

Mendelova univerzita v Brně
Agromická fakulta
Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin



Mikrobiologie mléka a sýrů vyráběných na farmách
Bakalářské práce

Vedoucí práce:
Ing. Libor Kalhotka, Ph.D.

Vypracovala:
Kristýna Nedomová

Brno 2015

ZADÁNÍ

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: **Mikrobiologie mléka a sýrů vyráběných na farmách** vypracoval/a samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji Ing. Liboru Kalhotkovi Ph.D. za odborné vedení a cenné rady při tvorbě bakalářské práce i při mikrobiologických rozborech. Poděkování patří také celé mé rodině a přátelům, kteří mě podporovali po celou dobu studia.

OBSAH

1	Úvod	8
2	Cíl práce.....	9
3	Literární přehled	10
3.1	Mléko	10
3.1.1	Složení kravského mléka	10
3.2	Požadavky na syrové mléko.....	13
3.2.1	Celkový počet mikroorganismů (CPM).....	14
3.2.2	Koliformní bakterie.....	14
3.2.3	Psychrotrofní mikroorganismy	15
3.2.4	Termorezistentní mikroorganismy.....	15
3.2.5	Somatické buňky.....	16
3.2.6	Rezidua inhibičních látek.....	16
3.3	Zpracování sýrů na farmě.....	17
3.3.1	Právní předpisy pro faremní zpracování a přímý prodej	17
3.3.2	Získávání surovin pro výrobu sýrů	18
3.3.2.1	Dojení.....	18
3.3.2.2	Ošetření syrového mléka po nadojení.....	19
3.3.2.3	Sanitace (čištění a dezinfekce)	19
3.4	Výroba sýrů.....	20
3.5	Mikroorganismy ve výrobě sýrů	22
3.5.1	Prospěšné mikroorganismy.....	23
3.5.1.1	Zákysové bakterie	23
3.5.1.2	Nezákysové bakterie	23
3.5.1.3	Propionové bakterie	24
3.5.1.4	Mazové kultury	24

3.5.1.5	Ušlechtilé plísně	25
3.5.1.6	Kvasinky	25
3.6	Boj proti nežádoucím mikroorganismům.....	25
3.6.1	Mechanické prostředky.....	26
3.6.2	Fyzikální prostředky	26
3.6.3	Chemické prostředky	27
4	Materiál a metodika	28
4.1	Charakteristika materiálu	28
4.2	Příprava laboratorních pomůcek	30
4.3	Složení použitých živných půd	30
4.4	Úprava vzorku.....	32
4.5	Stanovení mikroorganismů	32
4.6	Vyjádření výsledků	33
5	Výsledky a diskuze.....	34
5.1	Mléko	34
5.2	Sýry	36
6	Závěr.....	41
7	Seznam použité literatury	42
8	Seznam obrázků.....	44
9	Seznam zkratk.....	45

ABSTRAKT

Bakalářská práce shrnuje poznatky o mikrobiologii mléka a sýrů vyráběných na farmách. Práce obsahuje teoretickou a praktickou část. Literární rešerže je zaměřena na jednotlivé mikroorganismy, které jsou důležité z technologického hlediska. Dále pak práce popisuje nežádoucí mikroorganismy a uvádí opatření v boji proti nim.

Experimentálně byly stanoveny vybrané skupiny mikroorganismů – celkový počet mikroorganismů, koliformní mikroorganismy, bakterie mléčného kysání, psychrotrofní mikroorganismy, enterokoky, plísňe a kvasinky ve 3 vzorcích mléka a 3 vzorcích sýrů.

Klíčová slova: mléko, mikroorganismy, sýr, bakterie

ABSTRACT

Bachelor thesis summarizes the findings of the microbiology of milk and cheese produced on farms. The work includes theoretical and practical part. Literature review is focused on particular microorganisms, which are important from a technological point of view. Furthermore, the thesis describes the undesirable microorganisms and it presents the measures to fight with them.

Were determined experimentally selected groups of microorganisms – total number of microorganisms, coliform microorganisms, lactic acid bacteria, psychrotrophic microorganisms, enterococci, yeasts and fungi in the three samples of milk and in free samples of cheese.

Keywords: milk, microorganisms, cheese, bacteria

1 ÚVOD

Mléko představuje součást potravy člověka již několik tisíc let. Mléko a mléčné výrobky konzumují každý den milióny lidí na celém světě. Spotřeba mléka a mléčných výrobků ve světě neustále roste a to i v období ekonomické krize.

Mléko je nenahraditelnou potravinou, protože obsahuje látky v příznivém poměru pro výživu lidí. Největší význam mléka z nutričního hlediska spočívá především ve velmi dobře využitelném zdroji vápníku. Dále mléko obsahuje plnohodnotné bílkoviny, lehce stravitelný mléčný tuk, vitamin A, D a vitaminy skupiny B. Z tohoto důvodu je mléko považováno za součást zdravé výživy pro všechny věkové kategorie. U nás se pro lidskou výživu nejvíce používá kravské mléko. Kozí a ovčí mléko slouží hlavně pro výrobu mléčných speciálních výrobků.

Sýry jsou důležitým zdrojem bílkovin pro náš organismus. Obsahují všechny esenciální aminokyseliny, hlavně lysin, který chybí u rostlinných bílkovin (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013). Sýry mají vysoký obsah vápníku, který je důležitý pro růst a zdraví kostí a zubů. Laktóza je v sýrech obsažena v malém množství, takže sýry mohou konzumovat i lidé s laktózovou intolerancí.

Sýr a jeho výroba jsou spojeny s lidskými dějinami. Sýr se vyrábí z mléka, a to od okamžiku, kdy člověk začal chovat první dobytek. Výroba sýrů patří k náročným mlékárenským technologiím, kdy složky mléka podléhají řadě fyzikálně – chemických a biologických změn. Mléko je dobrým prostředím pro růst mikroorganismů, protože obsahuje hodně vody a živin. Musíme dbát na to, aby hygiena získávání syrového mléka byla správná (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013).

2 CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce na téma „Mikrobiologie mléka a sýrů vyráběných na farmách“ je prostudovat odbornou literaturu o dané problematice. Charakterizovat mikroorganismy důležité z technologického hlediska a mikrobiální kontaminanty a patogeny. Dále popsat opatření v boji proti nežádoucím mikroorganismům.

Součástí práce je i praktická část. Cílem je stanovit významné skupiny mikroorganismů ve vzorcích mléka a sýrů.

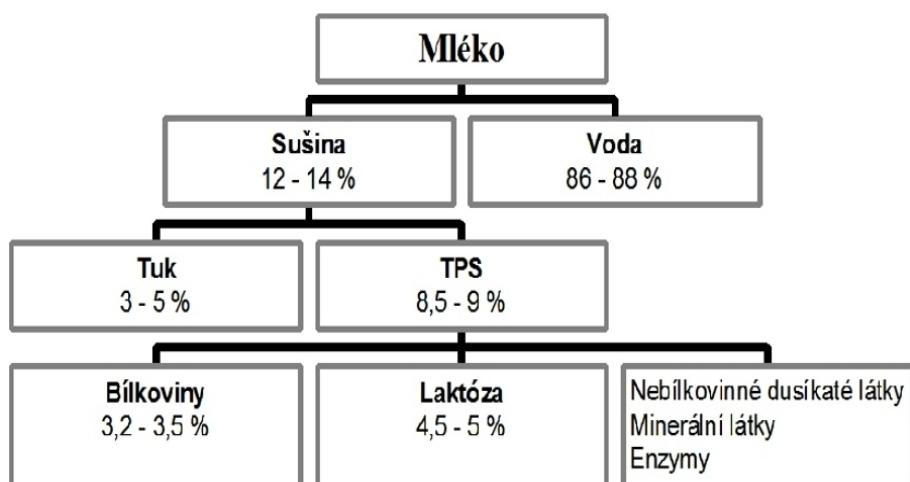
3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Mléko

Mléko je sekret mléčné žlázy samic savců určené k výživě mláďat. Mláďata z mleziva získávají látky, které jsou potřebné pro upevnění jejich imunity (GAJDŮŠEK, 2003). Podle rozdílů ve složení mléka se v průběhu laktace rozlišují mléka nezralá (mlezivo) a zralá. Mléko nezralé, které je vylučováno několik dní po porodu, je husté konzistence a nažloutlé barvy. Mléko zralé, tvořené v průběhu dalších fází laktace, je vhodné pro lidskou výživu. Toto mléko je zpracováváno na mléčné výrobky. (PAVELKA, 1996).

3.1.1 Složení kravského mléka

Mléko je dobře vyvážená potravina z pohledu všech tří hlavních složek (bílkoviny, lipidy a sacharidy) a navíc má adekvátní obsah minerálních látek, proto ho řadíme mezi vysoce hodnotné složky potravy (SAMKOVÁ, 2012). Látky obsažené v mléce jsou v různém stupni disperze. Mléčný cukr laktóza a převážná část minerálních látek tvoří pravé roztoky, bílkoviny jsou ve formě koloidní a tuk je ve formě tukových globulí. Mléko se skládá z vody, sušiny a plynů (GAJDŮŠEK, 2003). Přehled o základním složení kravského mléka je uveden na obr. č. 1.

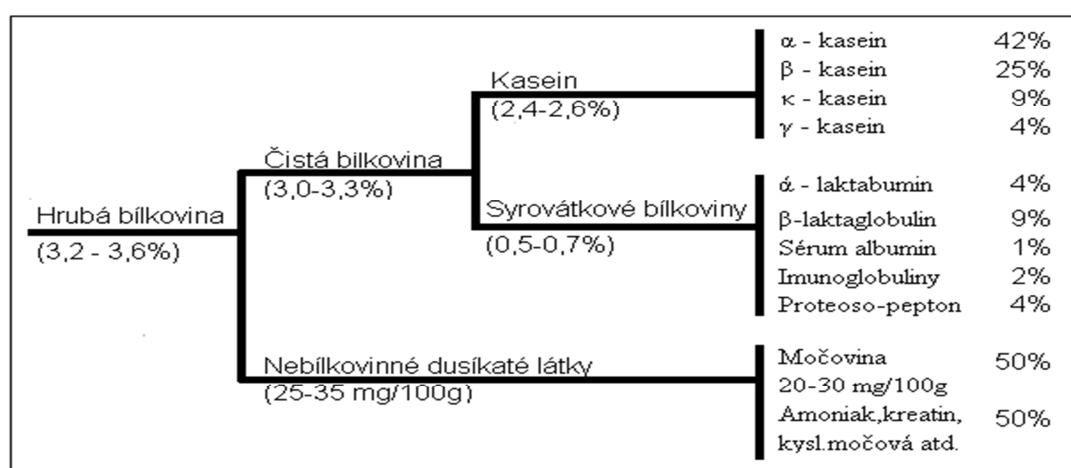


Obr. č. 1: Složení kravského mléka (ŠUSTOVÁ, 2010)

Voda je nejvíce v mléce obsažena jako voda volná (86 – 88 %), ve které jsou rozpuštěny soli, laktóza a vitaminy. Dále se v mléce vyskytuje voda vázaná na koloidy, která je na povrchu proteinových micel a voda vázaná chemicky, která představuje krystalickou vodu (ŠUSTOVÁ, 2010).

Sušina je tvořena bílkovinami, lipidy, sacharidy, minerálními látkami a biokatalyzátory.

Dusíkaté látky tvoří nejkompexnější složku mléka. Obsah dusíkatých látek je uveden na obr. č. 2. Čisté bílkoviny společně s nebílkovinnými dusíkatými látkami se označují jako hrubé nebo celkové bílkoviny. Hlavními složkami čistých bílkovin jsou kaseiny a syrovátkové bílkoviny (SAMKOVÁ, 2012).



Obr. č. 2: Obsah dusíkatých látek (SAMKOVÁ, 2012)

Kasein je hlavní bílkovinou mléka. Základními frakcemi kaseinu jsou α , β a κ -kasein. Podle obsahu kaseinu můžeme rozdělit mléka na kaseinová, která obsahují více než 75 % kaseinu z celkových bílkovin a albuminová, obsahující méně než 75 % kaseinu z celkových bílkovin. Sýrovátkové bílkoviny zůstávají v roztoku po vysrážení kaseinu syřidlem nebo kyselinou. Představují 20 % z čistých bílkovin mléka. Největší podíl ze sýrovátkových bílkovin představuje β -laktoglobulin, který tvoří více než 50 % sýrovátkových bílkovin a dále pak α -laktalbumin (GAJDŮŠEK, 2003). Z celkového obsahu dusíku v mléce se v průměru kolem 5 % nachází ve formě nebílkovinného dusíku. Největší podíl tvoří močovina, dále volné aminokyseliny, amoniak, kyselina močová a další (ŠUSTOVÁ, 2010).

Lipidy mléka představují energeticky nejbohatší složku mléka (GAJDŮŠEK, 2003). Jsou zdrojem esenciálních mastných kyselin linolové a linolenové, lipofilních vitaminů a cholesterolu. Hlavní složku mléčného tuku tvoří homolipidy – estery glycerolu a mastných kyselin, což jsou monoacylglyceroly, diacylglyceroly a triacylglyceroly. Další část tuku tvoří heterolipidy, kam patří např. fosfolipidy, kde kromě glycerolu a mastných kyselin je navázaná i kyselina fosforečná a doprovodné látky, kam se řadí steroidy, kde je nejrozšířenější cholesterol, karotenoidy a vitaminy rozpustné v tucích (SAMKOVÁ, 2012). Mléčný tuk se vyskytuje ve formě tukových kuliček, které jsou obaleny membránou skládající se z komplexu fosfolipidy – bílkoviny. V mléčných fosfolipidech je nejvíce zastoupen hlavně fosfatidylcholin, fosfatidylethanolamin, sfingomyelin (GAJDŮŠEK, 2003).

Hlavním zástupcem **sacharidů** je disacharid laktóza, složený z monosacharidů glukózy a galaktózy. Laktóza je rozpuštěna v přítomné vodě a dodává mléku nasládlou chuť (GAJDŮŠEK, 2003). Vedle laktózy jsou v mléce v malém množství obsaženy i další sacharidy, např.minosacharidy (D-glukosamin, D-galaktosamin), estery sacharidů s kyselinou octovou (N-acetyl-D-glukosamin, N-acetyl-D-galaktosamin, N-acetylneuraminová kyselina) a fosforečné estery monosacharidů (ŠUSTOVÁ, 2010).

Další významnou složkou mléka jsou **minerální látky**. Přehled nejdůležitějších minerálních látek je uveden v tab. č. 1. Z makroprvků je mléko významným zdrojem především vápníku, fosforu, draslíku a chloridů. Z mikroprvků je to hořčík a zinek (SAMKOVÁ, 2012). Minerální látky jsou v mléce přítomny v různých formách. Mohou být rozpuštěny ve vodě, v koloidní formě nebo jsou vázány na organické části mléka. Vápník je v mléce přítomen v roztoku (asi 30 % z celkového obsahu), dále ve formě koloidního kalcium-fosfátu (asi 70 %) a vázán na kaseinový komplex (asi 20 %) (GAJDŮŠEK, 2003).

Tab. č. 1: Obsah minerálních látek v mléce (GAJDŮŠEK, 2006)

Prvek	Obsah v mléce [g/l]
Ca	1,21
P	0,95
K	1,50
Na	0,47
Cl	1,03
Mg	0,12
S	0,32

Mléko obsahuje důležité látky označované jako **biokatalyzátory**. Radíme sem vitaminy, hormony a enzymy. Mléko obsahuje vitaminy rozpustné v tucích – A, D, E, K a vitaminy rozpustné ve vodě – zejména B₁, B₂ a C. Nejvýznamnějším lipofilním vitamínem je vitamin A, z hydrofilních je to vitamin B₂. V mléce je velké množství enzymů. Mléko obsahuje nativní enzymy, což jsou přirozeně vyskytující se v mléce a mikrobiální enzymy, které se tvoří mikrobiální činností. Hormony jsou v mléce přítomny v malých množstvích. V mléce mají význam především hormony progesteron, prolaktin a oxytocin (SAMKOVÁ, 2012).

3.2 Požadavky na syrové mléko

Mléko je dobrým prostředím pro růst mikroorganismů, protože obsahuje hodně vody a živin. Musíme dbát na to, aby hygiena získávání syrového mléka byla správná. Pro získání zdravotně nezávadného mléka je nutné dodržovat správnou hygienu ustájení, krmení a dojení. Při technologii ustájení musíme dbát na to, aby těla dojnic byla čistá. V technologii krmení je důležité, aby se krmiva nedávala do žlabu během dojení. Dále pak musíme mít dobrý sanitační systém dojícího zařízení, jinak by se nám mohly v mléce objevit rezidua inhibičních látek (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013).

Pro potravinářské účely se používá pouze vhodné mléko. Syrové mléko musí pocházet od zvířat, která nevykazují žádné příznaky onemocnění přenosné na člověka.

Zvířata musí pocházet z chovu prostého brucelózy a tuberkulózy. Mléko nesmí být získáváno od zvířat, která mají infekci pohlavního ústrojí doprovázenou výtokem, horečkou nebo zánětem vemene. Dále nesmí být mléko získáváno od zvířat, kterým byly podány nepovolené látky (NAVRÁTILOVÁ, 2012).

3.2.1 Celkový počet mikroorganismů (CPM)

Tato hodnota je celkovým hygienickým ukazatelem mléka. Pod tímto pojmem se rozumí všechny mezofilní aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy, které rostou za podmínek metody kultivace při 30 °C po dobu 72 hodin (SAMKOVÁ, 2012).

Stanovení CPM slouží ke sledování hygieny získávání a ošetření mléka. Celkový počet mikroorganismů je většinou ovlivněn infikovanou mléčnou žlázou, kontaminací struků vemene nebo špatnou technologií dojení (GÖRNER, VALÍK, 2004). Aby byl celkový počet mikroorganismů co nejnižší, musíme dodržovat správnou technologii dojení a sanitaci dojících zařízení (DOLEŽAL, 2000).

Podle Nařízení EP a Rady (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, je limit CPM pro syrové kravské mléko $\leq 100\,000$ KTJ (kolonie tvořící jednotky) v 1 ml mléka. Limit CPM pro syrové kozí a ovčí mléko je $\leq 1\,500\,000$ KTJ v 1 ml mléka. Pokud je však kozí a ovčí mléko určené k výrobě produktů, jehož postup je bez tepelné úpravy, limit je $\leq 500\,000$ KTJ v 1 ml mléka. CPM se stanovuje minimálně 2krát měsíčně a výsledek se uvádí jako klouzavý geometrický průměr za poslední dva měsíce (JANŠTOVÁ, 2012).

3.2.2 Koliformní bakterie

Do koliformních bakterií se řadí fakultativně anaerobní mikroorganismy, které se stanovují kultivací vzorku na živné půdě s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a laktózou při 30 °C nebo 37 °C po dobu 24 hodin. Patří sem rody *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter* a *Escherichia* se zástupcem *Escherichia coli*, která se vyskytuje ve střevním traktu zvířat (SAMKOVÁ, 2012). Fermentují laktózu za vzniku kyselin, plynů a aldehydů (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Tyto bakterie jsou indikátorem fekálního znečištění a nedostatečné sanitace. Nejčastějšími zdroji jsou výkaly, půda, prach, kontaminované zařízení používané k dojení. Koliformní bakterie mohou indikovat i přítomnost střevních patogenů.

V mléku je určité množství koliformních bakterií přirozenou součástí mikroflóry. Inaktivují se pasterací. Koliformní bakterie mohou indikovat i přítomnost střevních patogenů (NAVRÁTILOVÁ, 2012).

ČSN 57 0529 uvádí, že nejvyšší limit pro syrové mléko je $\leq 1\,000$ KTJ v 1 ml mléka.

3.2.3 Psychrotrofní mikroorganismy

Jsou to mezofilní bakterie, které rostou při teplotě 20 – 30 °C, ale jsou schopné růst i při teplotě 1 – 7 °C. Tyto bakterie rostou pomaleji, ale účinně rozkládají složky mléka. Mají totiž velké proteolytické a lipolytické schopnosti (GAJDŮŠEK, 2003). Patří sem rody *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Aeromonas* a *Bacillus*. Psychrotrofní mikroorganismy, označované také jako chladničkové mikroorganismy, se stanovují kultivací vzorku při 21 °C po dobu 25 hodin. (SAMKOVÁ, 2012).

Vyskytují se hlavně ve vodě, v úchovných nádržích a potrubí. Do mléka se mohou dostat i z kontaminovaných utěrek, které jsou užívány k čištění vemene.

Podle ČSN 57 0529 je nejvyšší přípustná hranice pro syrové mléko $\leq 50\,000$ KTJ v 1 ml mléka.

3.2.4 Termorezistentní mikroorganismy

Jsou to mikroorganismy, které přežívají pasteraci mléka. Kromě sporotvorných bakterií, jejichž spory pasteraci přežívají, sem patří i některé nesporeotvorné bakterie. Jedná se především o rod *Micrococcus*, *Microbacterium* a *Enterococcus*. Tyto bakterie mohou způsobit kažení mléčných výrobků, např. nafouknutí obalu u UHT mléka (NAVRÁTILOVÁ, 2012). ČSN 57 0529 uvádí, že limit pro syrové kravské mléko je $\leq 2\,000$ KTJ v 1 ml mléka.

Mezi sporulující aerobní mikroorganismy řadíme rod *Bacillus*, kde nejvýznamnějším zástupcem je *Bacillus cereus* (NAVRÁTILOVÁ, 2012). Větší výskyt bývá v tepelně upravených potravinách, které jsou po tepelné úpravě skladovány při pokojových teplotách po delší dobu (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Mezi sporulující anaerobní mikroorganismy řadíme rod *Clostridium*. Nejvýznamnějšími druhy jsou *Clostridium tyrobutyricum* a *Clostridium butyricum*, což

jsou bakterie máselného kvašení a způsobují pozdní duření sýrů (NAVRÁTILOVÁ, 2012). Stanovení počtu sporotvorných mikroorganismů slouží jako doplňkový ukazatel jakosti mléka a v 0,1 ml mléka by měl být počet těchto mikroorganismů negativní (ČSN 57 0529).

3.2.5 Somatické buňky

Počet somatických buněk (SB) je odrazem zdravotního stavu mléčné žlázy a slouží jako jeden z jakostních znaků při výkupu mléka. Počet somatických buněk se zvyšuje s výskytem zánětu mléčné žlázy (NAVRÁTILOVÁ, 2012).

Somatické buňky pocházejí z krve nebo z epitelu mléčné žlázy. Největší zastoupení (více než 95 %) tvoří bílé krvinky (leukocyty). Ale i v mléce od zdravých dojníc nalezneme malý počet somatických buněk, protože somatické buňky jsou součástí obranného systému mléčné žlázy (GAJDŮŠEK, 2003).

Podle Nařízení EP a Rady (ES) č. 853/2004 byl stanoven limit pro syrové kravské mléko na hodnotu $\leq 400\,000$ KTJ v 1 ml mléka a výsledek se uvádí jako klouzavý geometrický průměr za poslední tři měsíce. Pro kozí a ovčí mléko nejsou stanoveny limitní hodnoty.

3.2.6 Rezidua inhibičních látek

ČSN 57 0529 uvádí, že mléko nesmí obsahovat rezidua inhibičních látek (RIL). Je to z toho důvodu, že RIL ovlivňují výrobu mléčných výrobků, kde se používají čisté mlékařské kultury. Inhibiční látky buď znesnadňují, nebo vůbec neumožňují zpracování mléka na mléčné výrobky, např. kysané mléčné výrobky, sýry a tvarohy. Hlavními zdroji RIL jsou antibiotika, dezinfekční a čisticí prostředky.

Aby se RIL v mléce nevyskytovaly, musíme dodržovat ochrannou lhůtu léčiva, což je doba, která musí uplynout mezi poslední aplikací léčiva a dojením mléka. Délka ochranné lhůty může být od několika dnů až po několik týdnů. Záleží na druhu léčiva a zvířete. Dále pak musíme důsledně oplachovat dojící zařízení po sanitaci (SAMKOVÁ, 2012).

3.3 Zpracování sýrů na farmě

Čím dál více chovatelů má zájem o zpracování vlastní produkce a prodej ze dvora. Počet registrovaných faremních mlékáren byl významný v roce 2003. Ale existují i neregistrované mlékárny, které odrazují požadavky na vybavení. Toto vybavení je podobné velkým podnikům a tím pádem hodně drahé (FILIPOVÁ, 2008). Při dodržování technologie a správných hygienických pravidel dosáhneme i v jednoduše vybavených prostorách dobré kvality a zdravotní nezávadnosti mléka (DRAGOUNOVÁ, TOUŠOVÁ, 2009).

Spotřebitelé mají zájem o místní speciality. Chtějí chutné, zdravé a čerstvé potraviny. V posledních letech lidé často hledají výrobky s označením BIO nebo žádají poctivé potraviny. Někteří lidé oceňují i osobní kontakt s farmářem a možnost prohlédnout si farmu a prostory, kde jsou potraviny zpracovávány (FILIPOVÁ, 2008).

3.3.1 Právní předpisy pro faremní zpracování a přímý prodej

Provozovatelé farem se musí řídit pravidly pro zacházení s potravinami. Pravidla určuje hygienický balíček, který je platný v EU od 1. 1. 2006.

- Nařízení EP a Rady (ES) č. 852/2004, o hygieně potravin, které zavádí obecná pravidla pro provozovatele potravinářských podniků
- Nařízení EP a Rady (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu
- Nařízení EP a Rady (ES) č. 854/2004, kterým se stanoví zvláštní pravidla pro organizaci úředních kontrol produktů živočišného původu určených k lidské spotřebě
- Nařízení EP a Rady (ES) č. 882/2004/, o úředních kontrolách za účelem ověření dodržování právních předpisů týkajících se krmiv a potravin a pravidel o zdraví zvířat a dobrých životních podmínkách zvířat

Nařízení stanovují obecné podmínky a jsou použitelná i pro menší podniky.

Mezi související nařízení patří:

- Nařízení EP a Rady (ES) č. 178/2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin – vztahuje se na všechny fáze výroby, zpracování a distribuce potravin a krmiv

- Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005, o mikrobiologických kritériích pro potraviny
- Nařízení Komise (ES) č. 2074/2005, prováděcí nařízení k hygienickému balíčku
- Nařízení Komise (ES) č. 1441/2007 ze dne 5. prosince 2007, kterým se mění nařízení (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny

Evropské nařízení pro podmínky ČR dále upravují české předpisy:

- Zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon),
- Vyhláška č. 289/2007 Sb., o veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty, které nejsou upraveny přímo použitelnými předpisy Evropských společenství aktualizovaná vyhláškou č. 61/2009 Sb., kterou se mění vyhláška č. 289/2007 Sb. (FILIPOVÁ, 2008; ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013).

3.3.2 Získávání surovin pro výrobu sýrů

Syrové mléko musí pocházet od dojnic z chovů prostých tuberkulózy a brucelózy a dalších onemocnění přenosných na lidi. Dojnice musí být zdravé, nesmí mít poraněnou mléčnou žlázu. Dojnicím musíme podávat vhodné krmivo. Po nadojení musí být mléko zchlazeno (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013).

Základní surovinou pro výrobu sýrů je syrové mléko, které se po nadojení ošetřuje. K výrobě jsou třeba čisté mlékařské kultury, syřidla (mikrobiální, rostlinné, živočišné), chemické látky (dusičnan draselný a chlorid vápenatý). Tyto suroviny koupíme ve specializovaných prodejnách (DRAGOUNOVÁ, TOUŠOVÁ, 2009).

3.3.2.1 Dojení

Během dojení se nesmí vykonávat nic, co by mohlo mít nepříznivý účinek na mléko, např. podestýlání nebo krmení. Dojení probíhá většinou dvakrát denně ve stejnou dobu (SAMKOVÁ, 2012). Dodržování pravidelného pracovního režimu má dobrý vliv na spouštění mléka. Reflex spouštění mléka je vyvolán i podmíněnými reflexy. Dojení a přípravné práce související s dojením se musí dodržovat jako souhrn reflexního řetězce (NAVRÁTILOVÁ, 2012).

Dojí se většinou v dojírnách ručně nebo strojově do konví nebo do potrubí (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013). Důležitým požadavkem je, aby dojírna byla co nejbližší

stáji, kde jsou zvířata ustájena a aby se nekřížovaly cesty vydojených zvířat s těmi přicházejícími do dojírny (KOVALČIK, KOVALČIKOVÁ, 1976).

Dojící zařízení a prostory pro skladování a chlazení mléka musí být umístěny tak, aby nedošlo ke kontaminaci mléka. Skladovací prostory musí být odděleny od prostorů, kde jsou zvířata. Povrch zařízení musí být snadno čistitelný a musí být udržován v čistém stavu.

Osoba, která provádí dojení, musí mít čistý oděv a musí být seznámena s hygienou dojení. V blízkosti místa dojení musí být k dispozici umyvadla na umytí rukou (JANŠTOVÁ, 2012).

3.3.2.2 Ošetření syrového mléka po nadojení

Čištění

Úkolem čištění je odstranit zbytky krmiva, slámy nebo srsti. Čištění probíhá filtrací nebo cezením. Filtrace mléka se provádí přes mléčné filtry, které musíme pravidelně vyměňovat (SAMKOVÁ, 2012).

Cezení se využívá při čištění menších objemů mléka na farmách. Cezení probíhá přes plachetky, které se využívají většinou jednorázově (JANŠTOVÁ, 2012).

Chlazení a skladování

Mléko musí být zchlazeno, co nejdříve. Jestliže je mléko sváženo každý den, musí být ihned zchlazeno na teplotu 4 – 8 °C. V případě obdenního svozu se musí mléko zchladit na teplotu 4 – 6 °C. Pokud je mléko zpracováno do 2 hodin po nadojení, tak se podle ČSN 46 6104 neposuzuje teplota (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013).

Prostorami pro chlazení jsou samostatné místnosti oddělené od dojírny a stájí. Chlazení probíhá v mléčnici, která je vybavená úchovnými nádržemi na mléko. V mléčnici musí být dostačující větrání a osvětlení a musí být oddělena od všech zdrojů kontaminace (JANŠTOVÁ, 2012). Důležité je, aby se mléko z úchovných nádrží zpracovalo, co nejdříve (SAMKOVÁ, 2012).

3.3.2.3 Sanitace (čištění a dezinfekce)

Hlavním zdrojem kontaminace syrového mléka je nedokonalá hygiena dojícího zařízení. Sanitace je velmi důležitou součástí výroby potravin a ovlivňuje kvalitu hotových výrobků. Musíme provádět sanitaci všech částí dojícího zařízení (NAVRÁTILOVÁ, 2012).

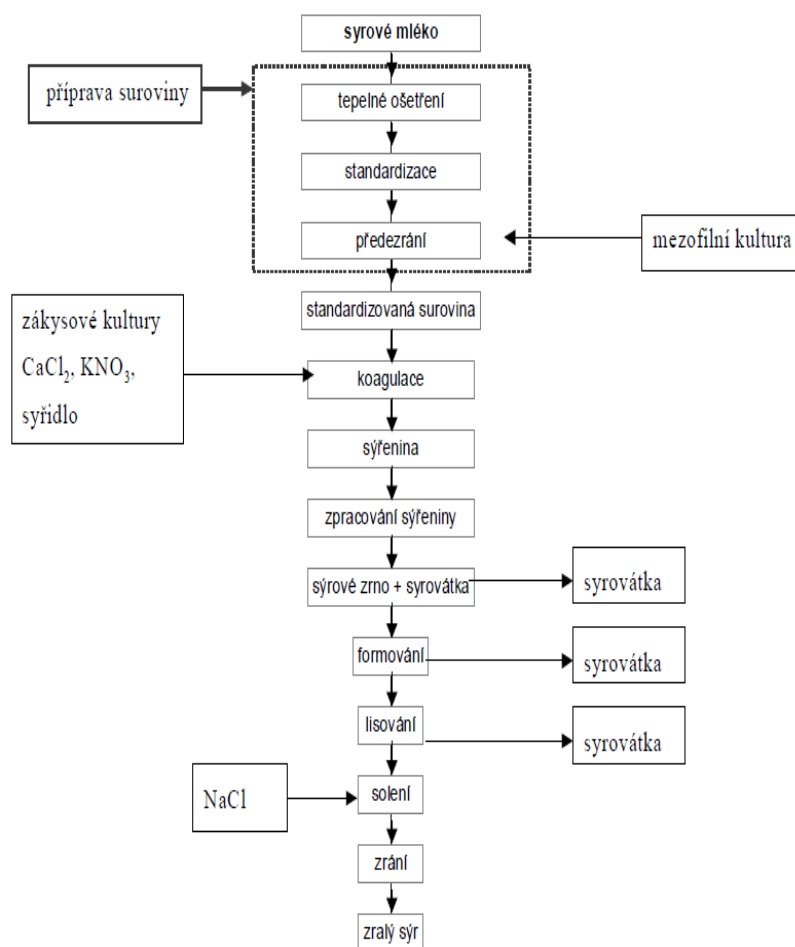
Sanitační přípravky máme buď jednoduché (obsahují čistící nebo dezinfekční složku) nebo kombinované (obsahují čistící i dezinfekční složku). Zásadité přípravky, např. hydroxid sodný, odstraňují tuky a bílkoviny. Kyselé přípravky, jako je např. kyselina dusičná nebo kyselina chlorovodíková, odstraňují mléčný nebo vodní kámen (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013).

Účinek prostředku závisí na jeho koncentraci, teplotě, době působení a znečištění povrchu (SAMKOVÁ, 2012).

3.4 Výroba sýrů

Sýr je mléčný výrobek vyrobený vysrážením mléčné bílkoviny z mléka působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel, prokysáním a oddělením podílu syrovátky (Vyhláška č. 77/2003 Sb.).

Jednotlivé kroky jsou znázorněny na obr. č. 3. Technologie výroby různých druhů sýrů se liší.



Obr. č. 3: Výroba sýrů (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013)

Prvním krokem je **příprava suroviny**. Sýry se vyrábějí z pasterovaného mléka. Bez tepelného ošetření se vyrábí sýry s dlouhou dobou zrání. Mléko pasterujeme při teplotě 72 °C po dobu 20 sekund, u eidamské cihly 74 – 78 °C (ŠUSTOVÁ, 2008). Při šetrné pasteraci nedochází k denaturaci syrovátkových bílkovin a netvoří komplex s kaseiny, tím zůstává κ -kasein přístupný pro působení syřidla. Po pasteraci následuje standardizace mléčného tuku podle výsledného typu sýra a obsahu tuku v sušině (JANŠTOVÁ, 2012). Standardizace se provádí buď přidavkem smetany, nebo odstředěného mléka. Dále pak přidáváme vápenatou sůl, mléčnan vápenatý nebo chlorid vápenatý, z důvodu zlepšení syřitelnosti mléka. Další látkou, přidávanou zejména u výroby tvrdých sýrů, je dusičnan draselný, který zabrání pozdnímu duření sýrů (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013). Poté přidáme do mléka čisté mlékařské kultury, které jsou nezbytnou podmínkou pro správný průběh technologického procesu (LAW, TAMIME, 2010).

Dalším krokem je **sýření**. Mléko se sýří na sýrařské vaně nebo na sýrařském kotli. Za stálého míchání přidáváme syřidlo, mléko promícháme a necháme v klidu. Sýření probíhá při teplotě 30 – 33 °C a je dokončeno za 40 – 60 minut (JANŠTOVÁ, 2012). Provádí se kyselým nebo sladkým srážením bílkovin. Kyselé srážení se používá při výrobě tvarohů a čerstvých sýrů. Kaseinové bílkoviny se srážejí v izoelektrickém bodu kaseinu, což je pH 4,6. Kyselé srážení probíhá buď okyselením mléka kyselinou (např. citronovou) nebo mléčným kvašením, při kterém vzniká z laktózy kyselina mléčná.

Sladké srážení se používá při výrobě tvrdých a polotvrdých sýrů a provádí se přidavkem syřidla do mléka. Toto srážení má 3 fáze. V primární fázi dochází ke štěpení κ -kaseinu na para- κ -kasein a glykomakropeptid. V sekundární fázi vzniká z kaseinových frakcí trojrozměrný gel. Terciární fáze nastává až při vlastním zrání sýrů (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013).

Po sýření následuje **zpracování sýřeniny**, které zahrnuje řadu operací, z nichž nejdůležitější je rozkrájení sýřeniny, vytvoření sýrařského zrna a odkap syrovátky (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013). Sýřenina se krájí na různou velikost zrna podle druhu vyráběného sýra a výsledné sušiny. Krájení se provádí soustavou plochých nebo strunných nožů. Platí, že čím je menší velikost zrna, tím více syrovátky se vyloučí a tím je vyšší sušina (LAW, TAMIME, 2010).

Lisováním se sýřenina zbavuje většiny syrovátky. Pro formování se používají kovová nebo plastová tvořítka různého tvaru a velikosti. Do tvořítka je sýřenina

nalévána společně se syrovátkou nebo po odtoku syrovátky (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013).

Při **solení** dochází ke zpevnění povrchu sýra, odtoku dalšího množství syrovátky a úpravě chuti sýrů (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013). Většina sýrů se solí v solné lázni, kdy do lázně uniká ze sýrů syrovátka. Dalším způsobem je solení na sucho, kdy se sůl roztírá po povrchu sýrů a solení do těsta, při kterém se sůl přidává do rozkrájené sýřeniny před formováním (JANŠTOVÁ, 2012).

Zrání je fáze, která pomáhá utvářet konečný vzhled, konzistenci, vůni a chuť. Zrání neprobíhá u všech sýrů, např. u tvarohu a čerstvého sýru se po vyjmutí ze solné lázně a odkapání přechází ihned k balení. Jsou sýry, které se balí i se syrovátkou. To jsou mozzarella nebo feta (ŠUSTOVÁ, 2008).

Zrání můžeme rozdělit na zrání předběžné a vlastní. Při předběžném zrání vzniká kyselina mléčná z laktózy a probíhá částečný rozklad bílkovin. Ve vlastním zrání probíhá další rozklad bílkovin a rozklad tuků. Bílkoviny se postupně rozkládají až na aminokyseliny. Při nesprávném zrání mohou z aminokyselin vznikat nežádoucí látky, jako je amoniak, močovina nebo kyselina máselná (LAW, TAMIME, 2010; ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013).

3.5 Mikroorganismy ve výrobě sýrů

Mikroorganismy jsou součástí všech sýrů. Můžeme je rozdělit do dvou skupin. První skupinu tvoří mikroorganismy, které do nich záměrně přidáváme, a druhou skupinu tvoří nežádoucí mikroorganismy (LUKÁŠOVÁ, 2001). První skupina je důležitá z hlediska výrobního procesu, kdy se do mléka přidávají kultury mikroorganismů za účelem správného procesu zrání, tvorby typických chuťových látek a dalších vlastností, které jsou typické pro dané sýry. Musíme zvolit takovou kulturu, která zabezpečí optimální tempo a stupeň kyselosti v jednotlivých fázích výroby (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Druhouskupinou jsou nežádoucí mikroorganismy, které se do mléka dostávají při nedodržení hygienických pravidel (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013). Někteří zástupci mohou způsobovat nežádoucí vady sýrů. Další mohou být pro konzumenta sýrů patogenní, tzn. hlavním zdrojem alimentární infekce nebo intoxikace (JIČÍNSKÁ, HAVLOVÁ, 1995).

3.5.1 Prospěšné mikroorganismy

Zúčastňují se zrání sýrů a působí příznivě na chuť, vůni a další vlastnosti.

Můžeme je rozdělit na:

- zákysové bakterie mléčného kysání,
- nezákysové bakterie mléčného kysání,
- propionové bakterie,
- mazové kultury,
- ušlechtilé plísňe,
- kvasinky.

3.5.1.1 Zákysové bakterie

Patří sem bakterie mléčného kysání (BMK), které mají schopnost vyprodukovat v mléku při 30 – 37 °C za 6 hodin takové množství kyseliny mléčné, které sníží pH mléka z 6,8 na méně než 5,3 (GÖRNER, VALÍK, 2004). Přidání čistých mlékařských kultur má za úkol zajistit správný průběh výrobního procesu a dosažení požadované jakosti finálního výrobku (ŠUSTOVÁ, 2014). Zákysové kultury můžeme rozdělit podle druhu vyráběného sýra na mezofilní a termofilní (GAJDŮŠEK, 2003).

Mezofilní bakterie se uplatňují při zrání nízkodohříváných sýrů, zejména holandských typů sýru jako je eidam nebo gouda. Nejčastějšími složkami mezofilních kultur bakterií mléčného kysání jsou druhy rodů *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* a *Enterococcus*.

Termofilní bakterie se používají u sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou, jako je ementál nebo parmezán. Kultury tvoří *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *delbrueckii*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* a *Lactobacillus helveticus* (GÖRNER, VALÍK, 2004).

3.5.1.2 Nezákysové bakterie

Zvláštní skupinu BMK tvoří NSLAB (non-starter lactic acid bacteria = nestrartovací, nezákysové bakterie mléčného kysání), které se do sýra dostávají z jiných zdrojů než ze zákysových kultur. Mohou se vyskytovat jak v syrovém mléce, tak i v pasterovaném,

kde pocházejí ze strojního zařízení nebo to mohou být termorezistentní bakterie, které přežívají šetrnou pasteraci mléka.

Nezákysovými bakteriemi jsou mezofilní laktobacily a pediokoky. Nejčastěji byly izolovány druhy *Lactobacillus casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. curvatus*, *L. plantarum*, dále *Pediococcus acidilactici* a *P. pentosaceus* (ŠUSTOVÁ, 2008).

3.5.1.3 *Propionové bakterie*

Mezi nejčastěji používané druhy rodu *Propionibacterium* při výrobě sýrů patří *P. freudenreichii* subsp. *Freudenreichii* a *P. freudenreichii* subsp. *shermanii*, které za anaerobních podmínek fermentují mléčnany, ze kterých vzniká kyselina propionová, kyselina octová, oxid uhličitý a voda. Hydrolýzou peptidů se tvoří prolin, který s vápenatou solí kyseliny propionové dává ementálskému sýru typickou nasládlou chuť (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Propionibacterium ssp. se nachází v syrovém mléce, ale nejsou přítomny v dostatečném množství, aby produkovaly odpovídající kysání. Proto se často přidává spolu s mléčnou kulturou (GÖRNER, VALÍK, 2004).

3.5.1.4 *Mazové kultury*

Mazová kultura je složená z proteolytických, halofilních bakterií *Brevibacterium linens* a kvasinek, např. *Geotrichum candidum*, *Debaryomyces hansenii*. Mohou se očkovat dvěma způsoby (ŠUSTOVÁ, 2008).

První způsob spočívá v omývání 5% roztokem NaCl. Tím se na povrchu vytváří halofilní prostředí. Mazové bakterie rostou společně s kvasinkami ze začátku v koloniích, ale následným omýváním slanou vodou se roztírají po celém povrchu sýra.

Druhým způsobem je sprejová aplikace mazové kultury, kdy se ve formě vodní suspenze rozstříkuje (GÖRNER, VALÍK, 2004).

3.5.1.5 Ušlechtilé plísně

Z potravinářského hlediska se pod pojmem plísně rozumí mikroorganismy, které tvoří na potravinách povlak. Hlavní součástí plísni jsou plísně rodu *Penicillium* (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Mléko na výrobu sýrů s bílou plísní na povrchu se před sýřením očkuje plísňovými kulturami *Penicillium camemberti* a *P. caseicolum*. Pro sýry s modrou plísní v těstě se mléko očkuje plísňovou kulturou *P. roqueforti*.

Plíseň se očkuje ve formě suspenze jejich spór do mléka před jeho koagulací nebo se spóry zapravují do sýrového zrna. Sýry s modrou plísní se před zráním propichují, aby měla kultura *Penicillium roqueforti* potřebný kyslík ke svému růstu (ŠUSTOVÁ, 2008).

3.5.1.6 Kvasinky

Kvasinky jsou důležité pro sýry zrající od povrchu dovnitř. Jsou méně prozkoumanou složkou mikroflóry sýrů. Nejvýznamnější jsou kvasinky rodu *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, kvasinkové plísně *Geotrichum candidum*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*. Nejvýznamnější z nich jsou druhy *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Debaryomyces hansenii*, dále *Saccharomyces cerevisiae*, *Geotrichum candidum*, *Cryptococcus catenulata*, *Yarovia lipolytica* (ŠUSTOVÁ, 2008). Pomocí proteolytických a lipolytických enzymů vznikají nové látky, které difundují z povrchu do středu těsta. Tvoří se alkalické metabolity, čímž odkyselují povrch a poskytují tak vhodné prostředí pro rozmnožování kulturních plísni a bakterií (GÖRNER, VALÍK, 2004).

3.6 Boj proti nežádoucím mikroorganismům

Většina potravin je vhodným prostředím pro mikroorganismy, ať už při zpracování, skladování nebo distribuci. Potravinu nesmí obsahovat patogenní mikroorganismy, které by mohly ohrozit zdraví člověka.

Nejdůležitější je, abychom dodržovali přísná hygienická pravidla. Pracovníci musí mít čisté ruce a oděv a musí mít pokrývku hlavy. V každém potravinářském provozu jsou umyvadla s teplou vodou, mýdlem a ručníky.

Proti kontaminaci potravin se nejčastěji používají mechanické, fyzikální a chemické prostředky nebo jejich kombinace (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

3.6.1 Mechanické prostředky

Pod mechanickými prostředky rozumíme odstraňování prachu, nečistot a zbytků organického materiálu z veškerého zařízení, stěn a podlah. Důležité je odstraňování zbytků z méně přístupných míst, jako jsou např. ohyby potrubí nebo rohy zařízení, kde by se mikroorganismy množily a přenášely na jiná místa výroby. Tyto prostředky se kombinují s fyzikálními a chemickými prostředky. Spolu s horkou vodou se používají detergenční prostředky, které mají vysokou smáčivost. Detergenční prostředky neboli tenzidy odstraňují zbytky a ničí mikroorganismy.

Účinným mechanickým prostředkem je ventilace výrobních místností, kde odstraňuje prach nebo páru. Pára, která by ulpívala na stěnách, je dobrým prostředím pro rozvoj plísní. Ventilace se provádí klimatizací, díky které se mění v provozních prostorách znečištěný vzduch za čistý. Čistý vzduch je upravován na požadovanou teplotu a vlhkost (PAVELKA, 1996; ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

3.6.2 Fyzikální prostředky

Vysoká teplota je nejčastějším prostředkem v boji proti mikroorganismům. Používá se např. vlhké teplo při pasteraci do 100 °C nebo tlaková pára používaná při konzervaci potravin (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Dalším významným prostředkem je naopak působení nízké teploty – chlazení a mražení. Působením nízkých teplot nedojde vždy k usmrcení mikroorganismů. Při pomalém zmrazování se uvnitř mikrobiální buňky tvoří ledové krystaly, které buňky poškozují a usmrcují. Při delším skladování při teplotě -18 °C dochází k úbytku mikroorganismů, ale nedojde k úplnému zničení. Neomezeně potraviny skladujeme až při teplotě -80 °C, kdy je inaktivována činnost mikroorganismů (VLKOVÁ, RADA, 2009).

Filtrace slouží k odstranění mikroorganismů ze vzduchu, který se používá pro klimatizaci.

Ultrafialové záření je účinný prostředek využívaný pro povrchovou sterilaci a sterilaci potravinářských prostorů, což jsou očkovací boxy a prostory aseptického

balení potravin. Nejúčinnější pro ošetření jsou vlnové délky kolem 260 nm. Zdroje záření jsou umístěny tak, aby nebyl ohrožen zrak pracovníků (ŠILHÁNKOVÁ, 2002; VLKOVÁ, RADA, 2009).

3.6.3 Chemické prostředky

Chemické látky nesmí nepříznivě ovlivňovat organoleptické vlastnosti potravin, nesmějí být zdraví škodlivé a nesmí poškozovat výrobní zařízení (INGR, 2005). Chemické prostředky tvoří anorganické zásadité nebo kyselé sloučeniny, nebo organické sloučeniny.

Podle povahy působení na nežádoucí látky rozlišujeme účinek bakteriostatický, který brzdí rozmnožování mikroorganismů a baktericidní, který buňky usmrcuje. (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Charakteristika materiálu

K mikrobiologickým analýzám byly při rozbořech použity 3 vzorky mléka a 3 vzorky sýrů.

Mléko

Analýza se prováděla na podzim roku 2014.

Vzorek č. 1: kravské mléko ze školního zemědělského podniku Žabčice

Vzorek č. 2: kozí mléko z farmy Rozinka

Vzorek č. 3: ovčí mléko z farmy Brníčko

Sýry

Sýry byly zakoupeny v prodejně SKLIZENO.

Vzorek č. 1: Čerstvý kozí sýr DoRa (obr. č. 4)

Složení: pasterované kozí mléko, syřidlo, sůl, mlékárenské kultury, sušina min. 30 %, tuk v sušině min. 32 %

Výrobce: BIOFARMA DoRa s.r.o.



Obr. č. 4: Čerstvý kozí sýr DoRa

Vzorek č. 2: Čerstvý ovčí sýr z nepasterovaného mléka (obr. č. 5)

Složení: ovčí mléko, syřidlo, sůl, sušina min. 35 %, tuk v sušině min. 40 %

Výrobce: Michal Hrdlička, Farma Brníčko



Obr. č. 5: Čerstvý ovčí sýr z nepasterovaného mléka

Vzorek č. 3: Čerstvý sýr zrající pod mazem MAZÁK (obr. č. 6)

Složení: pasterované kravské mléko, mlékárenské kultury, sůl max. 3 %, sušina min. 30 %, tuk v sušině min. 35 %

Výrobce: Statek Horní Dvorce, s.r.o.



Obr. č. 6: Čerstvý sýr zrající pod mazem MAZÁK

4.2 Příprava laboratorních pomůcek

Laboratorní sklo používané při rozborech bylo sterilizováno v horkovzdušném sterilizátoru při 165 °C 60 minut. Erlenmayerovy baňky s živnými půdami a zkumavky s fyziologickým roztokem byly sterilizovány horkou parou ve sterilizátoru při 121 °C 20 minut.

4.3 Složení použitých živných půd

Plate count agar (PCA)

- Trypton 5,0 g
- Kvasničný extrakt 2,5 g
- Glukóza 1,0 g
- Agar 12,0 g
- Destilovaná voda 1000 ml

Upraví se pH na hodnotu $7 \pm 0,2$ při 25 °C.

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

Compass Enterococcus Agar (CEA)

- Pepton 27,5 g
- Kvasniční extrakt 5,0 g
- Octan sodný 5,0 g
- Tween 801,0 g
- Selektivní činidla 0,3 g
- X – glykosid 0,1 g
- Agar 14,0 g
- Destilovaná voda 1000 ml

Upraví se pH na hodnotu $7,5 \pm 0,2$ při 25 °C.

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

Agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučí a laktózou (VRBL)

- Pepton 7,0 g
- Kvasničný extrakt 3,0 g
- Laktóza 10,0 g
- Chlorid sodný 5,0 g

- Žlučové soli 1,5 g
- Neutrální červeň 0,03 g
- Krystalová violet 0,002 g
- Agar 12,0 g
- Destilovaná voda 1000 ml

Upraví se pH na hodnotu $7,4 \pm 0,2$ při $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Půda se nesterilizuje v autoklávu. Pouze se 2 minuty rozvaří ve vodní lázni.

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

Chloramphenicol Glucose Agar (CGA)

- Kvasniční extrakt 5,0 g
- Glukóza 20,0 g
- Chloramfenikol 0,1 g
- Agar 15,0 g
- Destilovaná voda 1000 ml

Upraví se pH na hodnotu $6,6 \pm 0,2$ při $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

DeMan, Rogosa, Sharp agar (MRS)

- Pepton 10,0 g
- Masový extrakt 10,0 g
- Kvasničný extrakt 5,0 g
- Glukóza 20,0 g
- Tween 801,0 g
- Hydrogenfosforečnan draselný 2,0 g
- Octan sodný 5,0 g
- Citran amonný 2,0 g
- Síran hořečnatý 0,2 g
- Síran manganatý 0,05 g
- Agar 15,0 g
- Destilovaná voda 1000 ml

Upraví se následně pH $5,7 \pm 0,1$ při $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

4.4 Úprava vzorku

Vzorky vychlazeného mléka byly ve sterilních vzorkovnicích ve zchlazeném stavu dopraveny do laboratoře a uchovány v chladničce a následující den analyzovány.

Navážka sýra o hmotnosti 10 g byla přenesena do sterilního polyethylenového sáčku a zalita 90 ml fyziologickým roztokem. Takto připravený vzorek se homogenizoval 60 sekund v homogenizátoru typu STOMACHER.

Následně byla připravena řada desetinného ředění. Vzorky mléka byly ve vzorkovnicích protřepány a rovněž byla připravena řada desetinného ředění. Připravené inokulum (1 ml) se očkovalo do sterilních a označených Petriho misek. Inokulum bylo zalito příslušnou živnou půdou zchlazenou na cca 45 °C a po promíchání se živná půda ponechala zatuhnout. Petriho misky se umístily do termostatů.

Inkubace probíhala při odpovídajícím čase a teplotě pro určitou skupinu stanovovaných mikroorganismů. Po uplynutí doby inkubace byly spočítány jednotlivé narostlé kolonie.

4.5 Stanovení mikroorganismů

U vzorků byly stanovovány tyto skupiny mikroorganismů – celkový počet mikroorganismů, koliformní mikroorganismy, bakterie mléčného kysání, psychrotrofní mikroorganismy, enterokoky, plísňe a kvasinky. V tabulce č. 2 jsou uvedeny podmínky kultivace stanovovaných mikroorganismů.

Tab. č. 2: Podmínky kultivace stanovovaných mikroorganismů

Stanovované mikroorganismy	Živná půda	Teplota kultivace [°C]	Čas kultivace [hod]
CPM	PCA	30	72
BMK	MRS	37	72
KOLI	VRBL	37	24
PS	PCA	6,5	240
ENT	CEA	45	24
KV/PL	CGA	25	120

Vysvětlivky: CPM – celkový počet mikroorganismů, BMK – bakterie mléčného kysání, KOLI – koliformní bakterie, PS – psychrotrofní mikroorganismy, ENT – enterokoky, KV – kvasinky, PL – plísně, PCA – Plate count agar, MRS – DeMan, Rogosa, Sharp agar, CEA – COMPASS Enterococcus Agar, VRBL – agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučí a laktózou, CGA – živná půda s kvasničným extraktem, glukózou a chloramfenikolem

4.6 Vyjádření výsledků

Po ukončení kultivace se provedl odečet narostlých kolonií na jednotlivých Petriho miskách. Výsledné výpočty mikroorganismů jsou uvedeny v KTJ/ml nebo KTJ/g dle rovnice:

$$N = \frac{\Sigma \cdot (a + b + c + d)}{V \cdot (n_1 + 0,1 \cdot n_2) \cdot d}$$

$\Sigma (a + b + c + d)$ = součet kolonií spočítaných na Petriho miskách

n_1 = počet Petriho misek použitých z 1. ředění

n_2 = počet Petriho misek použitých z 2. ředění

d = faktor prvního ředění použitého pro výpočet

V = objem očkovaného inokula = 1 ml

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Mléko

Výsledky mikrobiologické analýzy jednotlivých skupin mikroorganismů ve vzorcích mléka jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Tab. č. 3: Stanovované skupiny mikroorganismů ve vzorcích mléka v KTJ/ml

Skupina mikroorganismů	Vzorek č. 1: kravské mléko	Vzorek č. 2: kozí mléko	Vzorek č. 3: ovčí mléko
CPM	$2,1 \cdot 10^5$	$3,0 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^6$
BMK	$1,5 \cdot 10^3$	$1,4 \cdot 10^3$	$6,5 \cdot 10^3$
ENT	$1,2 \cdot 10^3$	$7,7 \cdot 10^2$	$1,4 \cdot 10^4$
KOLI	$4,9 \cdot 10^3$	$6,9 \cdot 10^3$	$6,8 \cdot 10^3$
PS	$4,3 \cdot 10^4$	$2,1 \cdot 10^5$	$6,6 \cdot 10^5$
celkem	$1,8 \cdot 10^3$	$9,9 \cdot 10^3$	$4,8 \cdot 10^4$
Mikromycety kvasinky	$1,8 \cdot 10^3$	$9,9 \cdot 10^3$	$4,8 \cdot 10^4$
plísně	$4,0 \cdot 10^1$	$6,8 \cdot 10^1$	$2,3 \cdot 10^2$

Vysvětlivky: CPM – celkový počet mikroorganismů, BMK – bakterie mléčného kysání, ENT – enterokoky, KOLI – koliformní bakterie, PS – psychrotrofní mikroorganismy

Stanovení **celkového počtu mikroorganismů** v syrovém mléce nám ukazuje na stupeň mikrobiálního osídlení jednotlivých vzorků mléka. Podle Nařízení EP a Rady (ES) č. 853/2004 je stanoven limit CPM pro syrové kravské mléko $\leq 1 \cdot 10^5$ KTJ/ml mléka. Limit CPM pro syrové kozí a ovčí mléko je $\leq 1,5 \cdot 10^6$ KTJ/ml mléka. Podle tabulky č. 3 můžeme vidět, že ani jeden vzorek neodpovídá normě. KALHOTKA et al. (2014) zjistili, že v kravském syrovém mléce se hodnoty CPM pohybují řádově v $10^3 - 10^6$ KTJ/ml. V syrovém kozím a ovčím mléce zjistili rozpětí hodnot CPM $10^2 - 10^9$ KTJ/ml. Vysoké CPM v kozím a ovčím mléce mohou být způsobeny nedostatečnou sanitací dojícího zařízení nebo nedostatečnou hygienou při ručním dojení.

Bakterie mléčného kysání, které se v syrovém mléce vyskytují, mohou, pokud nejsou zničeny pasterací, zapříčinit jeho kažení. Mohou způsobit nežádoucí kysnutí, senzorické vady a změnu textury mléka a mléčných výrobků (NAVRÁTILOVÁ, 2012). Ve všech vzorcích se hodnoty pohybovaly řádově v 10^3 KTJ/ml. KALHOTKA et al. (2014) uvádí, že v kravském syrovém mléce se bakterie mléčného kysání pohybují řádově $10^2 - 10^4$ KTJ/ml. V syrovém kozím a ovčím mléce zjistili rozpětí hodnot od jednotek až 10^5 KTJ/ml.

Enterokoky mohou přežívat pasteraci a být tak příčinou pasterovaného mléka a mléčných výrobků. Jsou také významnými producenty biogenních aminů (JIČÍNSKÁ, HAVLOVÁ, 2005). Pro stanovení enterokoků je dle ČSN 57 0529 pro syrové kravské mléko stanoven limit $2,0 \cdot 10^3$ KTJ/ml. Ve vzorku kravského mléka bylo naměřeno $1,2 \cdot 10^3$ KTJ/ml, což je v pořádku. V mléce kozím bylo naměřeno $7,7 \cdot 10^2$ KTJ/ml a v ovčím mléce $1,4 \cdot 10^4$ KTJ/ml. Počty enterokoků stanovené v kravském mléce KALHOTKOU et al. (2014) byly v rozmezí $10^1 - 10^3$ KTJ/ml, v syrovém kozím a ovčím mléce byly v rozmezí od 0 – 10^5 KTJ/ml.

Zdroji kontaminace syrového mléka **koliformními bakteriemi** jsou hnůj, půda a fekálně kontaminovaná voda. Koliformní bakterie nepřežívají pasteraci, při sekundární kontaminaci mohou působit kažení mléčných výrobků (NAVRÁTILOVÁ, 2012). Všechny 3 vzorky obsahovaly koliformní bakterie řádově 10^3 , nejméně těchto mikroorganismů bylo v kravském mléce. Přesto výsledek $4,9 \cdot 10^3$ KTJ/ml nevyhovoval ČSN 57 0529, která udává limit pro syrové kravské mléko 1 000 KTJ/ml. Průměrné počty koliformních mikroorganismů v syrovém kravském mléce stanovené KALHOTKOU et al. (2014) byly jednotky až 10^4 KTJ/m, v syrovém kozím a ovčím mléce byly v rozmezí od 0 – 10^5 KTJ/ml.

Termostabilní enzymy **psychrotrofních bakterií** mohou být příčinou kažení mléka. Při množení psychrotrofních bakterií dochází v mléce k nežádoucím senzorickým změnám (NAVRÁTILOVÁ, 2012). Dle ČSN 57 0529 je pro psychrotrofní mikroorganismy v syrovém kravském mléce stanoven limit $5,0 \cdot 10^4$ KTJ/ml. Ve vzorku kravského mléka bylo naměřeno $4,3 \cdot 10^4$ KTJ/ml, což odpovídá normě. Tento limit by byl překročen u ovčího a kozího mléka. Psychrotrofní mikroorganismy stanovené v kravském mléce KALHOTKOU et al. (2014) se pohybovaly od $10^2 - 10^5$ KTJ/ml, v syrovém kozím a ovčím mléce byly v rozmezí od $10^1 - 10^6$ KTJ/ml.

Přítomnost kvasinek a plísní není v syrovém mléce přirozená. Z toho vyplývá, že mohlo dojít na možnou kontaminaci mléka při jeho získávání. Lze je považovat za původce kažení, protože se vyznačují výraznou proteolytickou, lipolytickou a sacharolytickou činností (GÖRNER, VALÍK, 2004). U vzorků č. 1 a 2 se naměřené hodnoty **kvasinek** pohybovaly v řádu 10^3 KTJ/ml, ve vzorku č. 3 v řádu 10^4 KTJ/ml. Počty **plísní** byly menší, pohybovaly se v řádu 10^1 KTJ/ml, ve vzorku č. 3 pak v řádu 10^2 KTJ/ml. Kvasinky a plísně stanovené v kravském mléce KALHOTKOU et al. (2014) se pohybovaly od 10^1 – 10^3 KTJ/ml, v syrovém kozím a ovčím mléce od jednotek až 10^4 KTJ/ml.

5.2 Sýry

Výsledky mikrobiologické analýzy jednotlivých skupin mikroorganismů ve vzorcích sýrů jsou uvedeny v tabulce č. 4. Na obr. č. 7 – 12 jsou Petriho misky s nárůstem kolonií mikroorganismů po inkubaci.

Tab. č. 4: Stanovované skupiny mikroorganismů ve vzorcích farmářských sýrů v KTJ/g

Skupina mikroorganismů	Vzorek č. 1: kozí sýr	Vzorek č. 2: ovčí sýr	Vzorek č. 3: sýr zrající pod mazem
CPM	$2,8 \cdot 10^7$	$6,8 \cdot 10^7$	$1,1 \cdot 10^8$
BMK	ND in 10^{-7}	ND in 10^{-7}	ND in 10^{-7}
ENT	ND in 10^{-2}	65	ND in 10^{-2}
KOLI	$1,1 \cdot 10^4$	$2,1 \cdot 10^4$	$1,4 \cdot 10^4$
PS	$1,2 \cdot 10^7$	$1,4 \cdot 10^7$	$3,9 \cdot 10^6$
celkem	$7,6 \cdot 10^5$	$5,3 \cdot 10^5$	$4,9 \cdot 10^5$
Mikromycety kvasinky	$7,6 \cdot 10^5$	$5,3 \cdot 10^5$	$4,9 \cdot 10^5$
plísně	$1,8 \cdot 10^2$	$3,1 \cdot 10^3$	$2,2 \cdot 10^3$

Vysvětlivky: CPM – celkový počet mikroorganismů, BMK – bakterie mléčného kysání, ENT – enterokoky, KOLI – koliformní bakterie, PS – psychrotrofní mikroorganismy, ND - nedekováno

U vzorků č. 1 a 2 se hodnoty **celkového počtu mikroorganismů** pohybovaly v řádu 10^7 , u vzorku č. 3 v řádu 10^8 . Limity pro celkové počty mikroorganismů u sýrů v Nařízení Komise (ES) č. 1441/2007 o mikrobiologických kritériích pro potraviny ani v ČSN 56 9609 nejsou uvedeny. U sýrů se většinou CPM nestanovuje, protože do celkového počtu mikroorganismů se v tomto případě počítají i počty bakterií mléčného kysání a jiných mikroorganismů použitých při výrobě sýrů. Tato hodnota je pouze orientační a má ukázat stupeň mikrobiálního osídlení jednotlivých sýrů. KALHOTKA et al. (2010) stanovili CPM ve vzorcích čerstvých kozích sýrů v rozmezí $10^5 - 10^8$ KTJ/g.



Obr. č. 7: Celkový počet mikroorganismů

Bakterie mléčného kysání nebyly ani v jednom vzorku za podmínek metody detekovány ve zvolených ředěních. Metoda je vhodná především ke stanovení laktobacilů a je tedy zřejmé, že těchto bakterií je v sýrech menší množství. Na obsah mezofilních BMK ukazují vysoké počty CPM (viz tab. č. 4). KALHOTKA et al. (2010) stanovili bakterie mléčného kysání ve vzorcích čerstvých kozích sýrů v rozmezí $10^2 - 10^9$ KTJ/g.



Obr. č. 8: Bakterie mléčného kysání

Enterokoky nebyly ve vzorku č. 1 a 3 detekovány v ředění 10^{-2} a lze usuzovat na jejich velmi nízkou přítomnost v sýrech. U vzorku ovčímho sýra z nepasterovaného mléka bylo naměřeno 65 KTJ/g, to poukazuje na to, že enterokoky byly zničeny pasterizací a zároveň také, že se přirozeně vyskytují v syrovém mléce jako část jeho mikrobiální populace. Běžně se vyskytují v obsahu intestinálního traktu, proto jsou používány jako indikátor fekálního znečištění. Vysoké počty enterokoků mohou poukazovat na nedostatečnou hygienu při získávání a zpracování mléka a nedostatečnou pasterizaci. Podle Nařízení Komise č. 1441/2007 o mikrobiologických kritériích pro potraviny, ani v ČSN 56 96 09 není počet enterokoků limitován.



Obr. č. 9: *Enterokoky*

Počty **koliformních bakterií** v sýrech se pohybovaly řádově v 10^4 KTJ/g. Nejnižší hodnota $1,1 \cdot 10^4$ KTJ/g byla zaznamenána u kozího sýra. Nejvyšší hodnota byla zjištěna u ovčímho sýra z nepasterovaného mléka. Protože jsou koliformní bakterie pasterací mléka inaktivovány, lze jejich přítomnost ve vzorcích č. 1 a 3 vysvětlit jako důsledek sekundární kontaminace.

Dle Nařízení Komise (ES) č. 1441/2007 o mikrobiologických kritériích pro potraviny je pro sýry vyrobené z tepelně ošetřeného mléka stanoven pouze limit pro *Escherichia coli*, který nesmí přesáhnout hodnotu 1 000 KTJ/g. Počty *E. coli* nebyly samostatně stanovovány, ale její limity lze srovnat s počty koliformních bakterií, protože *E. coli* je jejich součástí. Ovčí sýr obsahoval $2,1 \cdot 10^4$ KTJ/g, ale sýr je vyroben z mléka nepasterovaného, proto se na něho tento limit nevztahuje. V ČSN 56 9609 je určen limit také pouze pro *E. coli*, a to 10^4 KTJ/g. Vzorky toto kritérium nesplňují, ale vzhledem k tomu, že ve skupině koliformních mikroorganismů jsou obsaženy i další rody, ne pouze *Escherichia*, je pravděpodobné, že limit pro *E. coli* byl dodržen a sýry

jsou z tohoto pohledu zdravotně nezávadné. KALHOTKA et al. (2009) stanovili ve vzorcích kozích a ovčích sýrů řádově 10^5 KTJ/g.



Obr. č. 10: Koliformní bakterie

Ve vzorcích č. 1 a 2 se pohybovaly **psychrotrofní mikroorganismy** řádově v 10^7 , ve vzorku č. 3 řádově v 10^8 . Limity pro psychrotrofní mikroorganismy u sýrů v Nařízení Komise (ES) č. 1441/2007 o mikrobiologických kritériích pro potraviny ani v ČSN 56 9609 nejsou uvedeny. Mezi faktory ovlivňující počet psychrotrofních mikroorganismů lze zařadit hygienické podmínky získávání mléka, rychlost zchlazení mléka po nadojení, teplotu a dobu skladování syrového mléka před jeho zpracováním nebo transport mléka.



Obr. č. 11: Psychrotrofní mikroorganismy

Počty **kvasinek** se mezi vzorky sýrů příliš neliší, pohybují se řádově v 10^5 KTJ/g. Naproti tomu počty **plísni** kolísají od 10^2 KTJ/g u vzorků kozího sýra do 10^3 KTJ/g u vzorků ovčího nepasterovaného sýra a sýra zrajícího pod mazem. Počty kvasinek výrazně převyšovaly počty plísni. Některé kvasinky jsou užitečné mikroorganismy při zrání některých sýrů, na jiných nejsou vítané. Hlavní příčinou výskytu kontaminujících kvasinek a jiných mikroorganismů na povrchu sýrů je nepřiměřená vlhkost jejich povrchu (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Kvasinky a plísňe nejsou v Nařízení Komise (ES) č. 1441/2007 limitované. ČSN 56 9609 udává limit pro kvasinky, který nesmí překročit hodnotu 10^7 KTJ/g pro potraviny určené k přímé spotřebě s výjimkou potravin, kde jsou tyto mikroorganismy součástí kulturní mikroflóry. V případě čerstvých sýrů je přítomnost kvasinek nežádoucí, nevyužívají se při výrobě. Průměrný počet kvasinek byl stanoven v řádu 10^5 KTJ/g, což normě vyhovuje. Jejich počet se však již může negativně projevit na senzoričných vlastnostech sýrů. Růst kvasinek na površích sýrů se projevuje tvorbou slizu a barevnými změnami. Růst plísni se projevuje tvorbou charakteristických kolonií na jejich povrchu (NAVRÁTILOVÁ, 2012). Ve vzorku č. 3 jsou naopak kvasinky složkou mazové kultury. Počty kvasinek a plísni stanovili KALHOTKA et al. (2009) ve vzorcích kozích a ovčích sýrů v rozmezí $10^3 - 10^9$ KTJ/g, přičemž kvasinky převažovaly nad plísněmi.



Obr. č. 12: Kvasinky a plísňe

6 ZÁVĚR

Dosáhnout zdravotní nezávadnosti mléka a mléčných výrobků je jedním z nejdůležitějších cílů v mlékárenských technologiích. V mléčných výrobcích se vyskytují žádoucí mikroorganismy, ale mohou se vyskytovat i mikroorganismy nežádoucí, které mohou vážně poškodit zdraví konzumenta. V celém výrobním procesu je mnoho míst a operací, při kterých může dojít ke kontaminaci mikroorganismy. Proto musíme toto riziko kontaminace nežádoucími mikroorganismy snížit na co nejnižší úroveň.

U vzorků mléka a sýrů byly stanovovány vybrané skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů, bakterie mléčného kysání, koliformní bakterie, enterokoky, psychrotrofní mikroorganismy, kvasinky a plísňe.

Výsledky z mikrobiologické analýzy se dají shrnout do několika bodů:

- limit CPM pro syrové kravské mléko $\leq 1 \cdot 10^5$ KTJ/ml mléka a pro syrové kozí a ovčí mléko $\leq 1,5 \cdot 10^6$ KTJ/ml mléka stanovený podle Nařízení EP a Rady (ES) č. 853/2004 byl ve všech vzorcích mléka překročen,
- vyšší počty koliformních bakterií ve vzorcích mléka a sýrů ukazují na nízkou úroveň hygieny při získávání mléka a výrobě sýrů,
- kvasinky a plísňe, které tvoří přirozenou mikroflóru syrového mléka, byly detekovány v rozmezí $10^3 - 10^4$ KTJ/ml nebo g,
- všechny analyzované vzorky vyhovovaly legislativě a jsou tak zdravotně nezávadné.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

DOLEŽAL O., 2000: *Mléko, dojení, dojírny*. Praha: Agrospoj, 241 s.

DRAGOUNOVÁ H., TOUŠOVÁ R., 2009: *Praktická příručka pro faremní zpracovatele mléka*. Liberec: Regionální agrární rada, 72 s.

FILIPOVÁ M., 2008: *Faremní zpracování ve světle hygienických předpisů*. Brno: Trast pro ekonomiku a společnost, 22 s. ISBN 978-80-904148-3-9

GAJDŮŠEK S., INGR I., SIMEONOVÁ J., 2003: *Zpracování a zbožíznalství živočišných produktů*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 122 s. ISBN 80-7157-708-1

GAJDŮŠEK S., 2006: Obsah vápníku a fosforu v sýrech. *Výživa a potraviny*, 61 (4): 108 – 109 s.

GÖRNER F., VALÍK L., 2004: *Aplikovaná mikrobiologie poživatin*. Bratislava: Malé Centrum, 528 s. ISBN 80-967064-9-7

JANŠTOVÁ B., 2012: *Technologie mléka a mléčných výrobků*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 143 s. ISBN 978-80-7305-637-7

JIČÍNSKÁ E., HAVLOVÁ J., 1995: *Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 106 s.

KALHOTKA L., DOSTÁLOVÁ L., PŘICHYSTALOVÁ J., ŠUSTOVÁ K., VELECKÁ M., 2014: Významné skupiny mikroorganismů v kravském, kozím a ovčím mléce z různých faremních chovů. *Celostátní přehlídka sýrů, seminář – Mléko a sýry 2014*. Praha: VŠCHT, 240 s.

KALHOTKA L., DOSTÁLOVÁ L., PŘICHYSTALOVÁ J., ŠUSTOVÁ K., 2009: Mikrobiologické hodnocení sýrů z kozího a ovčího mléka. *Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků VI*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 70 s.

KALHOTKA L., ŠUSTOVÁ K., NĚMCOVÁ M., LUŽOVÁ T., 2010: Mikrobiologické hodnocení vybraných sýrů. *Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků VII*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 73 s.

- KOVALČIK K., KOVALČIKOVÁ M., 1976: *Technika v chovu a technologické řešení specializovaných farem pro dojnice*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 188 s.
- LAW B. A., TAMIME A. Y., 2010: *Technology of Cheesemaking*. UK: Wiley-blackwell, 482s. ISBN 978-1-4051-8298-0.
- LUKÁŠKOVÁ J., 2001: *Hygiena a technologie mléčných výrobků*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 180 s. ISBN 80-7305-415-9
- NAVRÁTILOVÁ P., 2012: *Hygiena produkce mléka*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 129 s. ISBN 978-80-7305-625-4
- PAVELKA A., 1996: *Mléčné výrobky pro vaše zdraví*. Brno: Litera, 105 s.
- SAMKOVÁ E., 2012: *Mléko: produkce a kvalita*. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 240 s. ISBN 978-80-7394-383-7.
- ŠILHÁNKOVÁ L., 2002: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Praha: Academia, 363 s. ISBN 80-200-1024-6
- ŠUSTOVÁ K., SÝKORA V., 2013: *Mlékárenské technologie*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 223 s. ISBN 978-80-7375-704-5
- ŠUSTOVÁ K., 2010: *Laktologie – přednášky*.
- ŠUSTOVÁ K., 2008: *Sýrařství*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 72 s. Oficiálně nevydáno
- VLKOVÁ E., RADA V., KILLER J., 2009: *Potravinářská mikrobiologie*. Praha: Česká zemědělská univerzita, 168 s. ISBN 978-80-213-1988-2.

Legislativní zdroje:

ČSN 57 0529 - požadavky na jakost syrového kravského mléka pro mlékárenské ošetření a zpracování

Nařízení EP a Rady (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu

Vyhláška č. 77/2003 Sb., která stanovuje požadavky pro mléko, mléčné výrobky, mražené krémy, jedlé tuky, a oleje

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. č. 1: Složení kravského mléka (ŠUSTOVÁ, 2010)</i>	10
<i>Obr. č. 2: Obsah dusíkatých látek (SAMKOVÁ, 2012)</i>	11
<i>Obr. č. 3: Výroba sýrů (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013)</i>	20
<i>Obr. č. 4: Čerstvý kozí sýr DoRa</i>	28
<i>Obr. č. 5: Čerstvý ovčí sýr z nepasterovaného mléka</i>	29
<i>Obr. č. 6: Čerstvý sýr zrající pod mazem MAZÁK</i>	29
<i>Obr. č. 7: Celkový počet mikroorganismů</i>	37
<i>Obr. č. 8: Bakterie mléčného kysání</i>	37
<i>Obr. č. 9: Enterokoky</i>	38
<i>Obr. č. 10: Koliformní bakterie</i>	39
<i>Obr. č. 11: Psychrotrofní mikroorganismy</i>	39
<i>Obr. č. 12: Kvasinky a plísně</i>	40

9 SEZNAM ZKRATEK

SB	somatické buňky
RIL	rezidua inhibičních látek
KTJ	kolonie tvořící jednotky
CPM	celkový počet mikroorganismů
BMK	bakterie mléčného kysání
ENT	enterokoky
KOLI	koliformní bakterie
PS	psychrotrofní mikroorganismy
KV	kvasinky
PL	plísně
ND	nedekováno
PCA	Plate count agar
MRS	DeMan Rogosa Sharp agar
CEA	Compass Enterococcus Agar
VRBL	agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučí a laktózou
CGA	živná půda s kvasničným extraktem, glukózou a chloramfenikolem
EP	Evropský parlament
ES	Evropské společenství
ČSN	česká státní norma