,7	
Měrná hmotnost (kg.m <sup>-3</sup> )	1030	1028-1032	min. 1028
Vodivost (mS.cm <sup>-1</sup> )		4 - 5,5	
Bod mrznutí °C (nejvýše)		-0,520 - -0,540	-0,520
	Průměrná hodnota (% g.100g <sup>-1</sup> )	Rozsah hodnot (% g.100g <sup>-1</sup> )	(% g.100g <sup>-1</sup> )
Voda	87,0	86,0 - 88,0	
Sušina	12,5	11,9 - 14,2	min 12
Sušina tukuprostá	8,9		min. 8,5 *
Tuk v sušině	28		min. 27
Tuk	3,8	3,4 - 6,1	min. 3,3 g.l <sup>-1</sup> *
Bílkoviny	3,3	2,8-3,7	min. 2,8 g.l <sup>-1</sup> * (32)
Kasein	2,5	2,2 - 2,8	
Syrovátkové bílkoviny	0,6	0,4 - 0,7	
Laktóza	4,7	4,5 - 5,0	
Volné mastné kyseliny Metoda extraktní titrační			32,0 mmol.kg <sup>-1</sup> (mt)
Močovina (mmol.l <sup>-1</sup> )		1,50-5,00 mmol.l <sup>-1</sup>	
Minerální látky (g/100g)	0,7	0,68 - 0,77	
Vápník	137	97-159	1,2 g.l <sup>-1</sup> *
Chloridy	100	90 - 140	
Kysací aktivita			Min. 25 podle SH*
Chlorurové číslo			2,5
Počet somatických buněk			400 000.ml <sup>-1</sup> *

## Průkaz pasterace - Storchova zkouška (test na peroxidázu)

Peroxidáza přítomná v syrovém mléce či v mléce zahřátém na méně než 80 °C uvolňuje z peroxidů kyslík a přenáší jej na snadno oxidovatelné látky, které mění zbarvení podle stupně inaktivace peroxidázy. Zkouška je průkazná v den pasterace.

- Pipetovat mléko do dvou zkumavek:
  - zkumavka: 5 ml syrového mléka
  - zkumavka: 5 ml syrového mléka - to laboratorně zpasterovat při 85 °C
- Do obou zkumavek přidat na špičku nože p-fenylendiamin a promíchat
- Do obou zkumavek přidat 1-2 kapky 1% roztoku peroxidu vodíku
- Hodnotit (viz foto)
  - tmavě modrá – syrové mléko
  - šedomodrá + -
  - bílá – zpasterované mléko



53

## Průkaz pasterace - Fosfatest - test na alkalickou fosfatázu

Alkalická fosfatáza je přítomná v syrovém mléce či v mléce zahřátém na méně než 70 °C, při vyšších teplotách je inaktivována

- Postup:**
- Reakční pásky vyjmout z PE sáčku
  - Ponořit na 3 s do mléka v kádince
  - Vložit zpět do PE sáčku
  - Inkubovat při 37 °C 1 hod
  - Vyhodnotit na základě zbarvení:
    - bílá: pasterované mléko
    - žluto – krémová : přídavek přibližně 2,5 % nepasterovaného mléka do mléka pasterovaného
    - světle žlutá: přídavek přibližně 5 % nepasterovaného mléka do mléka pasterovaného
    - intenzivně žlutá: nepasterované mléko

54

### Vyšetření konzumního mléka

- Hodnocení obalu a značení
- Smyslové vyšetření
- Titrační kyselost (snímek 3)
- Hustota (snímky 8-10)
- Obsah tuku (snímky 11-14)



### Vyšetření smetany ke šlehání

- Hodnocení obalu a značení
- Smyslové vyšetření
- Obsah tuku metodou
  - a) výplachovou
  - b) zředňovací



55

### Stanovení obsahu tuku smetany – metoda výplachová (V)

- Do butyrometru „smetana“ dávkovat 10 ml Gerberovy kyseliny sírové
- Napipetovat do butyrometru pipetou „smetana“ 5 ml smetany ke šlehání
- Do běžné pipety nasát 5 ml vody o teplotě cca 50 °C
- Propláchnout pipetu „smetana“ touto vodou - navrstvit ji do butyrometru
- Přidat 1 ml amylalkoholu
- Zazátkovat, odstředit
- Odečíst obsah tuku



56

### Stanovení obsahu tuku smetany – metoda zředňovací (Z)

- Do butyrometru „mléko“ dávkovat 10 ml Gerberovy kyseliny sírové
- Naředit smetanu ke šlehání v kádince: smetana 10 ml + destilovaná voda 60 ml
- Napipetovat 11 ml naředěné smetany pipetou na „mléko“ do butyrometru
- Přidat 1 ml amylalkoholu
- Zazátkovat, promísit, odstředit
- Odečíst obsah tuku
- Výpočet : odečtený obsah tuku x 7



57

Členění mléka a mléčných výrobků na druhy, skupiny a podskupiny příloha č. 4 k Vyhlášce č. 397/2016 Sb.

Druh	Skupina	Podskupina
MLÉKO	tekuté	kategorie konzumního mléka podle bodu 1 odst. III část IV přílohy Nařízení (ES) č. 1308/2013*
	zahuštěné	odtučněné, slazené nebo neslazené částečně odtučněné nebo polotučné, slazené nebo neslazené
	sušené	plnotučné, slazené nebo neslazené

#### Nařízení ES č. 1308/2013:

Mléko bez standardizace (selské)

Mléko se standardizací plnotučné (nad 3,5 %)

polotučné (1,5-1,8 %)

nizkotočné nebo odstředěné (do 0,5 % tuku)

Členění mléka a mléčných výrobků na druhy, skupiny a podskupiny Příloha č. 4 k Vyhlášce č. 397/2016 Sb.

Druh	Skupina	Podskupina
SMETANA	tekutá	- ke šlehání - vysokotučná
	zahuštěná	
	sušená	

Fyzikální a chemické požadavky Příloha č. 6 k Vyhlášce č. 397/2016 Sb.

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

### Vyšetření zahuštěného neslazeného mléka

Hodnocení obalu a značení, smyslově, titrační kyselost (stanovení obsahu tuku a sušiny)

### Vyšetření zahuštěného slazeného mléka

Hodnocení obalu a značení, smyslově (pískovitost) (stanovení obsahu tuku a sušiny)



### Smyslové vyšetření zahuštěného mléka

Mléko	Zahuštěné slazené	Zahuštěné neslazené
Barva	bílá s lehké smetanovým nádechem, stejnorodá	smetanová až slabě krémová, stejnorodá
Konzistence při 20 °C	hladká, viskózní, stejnorodá, mírný sediment není na závađu	hladká, viskózní, stejnorodá
Chuť a vůně	příjemně mléčná, sladká až mírně škrablavá, s příchutí po pasteraci	příjemná, čistá chuť po svařeném mléce, s velmi mírně slanou příchutí

### Stanovení titrační kyselosti zahuštěného mléka

- Připravit srovnávací roztok (1 ml 5% roztoku síranu kobaltnatého + 50 ml dále připraveného mléka)
- Navážit do kádinky 20 g zahuštěného neslazeného mléka
- Přidat cca 50 ml vody, promíchat
- Přelit obsah kádinky do odměrné baňky a doplnit do 100 ml vodou
- Odpipetovat 50 ml tohoto roztoku do titrační baňky
- Přidat 2 ml 2% etanolového roztoku fenolftaleinu
- Titrovat za byřety za stálého míchání roztokem NaOH (c=0,25 mol. l<sup>-1</sup>) do slabě růžového zbarvení, které odpovídá barvě srovnávacího roztoku
- Vypočítat titrační kyselost:

$$SH = a \cdot 10$$

a - spotřeba roztoku NaOH v ml

	Kyselost (SH)	Voda (%)	tuk (%)
Zahuštěné slazené mléko	20,0	25,0	nejméně 8,0
Zahuštěná slazená smetana		24,0	nejméně 16,0
Zahuštěné neslazené mléko	20,0	69,0	nejméně 7,5 <sub>1</sub>

Fyzikální a chemické požadavky - zahuštěné mléčné výrobky slazené  
Příloha č. 6 k Vyhlášce č. 397/2016 Sb.

Druh výrobku	Obsah tuku (%)	Mléčná sušina (hm. % nejméně)	Mléčná sušina tukuprostá (hm. % nejméně)
Zahuštěná slazená smetana	Nejméně 16,0		14
Zahuštěné slazené plnotučné mléko	Nejméně 8,0	28,0	
Zahuštěné částečně odstředěné mléko méně než 8,0 částečně odstředěné V tom plnotučné	Nejméně 1,0 méně než 8,0 4,0-4,5	24,0	20
Zahuštěné slazené odstředěné mléko	Nejvíce 1,0	20,0	20

### Stanovení obsahu vody sušeného mléka rychlou provozní metodou



Povolený obsah vody je max. 5 %

Obsah vody se stanoví sušením při teplotě 130 °C 6 minut

Postup:

- Do předsušené nezrezové nebo hliníkové vysoušecí misky navážit na předvážkách přesně 5,00 g vzorku sušeného mléka
- Sušit bez víčka v sušárně při teplotě 130 °C přesně 6 minut
- Po 5 minutách chlazení v exsikátoru vzorek s vysoušecí miskou zvážit
- Vypočítat obsah vody v %:  $x = a \cdot 20$   
a-úbytek na váze (g), tj. rozdíl hmotnosti vzorku před sušením a po sušení

65

Fyzikální a chemické požadavky - zahuštěné mléčné výrobky neslazené  
Příloha č. 6 k Vyhlášce č. 397/2016 Sb.

Druh výrobku	Obsah tuku (%)	Mléčná sušina (hm. % nejméně)	Mléčná sušina tukuprostá (hm. % nejméně)
Zahuštěná neslazená smetana	Nejméně 15,0	26,5	11,5
Zahuštěné neslazené plnotučné mléko	Nejméně 7,5	25,0	
Zahuštěné částečně odstředěné mléko méně než 7,5 4,0-4,5	Nejméně 1,0 méně než 7,5 4,0-4,5	20,0	17,5
Zahuštěné odstředěné mléko	Nejvíce 1,0		

### Vyšetření sušeného mléka



- Hodnocení obalu a značení
- Smyslové vyšetření

Barva a vzhled	Mléčné bílá až slabě krémová, stejnorodá, u plnotučného a odstředěného mléka s lehce nazelenalým odstínem
Konzistence	Práškovitá, sypká
Chuť a vůně	Příjemně mléčná, nasládlá, čistá, slabě vařivá

- Obsah vody - sušiny
- Titrační kyselost
- Obsah tuku (butyrometr na sušené mléko)

64

Fyzikální a chemické požadavky - sušené mléčné výrobky  
Příloha č. 6 k Vyhlášce 397/2016 Sb.

Druh výrobku	Obsah tuku (%) hm.	Mléčná sušina (hm. % nejméně)	Mléčná sušina tukuprostá (hm. % nejméně)
Sušená smetana	Nejméně 42,0		14
Sušené plnotučné mléko	Nejméně 26,0 a méně než 42,0	28,0	
Sušené částečně odstředěné mléko v tom plnotučné	Více než 1,5 a méně než 26,0 14,0 až 16,0	24,0	20
Sušené odstředěné mléko	Nejvíce 1,5	20,0	20

## Vyšetření čistých mlékařských kultur (ČMK)

- Zaočkováním sušených ČMK do sterilního mléka následujícím postupem vzniknou inkubační **zákysy**, které se hodnotí smyslově, biochemicky a mikroskopicky.
- Postup: Do **sterilního mléka** vytemperovaného na vhodnou teplotu očkovat **vhodnou koncentrací čistě mlékařské kultury** a kultivovat za podmínek stanovených pro danou ČMK.  
**Je již připraveno paní laborantkou dle následující tabulky:**

Kultura	Množství kultury k zaočkování (%)	Inkubační teplota (°C)	Inkubační doba (hod)
Smetanová	1	21 – 23	16 – 20
Jogurtová	1	42 – 45	2,5 – 4

- Vyhodnotit zákysy smyslově – chuť, vůni, film, konzistenci 67

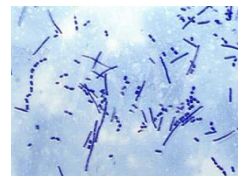
### Smetanová kultura

Chuť a vůně: čistě kyselá, aromatická  
Konzistence: hustá  
Titrační kyselost: 36 - 42 SH  
Mikroskopický preparát: hustá mikroflóra koků - diplokoků a streptokoků v poměru 4:1



### Jogurtová kultura

Chuť a vůně: čistě kyselá, jogurtová, aromatická  
Konzistence: hustá  
Titrační kyselost: nad 40 SH  
Mikroskopický preparát: hustá mikroflóra tyčinek a streptokoků v poměru 1:1 až 1:2



## Kvalitativní mikroskopické vyšetření



### Postup?

- Zákysovou kulturu** zředit přímo na **podložním skle fyziologickým roztokem**
- Připravit nátěr na podložním skle, nechat zaschnout
- Kápnout roztok **metylenové modři**, rozlít po povrchu nátěru
- Barvit **10 minut** a opatrně opláchnout
- Vyšetřit mikroskopicky:**
  - Jogurtová kultura:** Mikroskopický preparát: koky, často v řetězích, dlouhé tyčinky; poměr koků a tyčinek je optimálně 1:1, 2:1
  - Smetanová kultura:** Mikroskopický preparát: koky, diplokoky nebo krátké řetězky; optimální poměr laktokoků a leukonostoků je 2:1 - 4:1
  - Acidofilní kultura:** Mikroskopický preparát: hustá mikroflóra krátkých a středně dlouhých tyčinek 69

## Stanovení kyselosti zákysů titrační metodou podle SH

### Postup:

- 50 g zákysu** odvážit ( 50 ml odměřit válečkem) do **titrační baňky**
- Přidat **2 ml 2% etanolového roztoku fenolftaleinu**
- Titrovat za stálého míchání roztokem **NaOH (c=0,25 mol.l<sup>-1</sup>)** do slabě růžového zbarvení
- Vypočítat titrační kyselost podle vzorce: **SH = 2 . a**  
a - spotřeba ml odměrného roztoku NaOH, c=0,25 mol.l<sup>-1</sup>

## Stanovení obsahu kyseliny mléčné v zákysu výpočtem

Kyselost lze vyjádřit také v obsahu kyseliny mléčné. Stanoví se titrační kyselost právě zaočkovaného mléka a TK vzniklého zákysu (která je vyšší než původní kyselost mléka) a přepočítá se na obsah kyseliny mléčné:

**1 ml 0,25 mol.l<sup>-1</sup> NaOH odpovídá 0,0225 g kyseliny mléčné**

*Příklad: Titrační kyselost právě zaočkovaného mléka je 7,0*

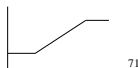
*Titrační kyselost zaočkovaného mléka = zákysu po inkubaci je 20 SH  
Obsahu kyseliny mléčné odpovídá rozdíl od výchozí TK mléka 20-7=13 SH  
Obsah kyseliny mléčné je 13 x 0,0225 = 0,2921 g/100 ml 70*

## Stanovení kysací aktivity čistých mlékařských kultur v průběhu kysání

Růst a metabolická aktivita ČMK je závislá na kvalitě mléka a na vitalitě ČMK. Vitalitu lze sledovat na základě hodnoty titrační kyselosti (podle tvorby kyseliny). Grafickým vyjádřením je křivka kysací aktivity (kyselost na ose y : doba na ose x).

### Postup (provést 1 x ve skupině):

- do **9 sterilních titračních baněk** odměřit **po 50 ml sterilního mléka** vytemperovaného na **42–45 °C**
- zaočkovat** každou baňku **1 % jogurtové kultury** ve formě zákysu
- inkubovat zaočkovaná mléka při teplotě **42–45 °C**
- v **30ti minutových intervalech** stanovovat titrační kyselost
- zaznamenávat** zjištěnou titrační kyselost
- vytvořit graf – křivku kysací aktivity** (závislost SH na ose y/čas na ose x)



71

## Fenolový test

Test slouží k ověření vitality kultury ve ztižených podmínkách.

### Postup:

- Do **Erlenmayerovy baňky** odměřit **100 ml sterilního mléka** vytemperovaného na teplotu **41–43 °C**
- Přidat **1 %** (tj. **1 ml**) **jogurtové kultury** ve formě zákysu
- Přidat **0,6 ml roztoku fenolu**
- Inkubovat **4 hodiny** při teplotě **41–43 °C**
- Stanovit titrační kyselost podle SH

Druh kultury (zákysu)	Přídavek	Podmínky kultivace		Min. kyselost (SH)
	fenolu (ml)	teplota (°C)	doba (hod)	
smetanová	0,4	21–23	16	25–30
jogurtová	0,6	41–43	4	25

72

### Stanovení obsahu diacetylu ve smetanovém zákysu

Diacetyl (biacetyl), typická aromatická látka smetanového zákysu, tvoří s kreatinem v alkalickém prostředí růžové zbarvení, jehož intenzita je úměrná obsahu diacetylu.

Postup:

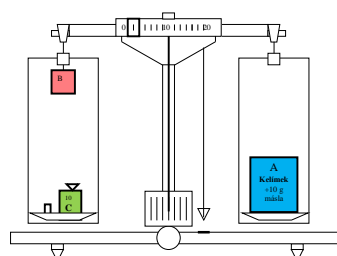
- Do zkumavky napipetovat 2 ml smetanového zákysu
- Přidat 2 ml roztoku NaOH (40%)
- Přidat na špičku nože kreatinu
- Ponechat 30 minut při pokojové teplotě
- Hodnotit vzniklý růžový kroužek u hladiny



Obsah diacetylu	Intenzita zbarvení	Hodnocení kultury
+	nepatrně růžové	velmi málo aromatická
++	slabě růžové	slabě aromatická
+++	středně růžové	středně aromatická
++++	silně růžové	silně aromatická
+++++	velmi silně růžové	velmi silně aromatická

Fyzikální a chemické požadavky - kysané mléčné výrobky  
Příloha č. 6 k Vyhláše č. 397/2016 Sb.

Druh výrobku	Obsah tuku ( v % hm)	Obsah sušiny tukuprosté (v % hm nejméně)
Kysaná smetana	Nejméně 10,0	
Kysané mléko vč. jogurtového	Nejméně 0,5	8,0
Podmáslí	Nejvíce 1,5	7,0
Jogurt bílý smetanový	Nejméně 10,0	
Jogurt bílý	Nejméně 3,0	8,2



Máslařské váhy

Při použití **technických vah** vypočteme obsah vody podle vzorce

$$\% \text{ vody} = \frac{100 \cdot \text{úbytek na váze}}{\text{navážka vzorku}}$$

úbytek = 10 g - váha po vytavení vody (v g)

77

### Vyšetření kysaných mléčných výrobků

Hodnocení obalu a značení, smyslové vyšetření, pH, TK, tuk

#### Stanovení obsahu tuku jogurtu bílého acidobutyrometrickou metodou

Postup:

- Do **butyrometru „mléko“** nalít 10 ml Gerberovy kyseliny sírové
  - 4,0–4,5 g (přesně) jogurtu navážít do malé kádinky, přidat dvakrát 3–4 ml destilované vody - vždy dávkou vypláchnout a přelit obsah kádinky do butyrometru; objem naředěného jogurtu v butyrometru musí být nakonec cca a max. 11 ml
  - Přidat 1 ml amyalkoholu, uzavřít, promíchat, nechat rozpustit
  - Odstředit
  - Odečíst obsah tuku
  - Vypočítat obsah tuku (x) podle vzorce:  $x = \frac{t \cdot 11}{n}$  (g/100g, %)
- t – odečet tuku na butyrometru  
n – navážka jogurtu (g).

74

### Vyšetření másla

Hodnocení obalu a značení, smyslové vyšetření, voda - tuk

#### Stanovení obsahu vody (tuku) v máse technickou orientační metodou

Obsah tuku v máse je obvykle 82 – 84 % - obsah vody v máse 14-16 %, netuky 2 %

Postup stanovení obsahu vody v máse při použití **máslařských vah**:

- Nastavit jezdec na horní stupnici na 0
- Vyrovnat váhy stavěcími šrouby (ručička vah se ustaví na středu dolní stupnice, olovnice směřuje kolmo dolů)
- Na misku vpravo umístit hliníkový kelímek (A)
- Zavěsit závaží (B) nad levou misku a dovážít (váha závaží neodpovídá přesně váze kelímku) nebo přímo vyvážit kelímek
- Na misku vlevo dát závaží 10 g (C)
- Do kelímku na misce vpravo navážít 10 g másla
- Uchopit kelímek kleštěmi a nad kahanem vytavit vodu (máslu přestane šumět, je čiré, na dně je mírně hnědá sedlina)
- Po vychladnutí dát kelímek na pravou misku vah
- Pohybem jezdc na horní stupnici upravit rovnováhu ručičky vah
- Odečíst z polohy jezdc na vahadle přímo % vody v máse

76

Členění mléka a mléčných výrobků na druhy, skupiny a podskupiny

Příloha č. 4 k vyhláše č. 397/2016 Sb. Mléko

Druh	Skupina
Mléko mlékárenské a koncentráty mléčného tuku	Máselný tuk nebo mléčný tuk bezvodý
	Máselný koncentrát
	Čerstvé máslo
	Máslo
Složený mléčný výrobek	Máslo stolní
	Mléčný rozstříelný tuk
	Máslo s přísadkou alkoholu

Kategorie mléčných tuků dle Nařízení (ES) č. 1308/2013

1. Mléko - obsah mléčného tuku nejméně 80 %, avšak méně než 90 %, obsah vody nejvýše 16 % a obsah mléčných netuků v sušině nejvýše 2 %
2. Třičtvrtětučné máslo – mléčného tuku nejméně 60 %, nejvýše 62 %
3. Polotučné máslo – mléčného tuku nejméně 39 %, nejvýše 41 %
4. Rozstříelný tuk – mléčného tuku méně než 39 %

## Výšetření sýrů a tvarohů

- Hodnocení obalu a značení
- Smyslové hodnocení
- Obsah tuku
- Obsah sušiny
- Výpočet obsahu tuku v sušině
- Titrační kyselost
- Aktivní kyselost
- Obsah chloridů
- Stopy železa v tvarohu



79

## Stanovení obsahu tuku sýrů acidobutyrometrickou metodou

Použit Eidam 30 % tvs

Postup:

- Na celofán (5 x 5 cm) navážit přesně 3,00 g strouhaného sýru (nebo 1,5 g sýru) a zabalit
- Vpravit navážený a zabalený sýr větším otvorem do van Gullikova butyrometru
- Uzavřít gumovou zátkou větší otvor butyrometru
- Válečkem odměřit 14 ml kyseliny sírové (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 62%), přelit ji menším otvorem do butyrometru a uzavřít zátkou
- Vložit butyrometr do vodní lázně 70 °C a občas promísit – vzorek se rozpouští
- Po rozpuštění vzorku přidat menším otvorem butyrometru 1 ml amylalkoholu
- Dolít do butyrometru kyselinou sírovou tak, aby hladina tekutin v butyrometru sahala do ¾ stupnice
- Uzavřít malý otvor butyrometru zátkou a promísit obsah butyrometru
- Temperovat butyrometr 5 minut ve vodní lázni o teplotě 70 °C
- Vložit butyrometr do odstředivky a 6 minut odstředovat
- Do odečtení temperovat butyrometr v lázni
- Odečíst % obsahu tuku v sýru

Při navážce 1,5 g sýru se odečtené množství tuku násobí 2 x

80



## Stanovení obsahu sušiny sýrů provozní metodou

Použit Eidam 30 % tvs

Postup:

- Použít v exsikátoru připravenou vysoušecí misku se skleněnou tyčinkou a s asi 30 g vysušeného písku
- Zvážit misku s pískem a skleněnou tyčinkou
- Navážit přesně asi 3–5 g vzorku sýru (nebo přesně 5,0000 g)
- Rozetřít vzorek s pískem, tyčinku ponechat ve vysoušecí misce
- Sušit v sušárně s odklopeným víčkem při 130 °C po dobu 30 min za občasného promíchávání
- Po vychladnutí v exsikátoru zvážit
- Vypočítat obsah sušiny (s) podle vzorce:  $s = \frac{b \cdot 100}{a}$  (%)

nebo při navážce přesně 5,000 g  $s = b \cdot 20$  (%)

a – navážka vzorku v g b – hmotnost vysušeného vzorku v g<sub>s1</sub>

## Výpočet obsahu tuku v sušině sýrů

Tuk v sušině (tvs) je definován jako podíl tuku v sušině sýra.

- Použít stanovené hodnoty obsahu tuku a sušiny stanovené v sýru Eidam 30 % tvs
- Vypočítat obsah tuku v sušině (tvs) v % podle vzorce:

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

t – obsah tuku (g/100 g) s – obsah sušiny(g/100 g)

82

## Stanovení titrační kyselosti sýrů a tvarohů podle Soxhlet–Henkela

Použit tvaroh

Postup:

- Připravit srovnávací roztok  
1 ml 5% roztoku CoSO<sub>4</sub>+ rozetřený sýr v destil.vodě, tj. 10 g sýra + 90 ml vody
- Navážit do třecí misky 10 g rozstrouhaného sýru či tvarohu
- Rozetřít v třecí misce navážený sýr či tvaroh s 90 ml destil. vody
- Přidat 2 ml etanolového roztoku fenolftaleinu (2 %)
- Titrovat z byrety roztokem NaOH (c=0,25 mol.l<sup>-1</sup>) do slabě růžového zbarvení trvajícího nejméně 30 sekund, které odpovídá srovnávacímu roztoku
- Vypočítat titrační kyselost (SH) sýru (tvarohu) podle vzorce:

$$SH = 10 \cdot a$$

a – počet ml odměrného roztoku NaOH (c=0,25 mol. l<sup>-1</sup>)

83

## Stanovení aktivní kyselosti sýrů a tvarohů

Použit tavený sýr

Stanovení aktivní kyselost (pH) lze provést vpichovou elektrodou nebo ve vodném výluhu pH metrem následujícím postupem.

- 10 g rozstrouhaného sýru, taveného sýru, tvarohu vytemperovat na pokojovou teplotu
- Rozetřít v třecí misce s 40 ml po částech přidávané destilované vody
- Přelit vzorek do malé kádinky
- Změřit pH metrem hodnotu pH s přesností na dvě desetinná místa



84



## Stanovení obsahu chloridu sodného v sýrech provozní metodou (Použití Eidam 30 % tvs)

Chlorid sodný (NaCl) obsažený v sýru se extrahuje vodou a následně stanoví titrací dusičnanem stříbrným.

Postup:

- Navážít na hliníkovou folii **10,00 g** nastrouhaného sýru, dát do **třecí misky**
- Rozetřít sýr v misce s **30 ml teplé vody**, nechat ustát
- Slít extrakt přes **filtrační papír** do **odměrné baňky na 200 ml**
- 2 x opakovat: tz. ještě 2 x rozetřít usazený sýr v misce vždy s **30 ml teplé vody**, nechat ustát, slít extrakt do odměrné baňky
- Doplnit odměrnou baňku po rysku **destilovanou vodou**
- Napipetovat z odměrné baňky **20 ml zředěného extraktu do titrační baňky**
- Přidat **1 ml indikátoru – roztoku  $K_2CrO_4$  (5%)**
- Titrovat z **byřety** roztokem  **$AgNO_3$  (0,1M)** do přechodu ze žlutého do **hnědočerveného** zbarvení
- Vypočítat obsah chloridu sodného (% NaCl) podle vzorce:  $NaCl = a \cdot 0,585$

a – spotřeba roztoku  $AgNO_3$  při titraci

**Hodnoty zjištěné vyšetřením porovnávat s údaji výrobce, k orientačnímu porovnání použít tabulku**

85

## Stanovení železa v tvarohu

Sloučeniny železa dávají s rhodanidem draselným červené zbarvení, jehož intenzita je závislá na množství železa.

Postup:

- **10 g vzorku tvarohu** rozetřít v **třecí misce**
  - Třít s **přídavkem 1 ml HCl**
  - Přidat **5 kapek  $H_2O_2$  (3%)**
  - Přidat **1 ml KSCN (10%)**
  - Po 15 minutách rozetřít vzorek na **podložní sklo** ve vrstvě asi 2 mm
  - Posuzovat vzniklé zbarvení vzorku
- |             |                    |             |             |
|-------------|--------------------|-------------|-------------|
| 0 % Fe      | bílé               | 0,0001 % Fe | pleťové     |
| 0,0002 % Fe | světle starorůžové | 0,0004 % Fe | starorůžové |
| 0,0007 % Fe | světle hnědé       | 0,0010 % Fe | hnědé       |

**Obsah železa nesmí být vyšší než 0,0002 %**

86

## Parametry sýrů

Skupina sýrů	Obsah sušiny (%)	Obsah tvs, tuku* (%)	Obsah NaCl (%)	Kyselost (pH*SH*)
Sýry s vysokodohřív. syřeninou	60–65	45–50	0,6–2,0	
Sýry s nízkodohřívanou syřeninou	45–60	30–60	1,5–3,0	
Sýry měkké (smetanové)	40	60	0,7–1,7	
Sýry měkké zrající	45	40	1,5–4,5	
Sýry s bílou plísní na povrchu	45 a více	45 a více	2,5–4,0	
Sýry s modrou plísní v hmotě	55 a více	50 a více	4,0–5,0	
Tavené sýry		20–65		5,6–6,2 ♦
Tvaroh	20–30			85–100*
Tvarohové dezerty	30–40	8–11*		
Tvarohové a smetanové krémy	30–40	40 a více		

87

Členění mléka a mléčných výrobků na druhy, skupiny a podskupiny – sýry  
Příloha č. 6 k Vyhlášce č. 397/2016 Sb.

Druh	Skupina	Podskupina
Sýr přírodní	Čerstvý	nezrající termizovaný
	Zrající	na povrchu s mazem na povrchu v celé hmotě
	z toho plísňový	s plísní na povrchu s plísní uvnitř hmoty dvouplísňový
		pařený sýr
Tavený	Tavený	roztrátený s lomem
	Tavený sýrový výrobek	
	Syrovátkový	

Členění mléka a mléčných výrobků na druhy, skupiny a podskupiny – sýry  
Příloha č. 6 k vyhlášce č. 397/2016 Sb.

**Klasifikace přírodních sýrů podle obsahu tuku v sušině**

Sýr	Tuk v sušině (v % hm. nejméně)
Vysokotučný	Nejméně 60,0
Plnotučný	Nejméně 45,0
Polotučný	Nejméně 25,0
Nízkotučný	Nejméně 10,0
Odtučněný	Méně než 10,0

**Klasifikace přírodních sýrů podle konzistence ve vztahu k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra**

Sýr	% VVTPH
Extra tvrdý	Nejvíce 47,0
Tvrdý	47,0 až 54,9
Polotvrdý	55,0 až 61,9
Poloměkky	62,0 až nejvíce 68,0
Měkky	Více než 68,0

## Stanovení syřitelnosti mléka

Zkouška slouží k posouzení vhodnosti mléka pro výrobu sýrů. Zjišťuje se čas potřebný ke koagulaci 100 ml syrového mléka, a to po přidavku syřidla o známé koagulační síle, při teplotě 35 °C. Doba srážení by měla být 5–7 minut.

Postup

- **100 ml mléka** v **Erlenmayerově baňce** vytemperovat na **35 °C** a udržovat při této teplotě po dobu pokusu ve vodní lázni
- Přidat pipetou **syřidlo Laktoflora 1:1000 ... 0,1 ml**
- Otáčet baňkou, stanovit čas okamžiku prvního srážení mléka.

Při použití syřidla o vyšší koagulační síle syřidlo zředit

90

## Stanovení jakosti sýřeny

### Postup:

- Mléko po zasýření ponechat v **termostatu** při **35 °C 1 hodinu**
- Hodnotit jakost sýřeny v baňce či po vyklopení na **Petriho misku** podle tabulky

Třída	Vzhled sýřeny (A) a syrovátky (B)
I	A: velmi dobrá, pevná, po vyklopení zachovává tvar. B: čirá, žlutozelená
II	A: dobrá, méně pevná, méně dobře zachovává tvar. B: bělavá, nazelenalá, nedokonalé vylučování
III	A: špatná, měkká, částečně nedrží pohromadě. B: mlékovitě bílá
IV	A: velmi špatná, vůbec nedrží pohromadě B: mlékovitě bílá
V	Nezřetelné nebo žádné vylučování kaseinu

## Výroba jogurtu a sýrů ve školní mlékařské dílně



### Technologický postup výroby jogurtu



- Pasterace **2 l syrového mléka** při teplotě **85 °C 5 min**
- Ochlazení zpasterovaného mléka na teplotu **40–43 °C**  
*nebo*  
**zahřátí 2 l UHT mléka na teplotu 40–43 °C**
- Navázení **160 g sušeného mléka**
- Rozmíchání sušeného mléka v části mléka o teplotě **30–40 °C**
- Smísení rozmíchaného sušeného mléka se zahřátým mlékem
- Přídavek **50 ml jogurtového zákysu** (nebo jogurtu) a promíchání
- Plnění směsi do kelímků, skleniček (lze také ponechat v nádobě)
- Inkubace v termostatu při teplotě **40 °C po dobu 4–5 hodin** (případně při nižší teplotě déle) do dosažení vhodné kyselosti (pH 4,2–4,5)
- Přemístění do chladírny s teplotou **2–8 °C**

### Technologický postup výroby čerstvého sýru



- Pasterace **2 l syrového mléka** při teplotě **75 °C 1 minutu**
- Vychlazení zpasterovaného mléka na teplotu **30–33 °C**  
*nebo*  
**Zahřátí 2 l pasterovaného konzumního mléka na 30–33 °C**
- Přídavek **10 ml 5% roztoku CaCl<sub>2</sub>**, nebo **0,4 g CaCl<sub>2</sub>**, rozpuštěného v části mléka
- Přídavek **80 ml smetanového zákysu** (nebo zakysané smetany), promíchání
- Přídavek **3–4 ml syřidlového preparátu**, promíchání
- Sýření mléka **45–60 minut při teplotě 30–33 °C**
- Krájení sýřeny na kostky **3x3x3 cm** (vznikne „zrno“)
- Ponechání pokrájené sýřeny v kldu **30 min při cca 32 °C**
- Plnění tvořítek sýrovým zrnem
- Odkapaní a prokysání sýrů v tvořítkách při teplotě **20–25 °C 16–20 hodin**
- Nasolení sýrů na povrchu, popřípadě ochucení kořením
- Přemístění sýrů do chladničky (**2–8 °C**)

### Technologický postup výroby másla v mlékařské dílně

- 250 ml smetany ke šlehání (min. 30 % tuku)**
- Temperování smetany na teplotu **cca 15 °C**
- Šlehání - stloukání - v **ručním či elektrickém metlovém šlehači** **či pístovém šlehači**
- do objevení se **máslného zrna**
- Slití podmáslí přes **sítko**
- Propláchnutí zrna **studenou vodou 3 x**
- Uhnětení hručky másla



- Zabalení, skladování v chladničce

IVA 2019 FVHE/2340/57

janstovab@vfu.cz; H18321@vfu.cz

Zdroj obrázků: autorské foto a google.cz