

MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

BRNO 2015

Bc. JANA VALÍČKOVÁ

Mendelova univerzita v Brně

Agronomická fakulta

Ústav technologie potravin



**Agronomická
fakulta**

**Mendelova
univerzita
v Brně**



Porovnání metod měření syřitelnosti mléka

Diplomová práce

Vedoucí práce:

prof. Ing. Květoslava Šustová, Ph.D.

Vypracovala:

Bc. Jana Valíčková

Brno 2015

Zadání

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci *Porovnání metod měření syřitelnosti mléka* vypracovala 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 *Směrnici o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, 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

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí diplomové práce, prof. Ing. Květoslavě Šustové, Ph.D, za cenné rady, jež mi pomohly při psaní této práce. Dále bych ráda poděkovala Ing. Romanu Pytlovi za vstřícný přístup a pomoc při provádění praktické části této diplomové práce a Ing. Lubomírovi Příbylovi za možnost zapůjčení přístroje.

ABSTRAKT

Diplomová práce *Porovnání metod měření syřitelnosti mléka* se zabývá významným technologickým krokem při výrobě sýrů, kterým je proces syření. Byly mezi sebou porovnávány metody syření, konkrétně metoda vizuální a přístrojová s využitím nefelo-turbidimetru. Na základě statistického zpracování dat byl ve třech případech měření zjištěn rozdíl mezi průměrným měřením vizuálně a přístrojově, a to na hladině významnosti 99 %. Dále byly posuzovány vlivy na syřitelnost mléka, při kterých nejlepších výchozích vlastností pro proces syření vykazoval vzorek mléka pasterovaného s přídavkem CaCl_2 . Na základě výpočtů z této diplomové práce je k zasýření 100 l mléka syřidlem CHY-MAX potřeba 0,2 l tohoto syřidla a ke stejnému množství mléka syřeného Laktochymem je potřebný 1 l syřidla. Při posuzování ekonomické bilance za použití syřidel Laktochym a CHY-MAX bylo zjištěno, že pro optimalizaci nákladů je vhodnější používat syřidlo CHY-MAX o síle min 190 IMCU/ml ředěné destilovanou vodou v poměru 1:5.

Klíčová slova

Kravské syrové mléko, technologické vlastnosti mléka, kasein, koagulace bílkovin, chymosinová syřidla, nefelo-turbidimetrický snímač koagulace mléka, vizuální metoda

ABSTRACT

This Master thesis called *Comparison of methods for measuring milk coagulation* deals with a major technological step in the production of cheese, which is the process of curdling of milk. Two methods for measuring this process were compared, particularly the visual and instrumental method utilizing nepheloturbidimeter. Based on statistical data processing in three cases, a difference was observed between the average visual measurement and instrumental measurement of significant 99%. Furthermore, the impacts on curdling of milk were assessed what showed that the best default property for the process of curdling had a pasteurized milk sample with the addition of CaCl_2 . On the basis of calculations in this thesis it has been concluded that to curdle a 100 l of milk with rennet CHY-MAX a 0,2 liters of the rennet is required. The same amount of milk is curdled with 1 litre of rennet Lactochym. In assessing the economics of using rennet Lactochym and CHY-MAX it has been found that for cost optimization it is more appropriate to use rennet CHY-MAX with a strength of at least 190 IMCU/ml diluted in distilled water at a ratio of 1:5.

Klíčová slova

Cow raw milk, technological properties of milk, casein, coagulation of proteins, chymosin rennets, nepheloturbidimetric determination of milk coagulation, visual method

OBSAH

1	ÚVOD.....	9
2	CÍL PRÁCE.....	10
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	11
3.1	Mléko jako surovina pro výrobu sýrů	11
3.1.1	Definice a rozdělení mléka	11
3.2	Definice a vznik sýrů	12
3.3	Mléko jako surovina pro výrobu sýrů.....	13
3.3.1	Bílkoviny mléka a jejich vztah k syřitelnosti.....	13
3.3.2	Soli mléka a jejich vztah k syřitelnosti	16
3.4	Základní rozbor mléka	17
3.4.1	Titrační kyselost.....	17
3.4.2	pH.....	18
3.4.3	Obsah vápníku	18
3.4.4	N-test.....	18
3.5	Jakost syrového kravského mléka ke zpracování na sýry	18
3.6	Kyselé a sladké srážení bílkovin.....	20
3.6.1	Kyselé srážení bílkovin.....	20
3.6.2	Enzymové srážení mléka	21
3.7	Syřitelnost a další technologické vlastnosti mléka	23
3.7.1	Kysací schopnost mléka.....	23
3.7.2	Termostabilita mléka	24
3.7.3	Syřitelnost mléka	24
3.8	Faktory ovlivňující syřitelnost mléka	25
3.8.1	Výživa dojnice	25
3.8.2	Laktace.....	26
3.8.3	Plemenná příslušnost a genetické faktory.....	26
3.8.4	Sezónní výkyvy.....	27
3.8.5	Zdravotní komplikace dojnice	27
3.9	Ovlivňování syřitelnosti v procesu výroby sýrů	28
3.9.1	Vliv pH na syřitelnost mléka	28
3.9.2	Vliv teploty na syřitelnost mléka	28

3.9.3	Vliv přídavku vápenatých iontů na syřitelnost mléka	31
3.10	Ukazatele pro hodnocení procesu srážení	31
3.11	Syřidla.....	33
3.11.1	Rozdělení syřidel:	33
3.11.2	Síla a dávka syřidla	36
3.11.3	Zásady pro vlastní použití syřidla	39
3.12	Metody měření syřitelnosti.....	40
3.12.1	Metody používané pro měření syřitelnosti	40
3.12.2	Vizuální metoda měření koagulace mléka.....	41
3.12.3	Nefelo-turbidimetrické metoda.....	41
4	MATERIÁL A METODIKA.....	45
4.1	Vzorky mléka a jejich úprava	45
4.1.1	Základní laboratorní analýzy mléka	45
4.1.2	Tepelné ošetření.....	49
4.1.3	Přídavek syřidla	49
4.1.4	Přídavek chloridu sodného.....	51
4.2	Provedení měření	52
4.3	Statistické zpracování dat.....	53
4.4	Hodnocení jakosti sýřeniny.....	53
5	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	55
5.1	Výsledky mléka 12.3.2015.....	55
5.1.1	Výsledky času koagulace vzorků.....	56
5.2	Výsledky mléka 24.3.2015.....	59
5.2.1	Výsledky času koagulace vzorků.....	59
5.3	Diskuze.....	63
5.4	Vliv koncentrace syřidla na ekonomiku výroby sýrů	65
5.5	Hodnocení jakosti sýřeniny.....	66
5.6	Výsledky studií koagulace mléka s využitím nefelo-turbidimetru	68
6	ZÁVĚR	70
7	PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY.....	73
8	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	78
9	SEZNAM TABULEK	79

1 ÚVOD

Kravske mléko se řadí mezi potraviny s významným obsahem zdraví prospěšných látek, díky kterým ho řadíme mezi jednu z nejkompexnějších potravin v našem jídelníčku. Je součástí vyvážené stravy z důvodu vysokého obsahu kvalitních bílkovin, minerálních látek (jako je například vápník nebo hořčík), vitaminů (například vitamin A, D, thiamin, riboflavin, biotin, inositol a další vitamíny skupiny B) a s neméně významným obsahem stopových prvků (například zinek, měď, selen, fosfor a jód). Světová organizace pro zemědělství a výživu z tohoto důvodu doporučuje 1 až 3 porce mléka denně.

Významným omezením mléka je jeho neúdržnost a potenciál k mikrobiální zkáze, a proto se již od nepaměti hledaly způsoby jak mléko konzervovat a prodloužit tak jeho trvanlivost. Jedním z těchto způsobů je zpracování mléka na mlékárenské produkty, mezi které se řadí také sýr. Významnou technologickou operací v průběhu výroby sýrů je proces srážení bílkovin mléka, neboli koagulace, kdy dochází k přeměně tekuté konzistence na pevnou kompaktní hmotu, která se nazývá sýřenina. Syřitelnost je jedna ze základních technologických vlastností mléka, která podmiňuje efektivní produkci sýrů, a to jak po stránce kvantitativní (výtěžnost), tak kvalitativní (jakost). V současnosti se uplatňují nové metody posouzení syřitelnosti mléka, mezi které se řadí přístroj nefelo-turbidimetrický snímač koagulace mléka. Tím, že jsou zkoumány optimální podmínky této fáze výrobního procesu, je dána příležitost pro jeho optimalizaci v provozních podmínkách.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této práce je:

- V rámci literární rešerše zpracovat dostupné vědecké informace vztahující se k syřitelnosti mléka.
- Provést stanovení syřitelnosti mléka pomocí vizuální metody a s využitím nefelo-turbidimetru za použití chymosinových syřidel.
- Posoudit vztah mezi výsledky času koagulace, které byly zjištěny vizuální a přístrojovou metodou a posoudit vliv na ekonomickou náročnost výroby.
- Naměřené výsledky statisticky a graficky zpracovat.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Mléko jako surovina pro výrobu sýrů

3.1.1 Definice a rozdělení mléka

Pojem „mléko“ představuje pravý sekret mléčné žlázy samic savců, které primárně slouží k prvotní výživě mláďat do doby, než jsou schopna sami se živit tuhou stravou. Jedná se o tekutinu složitého charakteru obsahující velmi cenné složky nezbytné pro přežití jedince. Také díky těmto látkám bohatých na vitamíny, minerální látky a protilátky si je jedinec schopen vytvořit imunitní systém, bez kterého by nebyl schopný následného přežití. Pro zvířata slouží mléko jako součást výživy pouze v období po narození, ale člověk využívá mléka jiných savců (primárně mléko kravské) pro jeho komplexní složení také v dalším období života (GAJDŮŠEK, 2003).

Složení mléka samic podléhá druhovým rozdílům. Nejčastější rozdělení mlék je na mléka kaseinová a albuminová, mezi kterými spočívá rozdíl ve složení a zastoupení hlavních bílkovin. Mezi mléka kaseinová se řadí například mléko kravské (zde tvoří obsah kaseinu více než 75% z celkového obsahu bílkovin), kozí, ovčí, buvolí, velbloudí a další. Do skupiny mlék albuminových řadíme mléko ženské, kobyli, psí, kočičí, sviňské a další (ROGINSKI et al., 2003).

Další významné rozdělení mlék dle průběhu laktace je na mléka zralá a nezralá, kde pojem nezralé mléko představuje mlezivo neboli kolostrum. To je vylučováno struky v první dny po narození mláďate a rozdíl od mléka zralého spočívá ve složení hlavně v obsahu imunoglobulinů a minerálních látek. Další rozdíly jsou patrné v barvě, chuti, pachu i konzistenci mléka, které činí kolostrum nevhodné k technologickému využití (ROGINSKI et al., 2003).

3.2 Definice a vznik sýrů

Dle vyhlášky č. 77/2003 Sb. o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje pojem „sýr“ představuje mléčný výrobek vyrobený vysrážením mléčné bílkoviny z mléka působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel a oddělením podílu syrovátky. Jako jednosložkový výrobek lze sýr označit v případě, že použitými surovinami jsou pouze mléko, sýrařské kultury, syřidlo a chlorid vápenatý (dále pouze CaCl_2) a přísadou jedlá sůl v množství do 2,5 % hmotnostních.

Předpokládá se, že první sýr byl vyroben před přibližně 8000 lety v Iráku v počátcích zemědělství, které zahrnovalo domestikaci zvířat i cílené pěstování rostlin. První sýr vznikl náhodně v podmínkách, které jsou pro jeho výrobu vhodné – v oblasti teplého klimatu, kdy činností bakterií a následnou produkcí kyselin je mléko okyseleno na hodnotu jeho izoelektrického bodu (pH 4,6), čímž dochází ke srážení kaseinových bílkovin při pokojové teplotě (cca 21°C). Mléko bylo přepravováno v pytlích z žaludků přežvýkavců, kde vlivem enzymů podlehl srážení a syrovátka byla následně odpařena (FOX et al., 2000).

Alternativou tohoto způsobu výroby je produkce sýrů vyvolaná enzymy, která na rozdíl od výše zmíněného způsobu vznikla záměrně. Předpokládá se, že prvními syřidly byly enzymy živočišného původu, ale využívány byly také rostlinná syřidla z různých druhů rostlin, například fiků nebo bodláků. Největší množství enzymů, které jsou schopny vyvolat koagulaci kaseinů, se nachází v žaludku vybraných zvířat. Na tento fakt se přišlo při porážce mladých zvířat, jejichž žaludek obsahoval sražené mléko, které jedinec původně přijal v tekuté formě. Využití enzymů k produkci sýrů se považuje za jedno z prvních cílených biotechnologických využití enzymů a dodnes se jedná o jedno z jejich základních využití v potravinářství (FOX et al., 2000).

Vlastnosti mléka sraženého enzymy se liší od mléka sraženého okyselením do hodnot izoelektrického bodu. Enzymaticky vzniklá sýřenina má lepší schopnost synerese, tedy lépe uvolňuje syrovátku, čehož se využívá u výroby sýrů s vysokou sušinou. Celosvětově je enzymatickým srážením mléka vyráběno přibližně 75 % produkce sýrů (WALSTRA et al., 2006).

3.3 Mléko jako surovina pro výrobu sýrů

Mléko představuje složitý biologický systém, ve kterém jsou jednotlivé složky obsaženy v různém poměru. Na chemické složení mléka, fyzikální vlastnosti a tím i na kvalitu mléka, má vliv celá řada činitelů. Přesto existuje určité zákonité zastoupení jednotlivých složek. Přehled o základním složení kravského mléka (který je proměnlivý vzhledem k podmínkám) je uveden v tabulce č. 1.

Tabulka č. 1.: *Základní složení mléka* (GAJDŮŠEK, 2003)

složky mléka	průměrný obsah [%]
voda	87,5
sušina	12,5
tuk	3,8
laktóza	4,7
bílkoviny	3,2
minerální látky	0,7

3.3.1 Bílkoviny mléka a jejich vztah k syřitelnosti

Kravské mléko obsahuje z celkového obsahu v průměru 3,2 % bílkovin, díky tomuto obsahu jej řadíme mezi významné zdroje bílkovin ve výživě člověka. Z 80 % jsou tyto bílkoviny tvořeny hlavní mléčnou bílkovinou – kaseinem a zbylých 20 % představují bílkoviny syrovátkové (GAJDŮŠEK, 2003).

V procesu výroby sýrů je stěžejní kaseinová bílkovina, která podléhá strukturálním změnám nezbytným pro výrobu sýrů. Kasein je heterogenní skupina fosfoproteinů (α_1 , α_2 , β , κ), který má izoelektrický bod v hodnotě pH 4,6, kdy se při

teplotě 20 – 40 °C sráží, zatímco syrovátkové bílkoviny zůstávají v roztoku (JANŠTOVÁ, 2012).

Bílkoviny mléka jsou důležitým faktorem, který má přímý vliv na ekonomiku výroby sýrů. Ovlivňují jakost sýřeniny i rychlost syřitelnosti. Zvýšený obsah bílkovin v mléce o 0,1 % představuje nižší spotřebu mléka o 0,2 – 0,5 l na 1 kg sýru (GAJDŮŠEK, 1995). Také dle IKONENA (2000) je kratší čas potřebný ke koagulaci mléka asociován s vyšším obsahem bílkovin v mléce. Z pohledu bílkovin ve vztahu k syřitelnosti je důležité sledovat:

- obsah kaseinu
- zastoupení jednotlivých frakcí v kaseinové micelle
- velikost kaseinových micel
- přítomnost syrovátkové bílkoviny (hlavně β -laktoglobulinu a α -laktalbuminu)

V tabulce č. 2 je shrnut poměr jednotlivých složek bílkovin v mléce, jejichž změnou dochází k ovlivňování syřitelnosti mléka. Nejvíce je syřitelnost ovlivněna množstvím kaseinu, β -laktoglobulinu a α -laktalbuminu.

Tabulka č. 2: *Bílkoviny v mléce* (GRANDISON et al., 1984)

protein	obsah v g.kg⁻¹ mléka	obsah v g.100g⁻¹ proteinu
<i>celkový kasein</i>	26	78,3
α_{s1} - kasein	10,7	32
α_{s2} -kasein	2,8	8,4
β - kasein	8,6	26
κ - kasein	3,1	9,3
γ -kasein	0,8	2,4
<i>syrovátkové bílkoviny</i>	6,3	19

<i>syrovátkové bílkoviny</i>	6,3	19
β-laktoglobulin	3,2	9,8
α-laktalbumin	1,2	3,7
sérový albumin	0,4	1,2
proteoso-pepton	0,8	2,4
<i>imunoglobuliny</i>	0,8	2,4
IgG ₁ , IgG ₂	0,65	1,8
IgA	0,14	0,4
<i>imunoglobuliny</i>	0,8	2,4
IgM	0,05	0,2
minoritní proteiny	0,9	2,7
laktoferin	0,1	-
<i>proteiny membrán tukových kuliček</i>	0,7	2

3.3.1.1 Kaseinové bílkoviny mléka

Kasein je přítomen ve formě koloidní disperze v mléčném séru a představuje směs rozdílných bílkovin. Uspořádání těchto bílkovin v micely je důležité z pohledu srážení bílkovin. Za účasti hydrofobních sil, fosforečných a vápenatých solí tvoří kaseinové bílkoviny útvary zvané micely, na jejichž povrchové vrstvě je κ-kasein bránící spojování kaseinových micel vápenatými můstky. Mezi funkce κ-kaseinu se řadí ochrana ostatních kaseinových frakcí, které se vyznačují citlivostí ke srážení s Ca²⁺ ionty (GAJDŮŠEK, 2003).

Pro technologické účely je významná koloidní stabilita mléka. Ta může být ovlivňována mnohými faktory, mezi které se řadí také proteolýza - tedy hydrolyzáza

κ -kaseinu. κ -kasein se nachází na povrchu kaseinové micely a svými vlastnostmi molekulu stabilizuje. Tato vlastnost je ovlivněna rozpadem molekuly, neboť dochází-li k hydrolyze κ -kaseinu, je stabilita micely snížena a dochází ke spojování micel. Tuto specifickou změnu kaseinu způsobuje chymosin a další proteinázy, které v přítomnosti vápenatých iontů sráží kasein. Proces spojování kaseinových micel vápníkovými můstky vlivem rozpadu κ -kaseinu se označuje jako sladké srážení mléka. Výsledkem je sýřenina gelovité konzistence tvořena pouze kaseinovými bílkovinami – syrovátkové bílkoviny touto změnou neprocházejí (KADLEC et al., 2009).

3.3.1.2 Syrovátkové bílkoviny mléka

Syrovátkové bílkoviny ovlivňují proces výroby sýrů skrz interakci syrovátkových bílkovin s κ -kaseinem. Tato interakce vyvolaná teplotním záhřevem mléka negativně ovlivňuje proces srážení, a je proto nutné při výrobě sýrů vzít v úvahu tepelné ošetření mléka. Platí, že čím vyšší je toto tepelné ošetření, tím silnější je denaturace syrovátkových bílkovin (KADLEC et al., 2009).

Dále se syrovátkové bílkoviny uplatňují v procesu výroby sýra tak, že jsou zabudovávány do sýru vyrobeného z mléka, jehož složky byly koncentrovány ultrafiltrací (ČERNÝ et al., 2003).

3.3.2 Soli mléka a jejich vztah k syřitelnosti

Výsledkem spálení vzorku mléka při 600 °C po dobu 5 hodin jsou popeloviny, které z celkového složení mléka představují přibližně 0,7 g/100 ml mléka. Navzdory tomu, že je toto množství v poměru k ostatním složkám mléka minoritní, mají soli významný vliv na technologické vlastnosti mléka včetně syřitelnosti. Popeloviny obsahují jak soli přítomné v původním vzorku, tak soli vzniklé rozkladem organických molekul vlivem vysoké teploty. Mezi tyto soli řadíme například fosfor, který je přítomen ve vzorku původního mléka jako součást bílkovin a fosfolipidů (KADLEC et al., 2009).

Z pohledu výroby sýru jsou nejvíce významné soli vápníku (nebo jeho ionizované formy) a dále fosfáty a citráty. Nejvýrazněji se na procesu srážení podílí ionty Ca^{2+} , které tvoří z celkového obsahu vápníku cca 10 % (ten se pohybuje kolem 1200 mg/l mléka). Je-li % této formy vápníku sníženo, dochází k prodloužení doby sýření. Ke snížení obsahu rozpustných vápenatých solí dochází například pasterací, a proto se pasterované mléko sýří při teplotě o 1 - 2 °C vyšší než mléko syrové a s přidavkem chloridu nebo mléčnanu vápenatého. Trvání koagulace je rovněž nepřímo úměrné poměru Ca/N v mléce. Obsah Ca^{2+} iontů je nepřímo úměrný koncentraci citrátových solí. Různorodým zastoupením vápníku v mléce je možno také vysvětlit různorodost srážení mléka. Mléko se může srážet za odlišnou dobu při působení stejného syřidla na vzorky mléka za stejných podmínek reakce (FOX et al., 2000).

Vliv nerozpustných solí vápníku na sýření spočívá v jejich interakci s kaseinovými micelami. Vzniklý koloidní kalcium fosfát hraje významnou roli v integritě kaseinové micely a ovlivňuje syřitelnost mléka. (JANŠTOVÁ, 2012)

3.4 Základní rozbory mléka

3.4.1 Titrační kyselost

Titrační kyselost se vyjadřuje množstvím roztoku NaOH (0,25 mol/l) v ml potřebného na neutralizaci 100 ml mléka za přidavku fenolftaleinu jako indikátoru. Hodnota titrační kyselosti se u čerstvého syrového mléka pohybuje mezi 6,2 – 7,8 °SH (ŠUSTOVÁ, 2005).

Platí, že titrační kyselost do 8 °SH podporuje proces sýření. Mimo tento rozsah mléko není vhodné k výrobě sýrů – například vlivem vyšší titrační kyselosti klesá termostabilita mléka. Titrační kyselost je ovlivňována obsahem syrovátkových bílkovin, citráty, kaseinem, fosfáty aj. Důvody, které způsobují kolísání titrační kyselosti mléka, jsou shrnuty v tabulce č. 3. (KNĚZ, 1974).

Tabulka č. 3: *Důvody kolísání hodnot titrační kyselosti mléka* (KNĚZ, 1974)

vyšší hodnoty titrační kyselosti	nižší hodnoty titrační kyselosti
v mlezivu	zvodnění mléka
u prvotetek	přítomnost cizorodých látek
mléko podléhající mléčnému kvašení	zánět mléčné žlázy
	úbytek hlavních složek mléka

3.4.2 pH

Aktivní kyselost mléka se vyjadřuje jako záporný dekadický logaritmus koncentrace vodíkových iontů H^+ . Pufrační schopnost mléka představuje změnu pH mléka po přidání kyseliny nebo zásady. Nejvhodnější oblast pro syřidlo z pohledu pH se pohybuje kolem hodnoty 6,5 (JANŠTOVÁ a NAVRÁTILOVÁ, 2014).

3.4.3 Obsah vápníku

Produkcí sýrů významně ovlivňuje obsah solí, konkrétně obsah vápníku. Pro stanovení vápníku v mléce byla zvolena komplexometrická titrace. Výsledek je udáván v jednotkách g/l (ŠUSTOVÁ, 2005).

3.4.4 N-test

Smícháním vzorku mléka s reagens dojde při zvýšeném obsahu buněčných elementů v mléce ke změně konzistence v podobě různě viskózního gelu. Podobnou reakci může vykazovat také mléko na začátku nebo na konci laktačního období, popřípadě mléko od dojnice, které bylo náhle změněno složením krmné dávky. Výsledkem testu je číselná hodnota od 0 – 4, kdy číslo 4 představuje mléko o silné viskózní konzistenci (ŠUSTOVÁ, 2005).

3.5 Jakost syrového kravského mléka ke zpracování na sýry

Výtěžnost sýrů a jejich kvalita je závislá na složení a technologických vlastnostech mléka. V mlékárenském průmyslu se vyžaduje vysoká kvalita mléka, která zásadně ovlivňuje jakost výsledného produktu. Jakost syrového kravského mléka ke zpracování na mlékárenské výrobky je určena kombinací vlastností týkajících se celkového

chemického složení mléka a jeho fyzikálních, mikrobiálních a hygienických vlastností (GAJDŮŠEK, 1995).

Současná evropská legislativa stanovila zvláštní hygienická pravidla pro produkci potravin živočišného původu - Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, změna Nařízením Komise (ES)1662 /2006 (JANŠTOVÁ, 2012). K legislativě potravin se vztahuje zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. Dle vyhlášky č. 77/2003 Sb., kterou se stanovují požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy, jedlé tuky a oleje, se mezi nejdůležitější kritéria mléka řadí:

1. Syrové mléko pochází od zdravé dojnice a z hospodářství úředně prostého tuberkulózy, brucelózy a dalších nemocí přenosných na lidi. Dojnice nevykazují příznaky poruch celkového zdravotního stavu – záněty (včetně mastitidy), poranění mléčné žlázy, infekce a další nemoci.
2. Mléko bylo získáno hygienickým způsobem v hospodářství, v němž jsou dodržovány hygienické požadavky na výrobu syrového mléka. Požadavky se týkají jak prostor, vybavení a personálu, tak hygieny během dojení, sběru a přepravy. Musí být splněny požadavky na produkci a dodávku mléka pro lidskou výživu stanovené veterinárními orgány.
3. Mléko musí být do 2 hodin od nadojení schlazeno (4 - 8 °C při svozu mléka do 24 hodin / 4 – 6 °C při svozu mléka do 48 hodin po nadojení) a následně podrobena procesu pasterace (nejedná-li se o výjimky) před dalším zpracováním.
4. Vlastnosti mléka nesmí být pozměněny krmivem dojnice, které by ovlivňovalo jeho složení a jakost. Mléko nesmí obsahovat cizorodé látky, které mají vliv na zdraví konzumenta a zároveň mohou ovlivnit proces srážení. Výsledek testu na rezidua inhibičních látek (veterinární léčiva, sanitační prostředky a jiné) musí být negativní. Pro veterinární léčiva je stanovena ochranná lhůta po podání dojnici.
5. V mléce nesmí být přítomny mikroorganismy a jejich toxiny, které by negativně ovlivňovali zdraví konzumenta. Sledován je primárně celkový počet mikroorganismů a počet koliformních, termorezistentních a psychrotrofních mikroorganismů. Přítomnost sporotvorných mikroorganismů *Clostridium*

tyrobutyricum způsobuje duření u déle zrajících sýrů. Limity týkající se počtu mikroorganismů v mléce jsou následovná:

- Počet psychrotrofních mikroorganismů do 50 000 v 1 ml
- Počet termorezistentních mikroorganismů do 2 000 v 1 ml
- Počet koliformních bakterií nejvýše 1 000 v 1 ml
- Sporotvorné anaerobní bakterie v 0,1 ml – test negativní
- Obsah celkového počtu mikroorganismů: do 100 000 v 1 ml (počítán jako klouzavý geometrický průměr za poslední 2 měsíce)
- Počet somatických buněk: do 400 000 v 1 ml (počítán jako klouzavý geometrický průměr za poslední 3 měsíce)

6. Fyzikální a chemické znaky jakosti mléka:

- Obsah tuku minimálně 33,0 g/l
- Obsah bílkovin minimálně 28,0 g/l
- Bod mrznutí $\leq -0,520^{\circ}\text{C}$
- Kyselost mléka dle Soxhlet-Henkela: 6,2 - 7,8 °SH

7. Smyslové vlastnosti mléka:

- barva - bílá, příp. 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 (ŠUSTOVÁ a SÝKORA, 2013)

3.6 Kyselé a sladké srážení bílkovin

Výroba sýrů je podmíněna strukturální změnou bílkovin mléka, kterou je možné vyvolat kyselým nebo enzymatickým srážením (KADLEC et al, 2009).

3.6.1 Kyselé srážení bílkovin

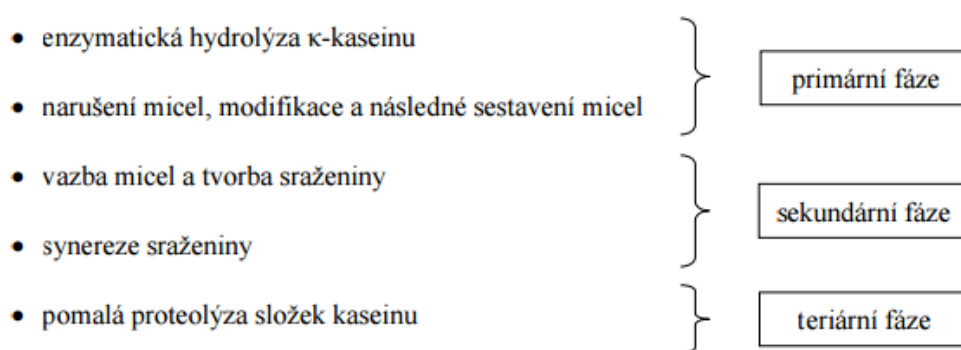
Kyselé srážení mléka je závislé na hodnotě pH mléka. Kasein je bílkovina s amfoterním charakterem, který má v izoelektrickém bodě při pH 4,6 neutrální náboj.

Okyselení mléka je možné dosáhnout přidáním kyseliny mléčné, octové nebo citrónové. Při pH nižším než 5,5 dochází k destabilizaci kaseinových micel, které před okyselením nesly negativní náboj a z tohoto důvodu bylo bráněno jejich agregaci. S poklesem pH dochází k destabilizaci kaseinové micely a k uvolnění koloidního kalcium fosfátu. Z kaseinové micely se při okyselení uvolní frakce β - a κ -kaseinu, které získají kladný náboj a vážou se na povrch negativně nabitého α -kaseinu. Výsledkem je vznik gelu (KADLEC et al., 2009).

Ideální podmínky pro kyselé srážení bílkovin je pH se pohybují v rozmezí 4,2 - 4,6 při teplotě kolem 20°C. Zvyšování teploty do 40 °C vede k rychlejší tvorbě sraženiny s hrubším charakterem, při vyšších teplotách je sýřenina gumovitá. Při teplotě nižší než 6°C se sýřenina netvoří vůbec (GAJDŮŠEK, 1998).

3.6.2 Enzymové srážení mléka

U enzymového (sladkého) srážení mléka dochází k velice rychlé koagulaci mléka pomocí tzv. proteolytických enzymů. Proces sladkého srážení mléka je graficky znázorněn na níže obrázku č. 1.



Obrázek č. 1: *Fáze sladkého srážení mléka* (KADLEC et al., 2009)

V primární fázi dochází k hydrolýze 80 – 90 % veškerého κ -kaseinu a současně dochází ke snížení negativního náboje kaseinových micel, které částečně ztrácejí vodní obal. Peptidové vazba aminokyselinového řetězce κ -kaseinu je štěpena mezi 105. a 106. aminokyselinou (mezi fenylalaninem a metioninem), čím vzniká:

- hydrofilní glykomakropeptid, který se nevyznačuje afinitou k ostatním frakcím kaseinu a je rozptýlen ve vodní fázi okolního prostředí
- hydrofobní para- κ -kasein, který se naopak touto afinitou vyznačuje a zůstává přidružený k micelle (FORMAN, 1996)

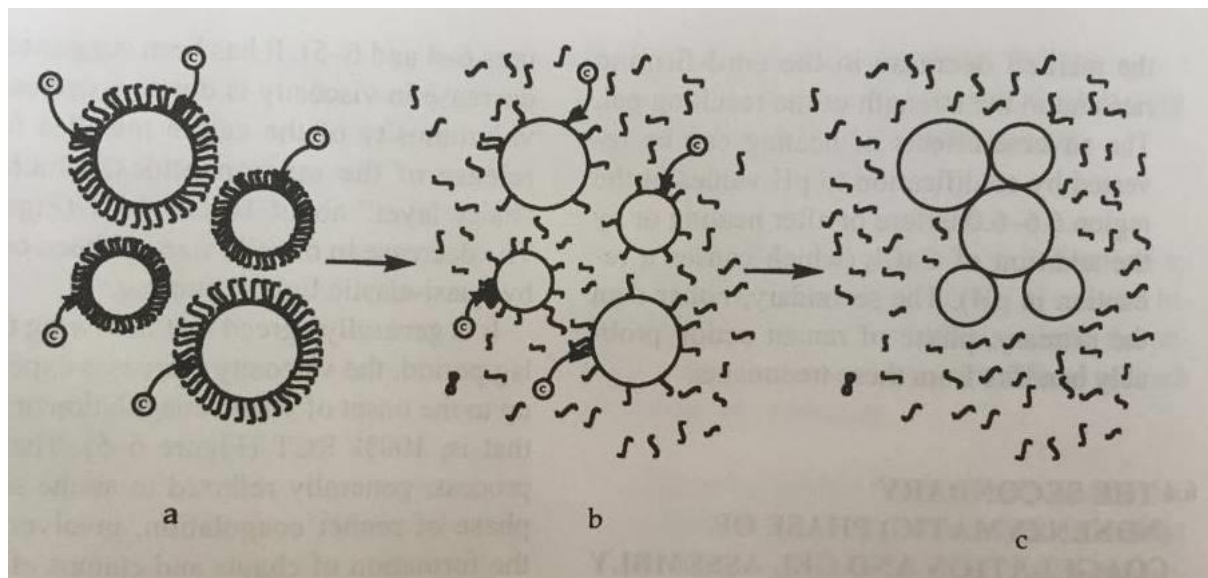
Průběh sekundární fáze je podmíněn přítomností Ca^{2+} iontů a teplotou nad 10 °C. Vytvořením vápenatých můstků a trojrozměrné sítě dochází k synerezi, která je vyvolaná přitažlivými silami mezi kaseinovými částicemi (GAJDŮŠEK, 1998).

Při delším působení syřidla nastává terciální fáze proteolýzy, dochází k štěpení α_{S1} - a β -kaseinu. Toto pomalé štěpení je v provozních podmínkách dále zpomalováno přidavkem NaCl. Terciální fáze často zahrnuje negativní dopad na sýřeninu a výsledný produkt, který představuje vznik chuťových (například vznik hořké chuti) a konzistenčních vad sýrů a negativně ovlivňuje výtěžnost sýrů ztrátou peptidů v syrovátce (ŠUSTOVÁ a SÝKORA, 2013).

FOX et al., 2000, znázorňuje změnu kaseinové micely při enzymatickém srážení mléka třemi fázemi:

- a) kaseinová micela bez porušení vrstvy κ -kaseinu atakována chymosinovým syřidlem
- b) micely částečně zbavené vrstvy κ -kaseinu
- c) micely v procesu agregace zcela zbavené vrstvy κ -kaseinu

Obrázek č. 2: Změna kaseinové micely v průběhu enzymatického srážení mléka (FOX et al., 2000)



3.7 Syřitelnost a další technologické vlastnosti mléka

Mezi technologické vlastnosti mléka hodnocené při výrobě sýrů se řadí syřitelnost mléka, dále kysací schopnost mléka a jeho termostabilita.

3.7.1 Kysací schopnost mléka

Kysací schopnost je schopnost mléka vytvořit vhodné podmínky pro činnost čistých mlékárenských kultur. Představuje proces fermentace laktózy bakteriemi mléčného kvašení. Stanovuje se u pasterovaného mléka za použití jogurtové kultury R_x a vyjadřuje se dosaženou titrační kyselostí dle podmínek metody jako spotřeba odměrného roztoku 0,25 mol NaOH na 100 ml mléka za použití indikátoru fenolftaleinu (GAJDŮŠEK, 2003). Minimální hodnota kysací schopnosti mléka dle metody Soxhlet-Henkela je 25 °SH. Kysací schopnost snižuje například výskyt reziduí

inhibičních látek, zvýšený obsah β -globulinů, neadekvátní výživa dojnic a zvýšený obsah somatických buněk (JANŠTOVÁ, 2012).

3.7.2 Termostabilita mléka

Neméně významnou technologickou vlastností je termostabilita mléka, která představuje relativní odolnost bílkovin proti srážení ohřevem. Jedná se o důležitou vlastnost při ošetření mléka pasteračním nebo sterilačním záhřevem. Vyjadřuje se jako čas, za který došlo ke srážení mléka při 140 °C. Pokud se naměřené hodnoty blíží 30 minutám, jedná se o výbornou termostabilitu, hodnoty nižší než 20 minut ukazují na nízkou termostabilitu. Optimálních hodnot se dosahuje kolem pH 6,5 (ROGINSKI et al., 2003).

3.7.3 Syřitelnost mléka

Syřitelnost mléka je jednou z nejdůležitějších technologických vlastností, která zásadním způsobem ovlivňuje celý proces výroby sýrů. Jedná se o schopnost mléka srážet se syřidlem a tvořit syřeninu požadovaných vlastností, která se dále zpracovává na sýr. Přídavkem syřidla do vzorku mléka začne mléko podléhat fyzikálně biochemickým změnám, které zahrnují modifikaci kaseinových micel, výsledkem kterých jsou změny ve viskozitě a elasticitě mléka. Konkrétně pojem syřitelnost zahrnuje časový interval od přidání syřidla do mléka až do objevení prvních vloček para- κ -kaseinu (ČEJNA, 2008).

Dle studie (ČEJNA a PŘIBYLA, 2006) představuje dobrá syřitelnost co nejkratší čas nutný k vysrážení mléka od přídavku syřidla. V provozních podmínkách se má mléko ideálně vysrážet nejdříve za 30 – 45 minut, ale tuhnoucí charakter syřeniny je možný pozorovat dříve. Kontrola průběhu zasyřování probíhá pomocí sledování oddělování syřeniny od stěn nádoby, čímž sledujeme její pevnost. Konec syření je hodnocen hladkým a lesklým lomem výsledné syřeniny, která je vhodná k dalšímu zpracovávání.

Výsledkem srážení mléka s nevyhovujícími vlastnostmi je málo kompaktní křehká sraženina s nízkou výtěžností, protože značné množství sýřeniny i tuku je ztraceno v syrovátce. Takto vzniklé sýry mají také nižší obsah sušiny. Další kritický bod pro výtěžnost je okamžik krájení sýřeniny. Nesprávné načasování tohoto kroku se projevuje vadami sýrů. Správné načasování je primárně založeno na subjektivním rozhodnutí zkušeného sýraře (GAJDŮŠEK, 2003).

3.8 Faktory ovlivňující syřitelnost mléka

Syřitelnost mléka ovlivňuje mnoho faktorů, které mohou ovlivňovat primární nebo sekundární fázi srážení, případně obě. Většina faktorů, které mají vliv na průběh srážení, jsou totožná s faktory ovlivňující složení mléka. Složení mléka má přímý vliv na koagulaci mléka a celkovou výtěžnost sýrů. Významné je zejména množství a zastoupení bílkovin, obsah tuku, laktózy, množství a forma minerálních látek. Obzvláště významný je obsah vápníku, konkrétně jeho ionizovaná forma, která má přímý vliv na vznik gelovité konzistence sýřeniny (ROGINSKI et al., 2003).

Faktory, které ovlivňují proces syřitelnosti, jsou různorodou skupinou, která má vliv na výtěžnost sýrů a ovlivňuje produkci sýrárny. Udává se, že složení krmné dávky dojnice a zdravotní stav mléčné žlázy se řadí mezi hlavní činitele ovlivňující vhodnost mléka pro zpracování na sýry (SOJKOVÁ et al., 2011). Tyto a další významné faktory, které mění chování mléka při syření a způsobují variabilitu v syřitelnosti a následných výrobních procesech, jsou rozepsány jako součást této podkapitoly.

3.8.1 Výživa dojnice

Z pohledu výživy dojnice se sleduje nejen přísun energie, ale krmná dávka musí také obsahovat všechny živiny ve vyváženém poměru. Vliv krmení působí z významné části na složení mléka a na poměr mezi jednotlivými stavebními komponenty. Výživou je primárně ovlivněn obsah a jakost bílkovin, obsah a složení mléčného tuku, obsah laktózy, minerálních látek a vitaminů. Nesprávnou výživou může být negativně

ovlivněna také vůně a technologické vlastnosti mléka. Z pohledu sýření má nedostatečná výživa dojnice vliv na obsah bílkovin, který s nedostatečným přísunem živin klesá, čímž je výrazně ovlivněn obsah kaseinu v mléce (AULDIST, 2002).

3.8.2 Laktace

Laktační období dojnice výrazně ovlivňuje složení a poměr jednotlivých složek. Nejvýrazněji jsou změny ve složení pozorovatelné na začátku a na konci laktačního období. Mlezivo v první dny po otelení obsahuje téměř dvakrát více sušiny, vyznačuje se vysokým obsahem albuminů, globulinů i minerálních solí. Naopak má nízký obsah laktózy a vyšší kyselost. Mléko na konci laktace od starodojných krav má z pohledu syřitelnosti nepříznivý obsah bílkovin, hlavně kaseinu (ČEJNA et al., 2004). Mimo obsahových změn jsou patrné také změny senzorické a konzistenční, včetně negativního vlivu na vlastnosti technologické (ČEJNA et al., 2005).

3.8.3 Plemenná příslušnost a genetické faktory

Druh plemene významně ovlivňuje množství, složení a vlastnosti mléka. Obecně je možné tvrdit, že plemena s vyšší produkcí mléka (horská plemena) produkují mléko chudší na tuk a bílkoviny a nížinná plemena naopak. Nejvíce chovanými plemeny na území České republiky jsou plemena České strakaté (kombinované) a Holštýnské plemeno (mléčné). Mléko holštýnských dojnic je v porovnání s Českým strakatým plemenem chudší na bílkoviny (SKÝPALA, 2010).

Nejen plemeno, ale také genetické faktory mohou ovlivnit proces koagulace, a to konkrétně genotyp κ -kaseinu, který má přímý vliv na složení bílkovin mléka a koagulační vlastnosti. Zlepšit syřitelnost mléka je možné cíleným výběrem zvířat s požadovanými vlastnostmi. Žádaná B alela je u dojnic poměrně vzácná, a to na úkor A alely, u které je při výrobě sýrů dosahováno nižší výtěžnosti. E alela, která je častější u plemena Ayrshire, je spojována s horšími koagulačními vlastnostmi mléka, s nižším obsahem bílkovin a s celkovým nižším objemem produkovaného mléka (IKONEN, 2000).

3.8.4 Sezónní výkyvy

Vliv na sezónní změny ve složení mléka mají teplotní výkyvy a s letním obdobím související změna složení krmné dávky. Z tohoto důvodu se dnes často složení krmné dávky standardizuje a v průběhu kalendářního roku se nemění. Sezónní výkyvy ovlivňují kvantitu a složení mléka, což přímo ovlivňuje syřitelnost. Negativní je hlavně tendence poklesu obsahu bílkovin v letním období (ŠUSTOVÁ a SÝKORA, 2013). Dle studie (ČEJNA et al., 2005) byl naměřen nejkratší čas potřebný ke koagulaci bílkovin v červenci (212 sekund) a nejdelší v prosinci (320 sekund).

3.8.5 Zdravotní komplikace dojnice

Již lehké onemocnění dojnice má vliv na produkci mléka a jeho složení. Významnějším změnám podléhá mléko vlivem metabolických poruch, horečnatých onemocnění a vlivem zánětů mléčné žlázy.

Z metabolických poruch nejvíce ovlivňují produkci a jakost mléka poruchy trávení v předžaludku (jednoduchá indigestce, acidóza bachorového obsahu, alkalóza bachorového obsahu), ketóza, hepatopatie a methemoglobinémie (ROGINSKI et al., 2003).

Jeden z nejvýznamnějších vlivů na složení, objem a jakost produkovaného mléka má zánět mléčné žlázy neboli mastitida. Dochází při něm k fyzikálním, chemickým a mikrobiologickým změnám v mléce a k patologickým změnám v tkáni mléčné žlázy. Změny chemického složení mléka jsou závislé na rozsahu zánětu. Snižuje se obsah sušiny, tuku i cukru a zvyšuje se obsah bílkovin a solí. Dochází ke změně poměru vápníku a fosforu, což negativně ovlivňuje syřitelnost. Výsledkem může být až celková neschopnost mléka srazit se. Negativně ovlivněna je také struktura kaseinových micel, jelikož malý rozměr micel obtížně vytváří prostorovou strukturu s vápníkem a výsledná sýřenina zadržuje velké množství vody, čímž dochází k poklesu výtěžnosti sýrů (FOX et al., 2000).

Podle FORMANA (1996) je riziko onemocnění dojnic závislé na vzájemném působení makroorganismu (dojnice = hostitel), mikroorganismu (infekční

činitel = patogen) a vnějšího prostředí. Mezi faktory vnějšího prostředí ovlivňující přímo nebo nepřímo vznik infekce mléčných žláz se řadí:

- hygiena a technika dojení,
- technologie ustájení,
- výživa

3.9 Ovlivňování syřitelnosti v procesu výroby sýrů

Zlepšit nebo zhoršit syřitelnost v prostorách sýrárny je možné prostřednictvím změny pH, tepelným ošetřením mléka nebo přidávkou CaCl_2 (WALSTRA et al., 2006).

3.9.1 Vliv pH na syřitelnost mléka

Enzymatické srážení mléka je závislé na hodnotě pH. Optimální kyselost mléka k syření se pohybuje kolem hodnoty pH 6,5 (SHALABI a FOX, 1982).

Okyselením mléka dochází k podpoření procesu synereze, čímž vznikají sýry s vyšším procentem sušiny. Hodnota pH ovlivňuje také pevnost gelu. Ta se zvyšuje s poklesem pH na hodnotu 5,9 - 6,0. Tento jev je pravděpodobně způsoben rozpustností koloidního kalcium fosfátu vlivem okyselení (FOX et al., 2000).

Vzhledem k aktivitě enzymu čas koagulace stoupá s hodnotou pH, hlavně nad hodnotu 6,4. Důležitý je druh enzymu – pepsin je k pH citlivý, naopak mikrobiální syřidla jsou vůči pH citlivé méně (SHALABI, FOX, 1982). Je předpokládáno, že za nízkých hodnot pH má použitý druh syřidla podstatně větší vliv na strukturu syřeniny (ESTEVEZ et al., 2003).

3.9.2 Vliv teploty na syřitelnost mléka

Ideální teplotní podmínky pro první fázi srážení mléka se pohybují v rozmezí 30 – 33 °C. Jedná se o optimální teplotu pro srážení κ -kaseinu, na kterou se mléko před samotným syřením upravuje a poté je tato teplota udržována v průběhu

celého procesu sýření. Při poklesu teploty je nutný přídavek Ca^{2+} iontů. Výjimečně se volí teploty vyšší, jak je tomu například u výroby sýrů typu Zlato (38 – 40 °C). Nad 55 °C je však schopnost mléka srážet se značně omezena (FORMAN, 1996).

Teplota se přizpůsobuje množství a tučnosti mléka. Menší množství mléka se sýří při vyšší teplotě, protože teplota mléka během sýření klesá. U neodstředěného mléka platí, že tukové globule ztěžují vylučování syrovátky, a tak se nižších teplot používá pouze u mléka odstředěného (FOX et al., 2000).

Syřitelnost mléka ovlivňují jak vysoké teploty (tepelné ošetření mléka), tak nízké teploty (skladovací teploty). S poklesem teploty pod 4 °C dochází ke změně v zastoupení forem vápníku a fosforu v mléce, ke změnám ve struktuře kaseinových micel a k ovlivnění pH. Mléko těchto výchozích vlastností je možno zasyřit, ale proces trvá déle. Výsledná křehká sýřenina se hůře odděluje od syrovátky (FOX et al., 2000).

3.9.2.1 Tepelné ošetření mléka

Pojem pasterace představuje druh tepelného ošetření mléka do 100 °C, které zajišťuje zdravotní nezávadnost mléka. Při výrobě sýrů je předpokladem pro standardní jakost sýrů bez rizika ohrožení zdraví konzumenta a pomáhá k prodloužení trvanlivosti výrobku. Z důvodu vlivu na technologické vlastnosti mléka je nutné volit pasterační režim dle finálního výrobku. Nevhodně zvolené tepelné ošetření negativně ovlivňuje vlastnosti sýřeniny a prodlužuje dobu potřebnou k jejímu vzniku (ŠUSTOVÁ a SÝKORA, 2013).

Rozlišujeme 3 základní typy pasterace:

1. Dlouhodobá pasterace (63 - 65 °C, 30 minut)

Jedná se o méně častý druh pasterace častěji využíván při produkci farmářských výrobků nebo při výrobě ementálu či moravského bochníku. Mléko ošetřeno tímto typem pasterace má vlastnosti nejvíce podobné mléku čerstvému. Případné změny ve složení se týkají primárně denaturace bílkovin. Sýřenina takto ošetřeného mléka je plnější a kasein se syřidlem se sráží jemněji. (ŠUSTOVÁ a SÝKORA, 2013)

2. Šetrná pasterace (71 - 74 °C, 15 - 20 sekund)

Jedná se o nejvíce používaný pasterační režim v České republice. Změny chemických a fyzikálních vlastností mléka jsou do teploty 74°C malé, nad tuto teplotu nastávají změny v chuti a vůni mléka. K denaturaci syrovátkových bílkovin dochází pouze částečně. Při delším působení dané teploty je výsledná sýřenina tužší a její elasticita horší. Pro optimalizaci průběhu sýření takto pasterovaného mléka se v provozních podmínkách volí:

- přídavek vápenatých iontů
- zvýšená dávka syřidla
- prodloužení času sýření
- zvýšení teploty při sýření a dosoušení (ŠUSTOVÁ, 2006)

3. Vysoká pasterace (85 – 95 °C, 5 - 8 sekund)

Nejvyšší stupeň pasterace je používán při produkci konzumních mlék a kysaných mléčných výrobků nebo termotvarohu (90 – 95 °C s výdrží několik minut) z důvodu žádané denaturace syrovátkových bílkovin. U výroby sýrů je denaturace bílkovin, především β -laktoglobulinu, nežádaná. Denaturace má za následek zadržování vody v sýřenině a obtížně se tak dosahuje vyšší sušiny sýra. Mléko vystavené vysoké pasteraci prošlo nevratnými změnami. Rozpustné vápenaté soli, zvláště citráty, se stanou částečně nerozpustnými, výsledkem čeho je změna poměru volného vápníku ke kaseinu, a tím dochází ke snížení sýřící schopnosti mléka (ŠUSTOVÁ, 2006). Významný je také vznik disulfidové vazby mezi κ -kaseinem a β -laktoglobulinem a α -laktalbuminem. Sýřenina takto upraveného mléka je vločkovitá, sypká, vodnatá a vyžaduje delší dobu potřebnou ke svému vzniku. Negativní dopad tepelného ošetření mléka může být z pohledu syřitelnosti zlepšen okyselením pH do hodnot 6,6 - 6 před nebo po tepelném ošetření. Další zlepšení je možné přidavkem CaCl_2 , který sníží hodnotu pH (FOX et al., 2000). Sýry s nízkodohřívanou sýřeninou (jako je například gouda nebo eidam) snesou vysokou pasteraci mléka. Sýry s vysokodohřívanou sýřeninou (jako například moravský bochník nebo ementál) naopak vysokou pasteraci mléka nesnesou (OLDŘICHOVÁ, 2002).

3.9.3 Vliv přídavku vápenatých iontů na syřitelnost mléka

V průběhu sýření je přídavek vápenatých iontů požadován pro zlepšení procesu sýření, zkrácení doby zasyřování a zlepšení jakosti a pevnosti výsledné sýřeniny. Přídavek CaCl_2 je obvykle 10 - 20 g na 100 l mléka nebo 20 - 40 ml nasyceného roztoku. Zrychlení procesu srážení mléčných bílkovin přídavkem CaCl_2 je možné vysvětlit neutralizací záporně nabitého povrchu kaseinové micely a vznikem vápenatých můstků. CaCl_2 zvyšuje výtěžnost tím, že brání nadměrné tvorbě sýrového prachu při zpracování sýřeniny (GAJDŮŠEK, 1998).

Vliv přídavku CaCl_2 na mléko:

- nárůst koncentrace Ca^{2+} iontů
- nárůst koncentrace koloidního kalcium fosfátu
- pokles pH

Na základě studie, ve které byla textura sýřeniny měřena přístrojově, je zřejmé, že CaCl_2 ovlivňuje jak primární, tak sekundární fázi srážení. κ -kasein se rozkládá na para- κ -kasein a makropeptid v průběhu lag fáze srážení. Délka lag fáze se zkracuje s nárůstem koncentrace vápníkového iontu. Nad přídavek 0,08% CaCl_2 není lag fáze pozorována. Fáze agregace molekul začíná v okamžiku, kdy je dostatečné množství hydrolyzovaného κ -kaseinu. Hydrolytickou reakci κ -kaseinu urychluje pokles pH. Při přídavku CaCl_2 je flokulace patrná i na nižších stupních hydrolyzy κ -kaseinu (YUKSEL, 2013).

Dobu srážení je možno snižovat jen k určité hranici, nad kterou je další přídavek CaCl_2 znatelný jako nepatrné prodloužení doby srážení mléka s poklesem pevnosti gelu. Důvodem je možná interakce nadbytečného vápníku s negativně nabitými karboxylovými skupinami parakaseinu, výsledkem čeho je nižší náchylnost kaseinu k agregaci (FOX et al., 2000).

3.10 Ukazatele pro hodnocení procesu srážení

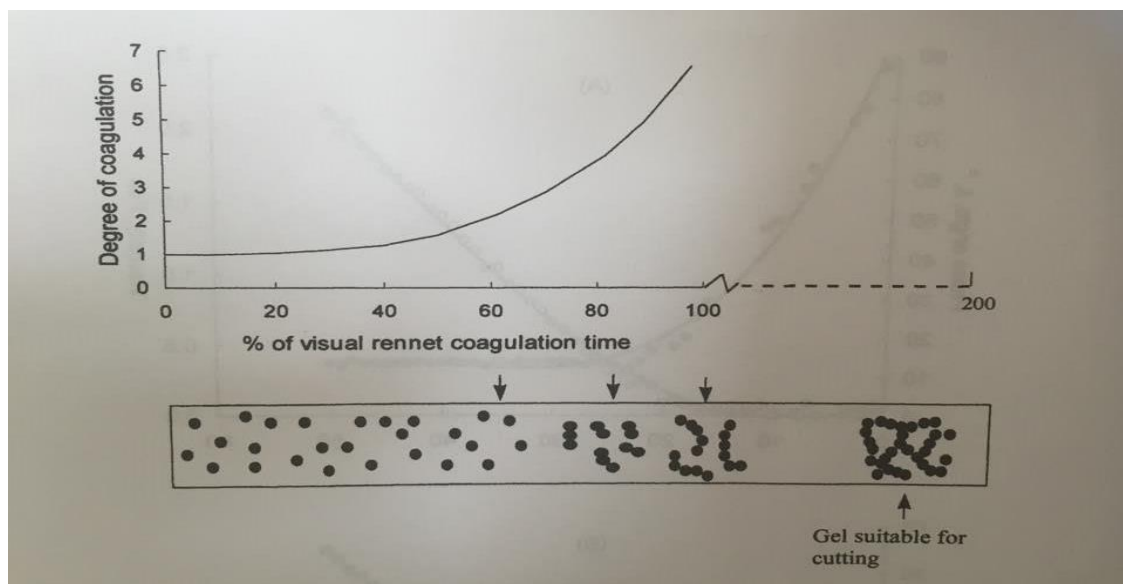
Pomocí kvalitativních ukazatelů je možné rozhodnout, zda je mléko vhodné či naopak nevhodné pro výrobu sýrů. Hodnocen je jak proces srážení, tak kvalita sýřeniny.

1. Čas koagulace mléka (označován jako RCT = *Rennet Coagulation Time*)

Čas koagulace je čas (v sekundách), který je měřen od doby přidavku syřidla do mléka do doby začátku koagulace (BUČEK, 2013).

Proces gelovatění zahrnuje fázi formace řetězců a shluků micel a poté fázi tvorby trojrozměrné sítě. První fáze trvá do přibližně 60 % RCT a micely do tohoto bodu existují jako samostatné částice. Mezi 60 – 80 % RCT dochází ke shlukování micel. V okamžiku 100 % RCT je většina micel spojena v řetězce, ze kterých vzniká síť. Změna ve velikosti nebo struktuře povrchu micely není patrná do 60 % RCT (lag fáze) (FOX et al., 2000).

Na obrázku č. 3 je sledována závislost stupně koagulace k RCT zachyceného volným okem. Je sledována postupná agregace micel (na obrázku zobrazeny jako černé body pod grafem), a to od prvotní fáze, kdy jsou od sebe micely vzdáleny, až k postupnému spojování a finální tvorbě trojrozměrné kaseinové sítě. V procesu výroby sýru je čas ideálního krájení sýřeniny v bodě, kdy kaseinové micely tvoří strukturu tuhého gelu (FOX et al., 2000).



Obrázek č. 3: *Závislost stupně koagulace na RCT* (FOX et al., 2000)

2. Pevnost sýřeniny

Pomocí tohoto údaje je měřena pevnost sýřeniny v mm 30 minut po přidavku proteolytického enzymu. Nesrazil-li se po tuto dobu vzorek mléka, je mléko charakterizováno jako nesrážlivé (BUČEK, 2013).

Dle studie CECCHAINATO et al. (2012) je patrné, že RCT a pevnost sýřeniny jsou znaky, které jsou navzájem propojené. V případě, že se mléko srazí za krátký čas, je výsledná pevnost sýřeniny vyšší. Naopak, koaguluje-li mléko déle, sýřenina má kratší čas ke svému vzniku a její finální pevnost bude nižší.

3.11 Syřidla

Syřidla jsou proteolytické enzymy s optimem proteolýzy v kyselé oblasti pH, které jsou nezbytné při výrobě sýrů sladkým srážením, neboť jejich působením dochází ke srážení kaseinu. Je mnoho proteináz, které jsou za vhodných podmínek schopny svými účinky vyvolat srážení mléka, ale pro komerční využití je využíváno pouze několik. Z pohledu koagulace bílkovin se mezi nejdůležitější vlastnosti syřidla řadí specifická hydrolyza peptidové vazby mezi 105. (fenylalanin) a 106. (methionin) aminokyselinou v molekule κ -kaseinu a nízký potenciál pro nesespecifickou hydrolyzu. Nejlépe tento předpoklad splňují syřidla živočišného původu, ale dnes se jim vyrovnávají i jiná syřidla dostupná na trhu. Syřidla je možné zakoupit ve formě tekuté, tabletové nebo práškové (TEPLÝ et al., 1976).

Jakost použitého syřidla ovlivňuje jak kvalitu sýřeniny a výtěžnost, tak i výslednou jakost sýrů. Nadměrná aktivita syřidla a nevhodná specifická syřidla může také vést k chuťovým (primárně se jedná o hořkost výsledného sýru) a konzistenčním vadám (SUKOVÁ, 2009).

3.11.1 Rozdělení syřidel:

Syřidla dělíme dle způsobu získávání na syřidla živočišná, rostlinná a mikrobiální.

3.11.1.1 Živočišná syřidla

K výrobě sýrů se tradičně používá syřidlo živočišného původu z žaludků telat a dalších přežvýkavců, kde je enzymové složení (směs chymosinu a pepsinu) ovlivněno věkem zvířete. Poměr vylučování chymozinu a pepsinu se mění se stářím telete. Po narození je tento poměr přibližně 95 % chymozinu a 5 % pepsinu a postupně se mění na cca 10 % chymozinu a 90 % pepsinu. Rozdíl v poměru těchto dvou enzymů je dán změnou krmné dávky zvířete – s přechodem na pevnou stravu stoupá obsah pepsinuna úkor chymosinu. Chymosin je získáván z žaludků sajících telat starých čtyři dny až tři měsíce. Nejvíce enzymu je v poslední části žaludku, která se nazývá slez (TEPLÝ et al., 1976).

Nedostatek chymosinu jako jednoho z nejkvalitnějších syřidel dal podnět pro hledání nových možností. Živočišné náhražky proteáz se získávají z hovězích nebo vepřových žaludků dospělých zvířat, popřípadě z žaludků drůbežích. V tomto případě mluvíme o syřidlech pepsinových. Pepsin je na rozdíl od chymosinu vhodnější pro výrobu čerstvých sýrů a tvarohů, protože při dlouhodobém působení enzymu vzniká hořká chuť rozkladem bílkovin na aminokyseliny (TEPLÝ et al., 1976).

Výroba syřidla zahrnuje proprání žaludku a následnou extrakci enzymu ze žaludeční tkáně, a to buď ze sušeného žaludku, nebo z žaludku ošetřeného 10 % NaCl. Cílem je přeměnit pro-chymosin na chymosin (WALSTRA et al., 2006).

Chymosin produkován v telecím žaludku je primárně chymosin A a B s menším zastoupením chymosinu C. Tento enzym je nejstabilnější při pH 5,3 – 6,3. V kyselém prostředí (pH 3 - 4) ztrácí svoji aktivitu, stejně tak jak v prostředí alkalickém, kdy enzym podléhá nezvratným konformačním změnám. Termostabilita enzymu roste s poklesem pH (FOX et al., 2000).

Příklady živočišných syřidel:

- Laktosin – tekuté syřidlo obsahující pepsin
- Caglifcio clerici – tekuté syřidlo, které obsahuje 75% chymosinu a 25% pepsinu
- Laktochym – chymosinové syřidlo (TEPLÝ et al., 1976)

3.11.1.2 *Rostlinná syřidla*

Rostlinná syřidla mají obecně menší sílu než syřidla živočišná a používají se k výrobě vegetariánských sýrů. Původně byly k sýření mléka používány rostlinná syřidla, například kopřiva, svízel, artyčok, šťáva z fíků nebo enzymy z dýně, které jsou dnes používány minoritně proti syřidlům živočišným (ŠUSTOVÁ a SÝKORA, 2013).

Příklady rostlinných syřidel:

- Kopřiva dvoudomá – využívá se šťáva z listů nebo odvar z rostliny
- Bodlák níci – využívány jsou sušené květy
- Pcháč rolní – používají se listy
- Pcháč obecný – využívány jsou sušené květy
- Artyčok kardový/zeleninový – využívány jsou sušené květy
- Rosnatka okrouhlostá – využívá se šťáva z rostliny, ale možný je také způsob srážení mléka vařením spolu s listy
- Fíkovník smokvoň – využívá se mléko vytékající z rostliny, také mladé větve a listy fíků
- Zemědým lékařský – používá se čerstvá nebo sušená rostlina
- Jestřabina lékařská – používá se celá rostlina
- Svízel syřišťový – používá se nařezaná rostlina
- Šťavel kyselý – používá se sušená rostlina
- Dále enzymy z dýně, papain (z papáji), bromelain (z ananasu), ricin (ze semen ricinového oleje) a další (TEPLÝ et al., 1976)

3.11.1.3 *Mikrobiální syřidla*

Syřidla mikrobiálního původu, které vznikly jako náhrada za syřidla klasická, byly povoleny v 70. letech minulého století organizací FDA (*Food and Drug Administration*) a od té doby se významně rozšířily. Dnes představují cca 35% trhu (FOX et al., 2000). K jejich produkci se používají různé druhy bakterií, kvasinek i

plísni, které mají schopnost produkovat příslušné proteolytické enzymy. Sílou se blíží syřidlům živočišného původu. Náklady na výrobu jsou nižší a jsou také vhodné pro vegetariány. Vykazují dobrou schopnost srážet mléko, zajišťují vysokou výtěžnost sýra a jejich využití je možné k výrobě různých druhů sýrů. Při dlouhodobém působení na mléko během zrání se chovají obdobně jako syřidla chymosinová a dochází tak ke vzniku obdobné chuti a vůně sýru (TEPLÝ et al., 1976).

Výroba mikrobiálních syřidel zahrnuje rozmnožení výchozí mikroflóry a následnou fermentaci. Ta vyžaduje vhodné podmínky, jako například přítomnost vhodné živné půdy, optimální teploty a doby fermentace, případně aerobní podmínky. Takto produkováný enzym je izolován a následně koncentrován. Rekombinantní chymosin je dnes komerčně dostupný, například Maxiren, produkováný *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*; dále Chymogen, produkováný *Aspergillus niger* a Chymax produkováný *Escherichia coli* (ŠUSTOVÁ a SÝKORA, 2013).

V roce 1998 bylo povoleno používat syřidla, která vznikla s využitím geneticky modifikovaných organismů.

Příklady mikrobiálních syřidel:

- **Bakteriální** – vznikají kultivací a extrakcí bakterií například rodu *Bacillus Subtilis* nebo *Streptococcus*
 - Mikroclerici – tekuté syřidlo
- **Kvasinkové**
 - Maxiren – tekuté syřidlo obsahující pouze chymosin a kvasinky *Kluyveromyces lactis*
- **Plísňové** – především rody *Mucor*, *Aspergillus*, *Fusarium*
 - Fromase – tekuté syřidlo (TEPLÝ et al., 1976)

3.11.2 Síla a dávka syřidla

Síla syřidla dle Soxhleta nám udává množství tekutého syřidla v ml, které srazí dané množství mléka za 40 minut při teplotě 35 °C. Cílem je zjistit dobu, za kterou

dojde k prvnímu objevení vloček κ -kaseinu působením syřidla. Síla syřidla se mění v závislosti na výrobci (GAJDŮŠEK, 1998).

Syřidlo ztrácí svoji sílu deklarovanou na obale výrobku v čase, proto je nutné momentální sílu vypočítat pomocí vzorce:

$$S = \frac{2400 \cdot V_{ml}}{T \cdot V_{syř}}$$

Při významu jednotlivých proměnných:

S = síla syřidla

2400 = ideální čas srážení v sekundách (40 minut)

V_{ml} = objem sráženého mléka v ml

T = čas v sekundách, kdy se objeví první vločky

$V_{syř}$ = objem syřidla v ml

V současnosti je možné na obalech syřidel najít také novější značení síly syřidla, které se udává v jednotkách UP a IMCU. Jednotka syřidla UP představuje množství enzymu obsaženého v 1 ml roztoku, který může srazit 10 ml mléka za dobu 100 sekund při teplotě 35°C (SUKOVÁ, 2009).

$$UP = \frac{10 \cdot V_{ml}}{V_{syř} \cdot Tc}$$

Při významu jednotlivých proměnných:

UP = jednotka syřidla

V_{ml} = objem mléka v ml

Tc = doba srážení v sekundách

$V_{syř}$ = objem syřidla v ml

Dále je nutné vypočítat potřebnou dávku syřidla, a to dle vzorce:

$$V_{\text{syř}} = \frac{V}{s} \cdot \frac{35}{t} \cdot \frac{40}{T}$$

Při významu jednotlivých proměnných:

V = objem sraženého mléka v ml

T = teplota v °C

$V_{\text{syř}}$ = objem syřidla v ml

t = požadovaný čas srážení v minutách

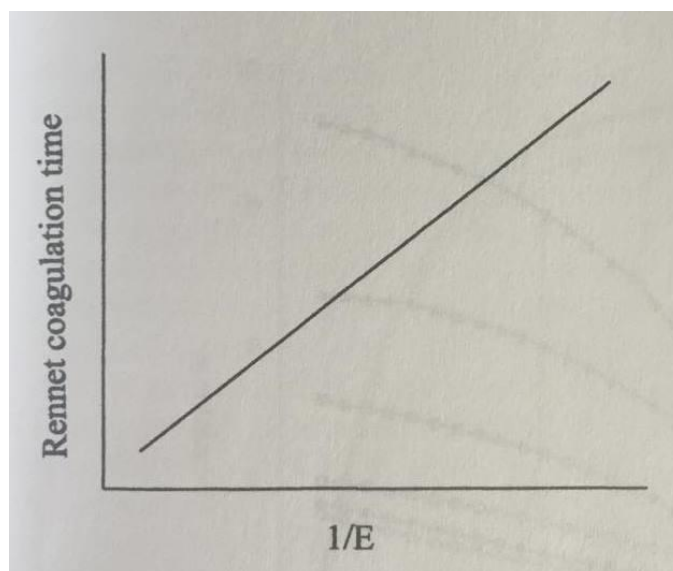
s = síla syřidla dle Soxhleta

35 = ideální teplota srážení v °C

40 = ideální čas srážení v minutách (ŠUSTOVÁ a SÝKORA, 2013)

Množství syřidla, které je pomocí tohoto vzorce vypočítáno, je rovno počáteční fázi koagulace. Pro potřeby ideálního průběhu zasyřování a jakosti výsledné sýřeniny se toto množství násobí číslem 2 (ŠUSTOVÁ a SÝKORA, 2013).

Vlastnosti mléka dojnice se mění ze dne na den, a proto je nutné přizpůsobit objem syřidla vlastnostem konkrétního mléka určenému k zasyření. Jak vyšší, tak nižší dávka syřidla vede následně ke ztrátám tuku a bílkovin do syrovátky. Příliš vysoká dávka syřidla způsobuje vznik tuhé sýřeniny a zvyšuje náklady na výrobu sýra. Důvodem je nejen cena syřidla, ale také vzniklý sýrový prach (velikost sýrového zrna pod 1 mm), který zadržuje vodu. Dochází k nadměrné proteolýze bílkovin a k nechtěným sensorickým vadám včetně vzniku hořké chuti. Naopak u příliš nízké dávky syřidla je výsledná sýřenina měkká a je zhoršený proces synereze. V případě, že je mléko pasterizováno, je při výpočtu dávky syřidla důležité vzít v potaz nejen použité teplotní režimy, ale i množství přidaného chloridu vápenatého. Platí, že čím vyšší je dávka syřidla, tím kratší je čas sýření (ŠUSTOVÁ a SÝKORA, 2013).



Obrázek č. 4: *Vztah mezi koncentrací enzymu (E) a RCT* (FOX et al., 2000)

3.11.3 Zásady pro vlastní použití syřidla

Zásady týkající se výroby, přepravy, podmínek skladování a vlastního použití výrazně ovlivňují vlastnosti samotného syřidla. Významné jsou primárně podmínky skladování syřidel, které zahrnují následovná kritéria:

- originální, nepoškozené obaly
- tmavé, suché místo skladování
- chladírenské podmínky skladování (4 – 8 °C)
- zabránění poklesu teplot, kdy by mohlo dojít ke zmrazení syřidla

Jsou-li tyto podmínky (deklarované na obale syřidla) dodrženy, je následný pokles síly syřidla v následujícím období od výroby (do cca 6 měsíců) jen nepatrný a pohybuje se kolem 5 %.

Pro bezproblémový průběh sýření je nutné také mikrobiologickou čistotu syřidel a sledovat kvalitu užívaného syřidla pomocí sensorického hodnocení. Mezi pozorované ukazatele při sensorickém hodnocení se řadí: čirost, sediment, zákal, charakteristická žlutohnědé zbarvení, kořeněná vůně, absence cizích pachů (ŠUSTOVÁ a SÝKORA, 2013).

3.12 Metody měření syřitelnosti

K měření syřitelnosti je v dnešní době dostupných několik přístrojů a metod, a to od subjektivní vizuální metody po objektivní přístroje založené na různých principech. Metody nám umožňují stanovit vhodnost mléka pro výrobu sýrů, vhodnost užívaných syřidel nebo napomáhají ke stanovení adekvátního množství přídavku vápenatých iontů do mléka, čímž dochází k optimalizaci výrobního procesu sýrů (ČERNÝ et al., 2003).

Obecně není jednoduché metody měření koagulace mezi sebou porovnat, a to z důvodu jejich nejednotné uniformity a rozdílného výchozího stavu mléka. Problémem je variabilita složení mléka, která se každým dnem liší, dále jsou k vyvolání koagulace používána různá syřidla, různé síly syřidel a měření může probíhat za různých fyzikálních podmínek (SOJKOVÁ et al., 2011).

Za cíl při vývoji nových metod, které slouží k posouzení technologické kvality mléka, je jejich zefektivnění, které zahrnuje zrychlení, zjednodušení, zpřesnění, snížení pracovní náročnosti a nákladů a tím zvyšují možnost zaručit co nejvyšší možný stupeň standardizace a optimalizace výrobního procesu (PRETTO, 2011).

3.12.1 Metody používané pro měření syřitelnosti

Začátky objektivního standardizovaného měření koagulace mléčných bílkovin jsou v literatuře dostupné od roku 1932, kdy se začaly první používat sofistikovanější techniky (SBODIO a REVELLI, 2012).

Mezi první standardizované metody se řadí Berringeova vizuální metoda, která stanovuje čas koagulace pozorováním agregace mléčné bílkoviny na stěnách nádoby. Poté se začaly využívat k měření koagulace první přístroje, mezi které se řadí například elektronový mikroskop nebo kolorimetr využívající princip fotometrie (SBODIO a REVELLI, 2012). Poté vznikl laktodynamometr, mechanický přístroj uzpůsobený k tomu, aby ve stejný čas hodnotil více vzorků mléka (obvykle 10 vzorků) po

dobu 30 minut při stanovené teplotě. Princip měření je založen na monitorování drobných sil a výsledkem je laktodynamografická křivka (SOJKOVÁ, 2011).

Za nedestruktivní metody jsou považovány reometrie nebo tzv. Hot Wire method, kdy je nárůst viskozity mléka úměrný zvýšení teploty kovu. Tato metoda je spolu se spektrometrií v blízké infračervené oblasti (NIR spektrometrie) často využívána také samotnými sýrárnami. K měření koagulace může také sloužit monitoring fluorescence (vlivem zbytků aminokyseliny tryptofan), měření nízké frekvence (50 - 100 Hz) ultrazvukem nebo měření elektrické vodivosti (SBODIO a REVELLI, 2012).

Jeden z nejrozšířenějších přístrojů k měření koagulace je formagraf. Měření probíhá za pomoci malého kyvadla ponořeného do vzorku lineárně oscilujícího vzorku mléka. V důsledku tvorby gelu dochází ke zpomalování pohybu kyvadla. Záblesk na každém konci vzorku je zaznamenán na fotografický papír. Výsledkem je diagram pevnosti v závislosti na čase (McMAHON a BROWN, 1982).

3.12.2 Vizualní metoda měření koagulace mléka

Koagulace bílkovin se často hodnotí pomocí vizualní metody (tzv. Berridgeova metoda), která spočívá v pozorování srážejícího se mléka volným okem. Po přidavku syřidla je stopován čas do doby, než jsou okem spatřeny první vločky vyvolané srážením kaseinu. Vzorek je pozorován za stálého mírného krouživého pohybu nejčastěji proti světlu. (SBODIO a REVELLI, 2012)

Výsledky metody ovlivňuje subjektivní hodnocení a zkušenosti osoby, která měření provádí a samotné vlastnosti mléka. Z těchto důvodů není považována za objektivní. U této metody není vhodné používat syřidla, které tvoří jemné, volným okem těžko zachytitelné vločky. (ČEJNA, 2006).

3.12.3 Nefelo-turbidimetrické metoda

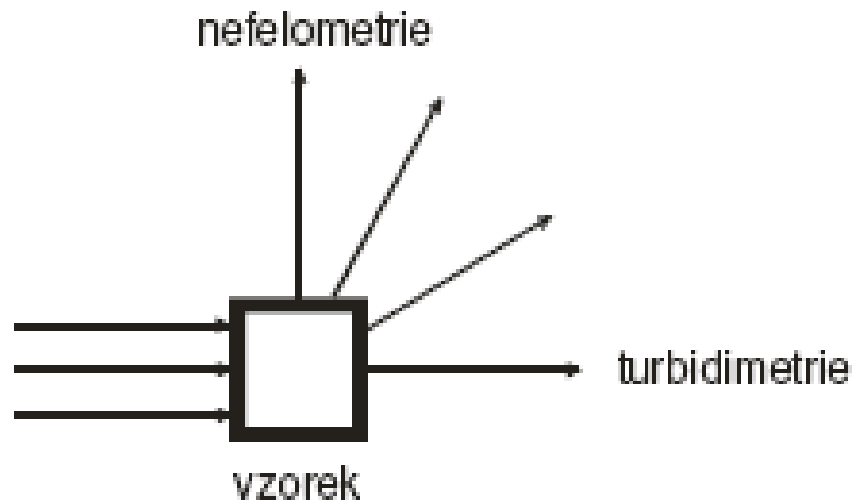
Syřitelnost se dá sledovat pomocí nefelo-turbidimetrického snímače koagulace mléka, který pracuje na principu nefelometrie a turbidimetrie (SOJKOVÁ, 2011).

Nefelo-turbidimetrický přístroj byl sestaven v roce 2003 Ing. Lubomírem Příbylem z Ústavu analytické chemie AV ČR a dle něj se jedná o metodu, která umožňuje zavedení optimalizovaného výrobního postupu a je schopna zaručit co nejvyšší možnou výtěžnost sýrů (ČERNÝ et al., 2003).

3.12.3.1 Princip metody

Nefelometrie je optická metoda, která měří intenzitu difúzně rozptýleného světla na dispergovaných částicích. Prochází-li světlo soustavou koloidních částic, vzniká kolmo na tento směr opalescence způsobena rozptylem světla na koloidních částicích (SOJKOVÁ, 2011). Tyndallův jev představuje difúzní rozptyl světla vycházející všemi směry vznikající v situaci, kdy paprsek prochází prostředím, které velmi málo absorbuje mikroskopické částičky a ty toto světlo odklánějí. Měření je pod úhlem, který je odlišný od směru dopadajícího záření (ČEJNA a PŘIBYLA, 2006).

Detektor přístroje převádí intenzitu dopadajícího světla na elektrický signál. Velikost napětí je funkcí intenzity světla. V průběhu tvoření sraženiny dochází k poklesu optického signálu (turbidimetrie) a tedy i k poklesu měřeného napětí. V praxi má tento pokles sigmoidní tvar. Výsledkem je křivka s inflexním bodem, který vyjadřuje čas, ve kterém je od počátku měření největší rychlost změny optického signálu. Průběh je pomocí softwaru derivován a minimum na derivační křivce odpovídá výslednému vysrážení parakaseinu. Optická metoda turbidimetrie (anglicky turbid = zakalený) měří intenzitu světla procházejícího vzorkem v původním směru (ČEJNA a PŘIBYLA, 2006).



Obrázek č. 5: *Nefelometrie, turbidimetrie* (VEJRAŽKA, 2009)

3.12.3.2 Výpočet doby srážení při použití nefelo-turbidimetru

Pro stanovení časového intervalu od zasyření mléka do okamžiku začátku krájení sýřeniny lze použít empirický vztah:

$$T_{cut} = \alpha + \beta \cdot T_{max}$$

Při významu proměnných:

T_{cut} = čas od zasyření mléka do začátku krájení sýřeniny

T_{max} = čas od zasyření mléka do začátku tvorby prvních vloček kaseinu

α = empirický faktor (lze přiřadit i hodnotu 0)

β = empirický faktor

- faktor vyjadřuje, kolikrát je celkový čas potřebný k sýření mléka delší, než je čas od začátku přidavku syřidla do doby vyvločkování para-kaseinu.

3.12.3.3 Výhody metody

Výhody nefelo-turbidimetrického snímače mléka jsou podle PŘIBYLA, (<http://www.aclp.eu/mleko1.html>) následující:

- přesnost a objektivnost,
- rychlost vyhodnocení měření,
- malý objem vzorku,
- možnost archivace naměřených dat,
- nízké náklady na pořízení přístroje,
- jednoduchá manipulovatelnost.

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Vzorky mléka a jejich úprava

Pro potřeby měření této diplomové práce byly použity bazénové vzorky syrového kravského mléka z automatu. Syrové mléko představuje mléko, které:

- nebylo pasterováno
- nebylo odstředěno (obsah tuku nebyl upraven žádnou technologickou operací)
- nebylo vystaveno procesu homogenizace, kterou by tukové globule podlehly strukturálním změnám (SUKOVÁ, 2010)

Mléko bylo zakoupeno v brněnském automatu v měsíci březen 2015 a použito v den nákupu poté. Mléko bylo vytemperováno na teplotu 42 °C a zchlazeno na teplotu 20 °C. Teplota byla měřena ponorným teploměrem. Následně bylo mléko rozčleněno na celkem 20 vzorků dle rozdělení znázorněného v tabulce:

Tabulka č. 4: *Rozdělení vzorků mléka*

Mléko	Přídavek CaCl₂	počet vzorků (100ml)
Syrové	Ne	4
Pasterované	Ne	4
Pasterované	Ano - 20 µl	4
Pasterované	Ano - 30 µl	4
Pasterované	Ano - 40 µl	4

4.1.1 Základní laboratorní analýzy mléka

Před měřením koagulace byla u mléka provedena základní laboratorní analýza, která může mít vliv na sýřitelnost mléka.

4.1.1.1 Titrační kyselost

Použité chemikálie:

- NaOH (0,25 mol/l)
- fenolftalein
- 2% ethanolový roztok $\text{CuSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$

Postup stanovení:

1. Příprava srovnávacího roztoku, který slouží k porovnání růžového zbarvení při titraci vzorku mléka: 50 ml mléka odměřeného pipetou je převedeno do titrační baňky + přídavek 1 ml roztoku síranu kobaltnatého (5 g $\text{CuSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ve 100 ml H_2O)
2. Příprava byrety: naplnění roztokem NaOH o koncentraci 0,25 mol/l
3. Příprava vzorku mléka: Pipetou odměřených 50 ml mléka je převedeno do titrační baňky, kde je po přídavku 2 ml fenolftaleinu titrováno za stálého míchání standardním roztokem NaOH do slabě růžového zbarvení srovnávacího roztoku, které vydrží nejméně 30 sekund
4. Výpočet kyselosti mléka v °SH a přepočteno na 100 ml vzorku dle vzorce:

$$x = 2 \cdot a \cdot f$$

při významu proměnných:

a = průměrná spotřeba roztoku NaOH (v ml)

f = faktor 0,25 mol/l NaOH

Platí, že: 1 ml NaOH \approx 1° SH \approx 0,0225 % kyseliny mléčné ve výrobku (JANŠTOVÁ a NAVRÁTILOVÁ, 2014).

4.1.1.2 *pH*

Skleněná elektroda byla vložena do vzorku mléka o teplotě 20 °C a číselný údaj byl po ustálení hodnoty odečten z displeje pH metru (ŠUSTOVÁ, 2005).

4.1.1.3 *Obsah vápníku*

Pro stanovení vápníku v mléce byla zvolena komplexometrická titrace. Výsledek je udáván v jednotkách g/l (ŠUSTOVÁ, 2005).

Použité chemikálie:

- Chelaton III (0,01 mol/l)
- KOH (4 mol/l)
- Fluorexon

Postup stanovení:

1. 1 ml vzorku mléka byl napipetován do titrační baňky a zředěn malým množstvím destilované vody
2. Po přidavku 5 ml roztoku 4 mol/ l KOH byl obsah baňky doplněn destilovanou vodou na 50 ml
3. Byl přidán indikátor fluorexon
4. Vzorek byl titrován chelatonem III do vymizení žlutozelené fluorescence s přechodem barvy do světle růžové
5. Výpočet obsahu vápníku:

$$x = V_1 \cdot 0,401 \cdot f$$

při významu proměnných:

V_1 = objem chelatonu III (v ml)

f = faktor chelatonu III

4.1.1.4 N-test

Použité chemikálie:

- Reagenční roztok

Postup stanovení:

Na Petriho misce byl pozorován vzorek mléka (2ml) smíchaný s reagens o stejném množství. Po dokonalém promísení složek je konzistence výsledného roztoku srovnávána s výsledky uvedenými v obrázku obrázku č. 6, vzorek je zařazen do tříd 0 – 4.

N - test	Popis reakcí N-testu
0 (negativní)	V šikmo dopadajícím světle se netvoří ulpívající film se zvlněným povrchem. V kolmém pohledu nepozorujeme tvorbu závoje na dně misky. Při krouživých pohybech se směs s nezměněnou konzistencí rozprostírá po obvodu misky.
+ (1)	V šikmo dopadajícím světle, při střídavém naklánění misky pozorujeme na dně ulpívající a opožděně stékající film se zvlněným povrchem. Tento stav má tendenci během 60 s vymizet. V kolmém pohledu nepozorujeme tvorbu závoje na dně misky. Při krouživých pohybech se směs stejnoměrně rozprostírá po obvodu misky.
++ (2)	V šikmo dopadajícím světle pozorujeme při naklánění misky výrazněji odlišitelný, na dně ulpívající a opožděně stékající film se zvlněným povrchem. V kolmém pohledu pozorujeme tvorbu závoje na dně misky. Při krouživých pohybech se směs stejnoměrně rozprostírá po obvodu misky. Uvedené příznaky přetrvávají déle než 1 min. s výraznou tendencí k úbytku intenzity.
+++ (3)	V šikmo dopadajícím světle pozorujeme při naklánění misky velmi výraznou tvorbu na dně ulpívajícího, opožděně stékajícího filmu se zvlněným povrchem. V kolmém pohledu pozorujeme výrazný závoj. Při krouživých pohybech se směs stejnoměrně rozprostírá po obvodu misky. Uvedené příznaky nejeví tendenci ke snížení výraznosti intenzity.
++++ (4)	V šikmo dopadajícím světle pozorujeme při naklánění misky velmi výraznou tvorbu na dně ulpívajícího, opožděně stékajícího filmu se zvlněným povrchem. V kolmém pohledu pozorujeme na dně misky tvorbu velmi výrazného závoje. při krouživých pohybech se silně viskózní směs shlukuje uprostřed misky.

Obrázek č. 6: Výsledek N-testu (ŠUSTOVÁ, 2005)

4.1.2 Tepelné ošetření

Mléko z automatu bylo po temperaci rozděleno na mléko syrové a na mléko, které bude vystaveno tepelnému ošetření. Bylo předpokládáno, že vlivem tepelného ošetření bude čas potřebný ke koagulaci u pasterovaného mléka delší než u mléka syrového.

Pasterované mléko bylo vystaveno tepelnému ošetření 72 °C, 20 sekund. Tento pasterační režim byl zvolen jako nejvhodnější, neboť jeho vlivem nedochází k výraznému zhoršení technologických vlastností mléka. Tento režim je často využíván mlékárnami pro čerstvé sýry.

Postup:

Mléko bylo za stálého míchání postupně přivedeno k pasterační teplotě 72 °C. Teplota byla kontrolována ponorným teploměrem. Po dosažení této teploty bylo stopkami odměřeno 20 sekund. Poté následovalo zchlazení mléka na teplotu sýření.

4.1.3 Přídavek syřidla

Přídavek proteolytického enzymu do mléka vyvolá srážení bílkovin. Pro potřeby této diplomové práce byly zvoleny syřidla chymosinové, které se pro své vlastnosti řadí k nejčastěji používaným syřidlům. Konkrétně se jednalo o syřidla CHY-MAX a Laktochym. Bližší informace o syřidlech jsou součástí tabulek č. 5. a č. 6.

Tabulka č. 5: *CHY-MAX M200*

Tekutý mikrobiální koagulant druhé generace	
Výrobce:	CHR. HANSEN, Dánsko
Účinnost:	min. 190 IMCU/1 ml
Obsahuje:	enzym, jedlou sůl, benzoát sodný (méně než 0,5 %)
Min. trvanlivost do:	8/15
Trvale skladované při požadované teplotě skladování: 0 – 8 °C.	

Tabulka č. 6: *Laktochym*

Tekutý Laktochym CZ 1068 ES	
Výrobce:	MILCOM, a.s., Česká republika
Účinnost:	3,51389
Obsahuje:	syřidlový koncentrát, voda, sůl, líh čistý, eugenol, thymol
Min. trvanlivost do:	3/15
Skladovat v chladu a temnu.	

Před samotným přidavkem syřidla do mléka se určuje vhodné ředění syřidlo:destilovaná voda pro účely dosažení optimálních podmínek koagulace. Posuzován je čas potřebný k prvnímu vyvločkování, který se ideálně nachází v intervalu 120 – 240 sekund. Použitá destilovaná voda musí splňovat podmínku zdravotní nezávadnosti.

Postup:

Pro zjištění vhodného poměru ředění syřidel bylo provedeno samostatné měření, na základě kterého bylo zvoleno ředění.

Tabulka č. 7: *Ředění CHY-MAXu 1:5*

syřidlo	ředění	čas NEF (s)	čas VIZ (s)
CHY-MAX	0	-	37
	1	92	53
	2	100	83
	3	118	113
	4	133	128
	5	149	152
	6	168	184
	7	177	205
	8	194	215
	9	222	269

Tabulka č. 8: Ředění Laktochymu 1:0

syřidlo	ředění	čas NEF (s)	čas VIZ (s)
Laktochym	0	145	148
	1	228	245
	2	400	435

Na základě výsledků u CHY-MAXu bylo k 1 ml syřidla pipetou přidáno 5 ml destilované vody, v případě Laktochymu nebylo zvoleno žádné ředění. K vyvolání koagulace byl do mléka přidán 1 ml takto připraveného syřidla.

Výsledné ředění tedy bylo: 1:5 u CHY-MAXu a 1:0 u Laktochymu.

4.1.4 Přídavek chloridu sodného

Přídavek CaCl_2 byl zvolen tak, aby se koncentrace vápenatých iontů ve vzorcích zvyšovala, a to od 0 u syrového i pasterovaného mléka po 40 μl u mléka pasterovaného. Bylo předpokládáno, že s vyšším přídávkem CaCl_2 bude čas potřebný ke koagulaci mléka kratší a jakost výsledné sýřeniny lepší. V případě této diplomové práce byl pro potřeby měření zvolen 36% roztok od českého výrobce MILCOM a.s. s datem výroby 10/2014.

Postup:

Do připravených vzorků mléka (100 ml) v jednotlivých kádinkách byl přidáván CaCl_2 po 20,30 nebo 40 μl mikropipetou dle požadované výsledné koncentrace ve vzorku.

4.2 Provedení měření

Měření koagulace mléka, při kterém byly mezi sebou porovnávány metody (vizuální a přístrojová metoda využívající nefelo-turbidimetrického snímače koagulace mléka), probíhalo začátkem roku 2015 v laboratoři Mendelovy univerzity v Brně na ústavu technologie potravin.

Těsně před samotným provedením měření byla kádinka se vzorkem mléka vytemperována v termostatu na teplotu 35 °C. Vzorek mléka představoval objem 100 ml, který byl do kádinky převeden pomocí pipety. Po temperaci vzorku byl přidán 1 ml chymosinového syřidla. Syřidlo bylo do vzorku mléka z pipety vyfukováno. V případě syřidla CHY-MAX se jednalo o zředěné syřidlo v poměru 1:5 (1 díl syřidla k 5 dílům destilované vody), v případě syřidla Laktochym se jednalo o nezředěné syřidlo.

Od prvního kontaktu mléka se syřidlem byly zmáčknuty stopky a měřen čas do objevení prvních vloček. Měřena byla doba od zasýření k prvnímu srážení představující změnu konzistence mléka srážením kaseinových micel. Po celou dobu měření byl vzorek mléka se syřidlem promícháván a pozorován film na stěně baňky, aby byly první vločky zachyceny co nejpřesněji. Každý vzorek byl pro zvýšení objektivnosti podroben měření dvakrát a z těchto čísel byl vypočítán průměr, který se porovnával s časem koagulace, který byl naměřen nefeloturbidimetricky. Výsledky byly statisticky zpracovány pomocí programu SPSS, což je statistický a analytický software. Statistické porovnání metod sloužících k měření sýření proběhlo pomocí programu SPSS za použití t-testu pro párová data.

Spolu s optickou metodou bylo prováděno také měření pomocí přístroje zvaného nefelo-turbidimetrický snímač koagulace mléka, kde výsledkem je křivka s inflexním bodem představujícím čas koagulace mléka. Pomocí stříkačky byl promíchaný vzorek mléka se syřidlem podroben 5 minutovému programu. Stříkačka byla vložena do přístroje a sloužila jako měřicí kolona, kterou procházelo světlo. Program započnul přesně v době, kdy stopky ukazovaly 30 sekund, tedy přesně 30 sekund od prvního kontaktu mléka se syřidlem. Vypozorovali jsme, že přístroj má zpoždění 3 sekundy.

Z tohoto důvodu je nutné připočítat k době, která představuje inflexní bod, přesně 33 sekund.

4.3 Statistické zpracování dat

Naměřená data byly zpracovány pomocí programu SPSS za použití procedury Paired Two-Independent Samples = t-test pro párová data. Pojem „párová“ určuje, že porovnávaná data jsou spojená faktorem. V tomto případě se jedná o měření stejného syřidla.

Jako výsledek statistického testu jsou v této práci uváděny hodnoty:

t = hodnota testové statistiky

df = stupeň volnosti

p – hodnota = dosažená hladina významnosti

4.4 Hodnocení jakosti sýřeniny

Zasýřené mléko bylo po hodnocení syřitelnosti vizuální metodou (objevení prvních vloček na stěně nádoby) ponecháno v klidovém stavu v termostatu při teplotě 35 °C. Po uplynutí jedné hodiny byly vzorky vyhodnoceny dle tabulky č. 9 (GAJDŮŠEK, 1998).

Tabulka č. 9: *Hodnocení kvality sýřeniny* (GAJDŮŠEK, 1998)

Třída	Vzhled sýřeniny a syrovátky
1	Vzhled sýřeniny: velmi dobrá, pevná, po vyklopení zachovává tvar
	Syrovátka: čirá, žlutozelená
2	Vzhled sýřeniny: dobrá, méně pevná, méně dobře zachovává tvar
	Syrovátka: bělavá, nazelenalá, nedokonalé vylučování
3	Vzhled sýřeniny: špatná, měkká, částečně nedrží pohromadě
	Syrovátka: mléčně bílá
4	Vzhled sýřeniny: velmi špatná, nedrží pohromadě
	Syrovátka: mléčně bílá
5	Nezřetelné nebo žádné vylučování kaseinu

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Kravské mléko z automatu bylo v rámci měření podrobena základním rozborům a poté zasýřeno chymosinovými syřidly. Použitými syřidly byly Laktochym a CHY-MAX v optimálním ředění, které bylo zvoleno tak, aby se čas koagulace pohyboval kolem 150 sekund (+/- 5 sekund). Byl posuzován vztah mezi metodami, který byl statisticky vyhodnocen. Dále práce sleduje vztah syřitelnosti k tepelnému ošetření a k přidavku CaCl_2 a posuzuje ekonomickou náročnost výroby z pohledu syřidel. Hodnocení jakosti sýřenin slouží k posouzení tohoto technologického procesu a použitých syřidel.

5.1 Výsledky mléka 12.3.2015

Tabulka č. 10: *Výsledky laboratorní analýzy mléka ze dne 12.3.2015*

	Spotřeba (ml)	Faktor	Výsledek
Titrační kyselost (°SH)	3,2	1,0471	6,7
pH	-	-	6,71
Stanovení vápníku (g/l)	3,3	1	1,32
N-test	-	-	2

Podle hodnoty titrační kyselosti je mléko vhodné k dalšímu zpracování (je v rozmezí 6,5 – 7,8 °SH). Vzorčky mléka po promíchání s reagens změnily konzistenci, která byla do 30 sekund od smíchání kapalin viskózního charakteru s uplívajícím filmem na skle Petriho misky. Vzorčky byly proto zařazeny do třídy č. 2. Počet buněčných elementů nepřesahuje hranici, která by činila toto mléko nevhodné k sýrařské produkci.

5.1.1 Výsledky času koagulace vzorků

Tabulky zpracovaných výsledků jsou součástí této kapitoly a slouží k přehlednému porovnání metod a jednotlivých syřidel při významu zkratk:

- VIZ = vizuální metoda (čas koagulace naměřený vizuální metodou)
- NEF = přístrojová metoda (čas koagulace naměřený nefelo-turbidimetrickým snímačem koagulace mléka)
- rozdíl = rozdíl mezi průměrem vypočítaným z hodnot naměřených vizuální metodou č. 1 a č. 2 a mezi přístrojovou metodou

Tabulka č. 11: *Výsledky měření 12.3.2015 – syřidlo CHY-MAX(1:5)*

12.3. 2015	CaCl ₂ (μl)	VIZ č. 1 (s)	VIZ č. 2 (s)	VIZ průměr (s)	NEF (+33s) (s)	Rozdíl (s)	jakost sýřeniny
CHY- MAX	-	158	158	158	152	+6	1 - 2
	-	163	164	163,5	152	+11,5	1
	-	167	168	167,5	141	+26,5	2
	-	169	169	169	140	+29	2
	20	149	144	146,5	137	+9,5	3
	20	148	147	147,5	136	+11,5	1 - 2
	30	140	137	138,5	129	+9,5	2
	30	137	138	137,5	137	+0,5	1 - 2
	40	126	122	124	125	-1	1 - 2
	40	128	130	129	126	+3	1

Tabulka č. 12: *Statistické vyhodnocení - syřidlo CHY-MAX (12.3.2015)*

	Paired Differences	t	df	p - hodnota
CHY-MAX VIZ	10,6	3,33	9	0,009
CHY-MAX NEF				

V případě syřidla CHY-MAX byly naměřené rozdíly mezi hodnotami mezi vizuální metodou a nefeloturbidimetrickou metodou 10,6 sekundy. Rozdíl je statisticky významný na hladině významnosti 99 %.

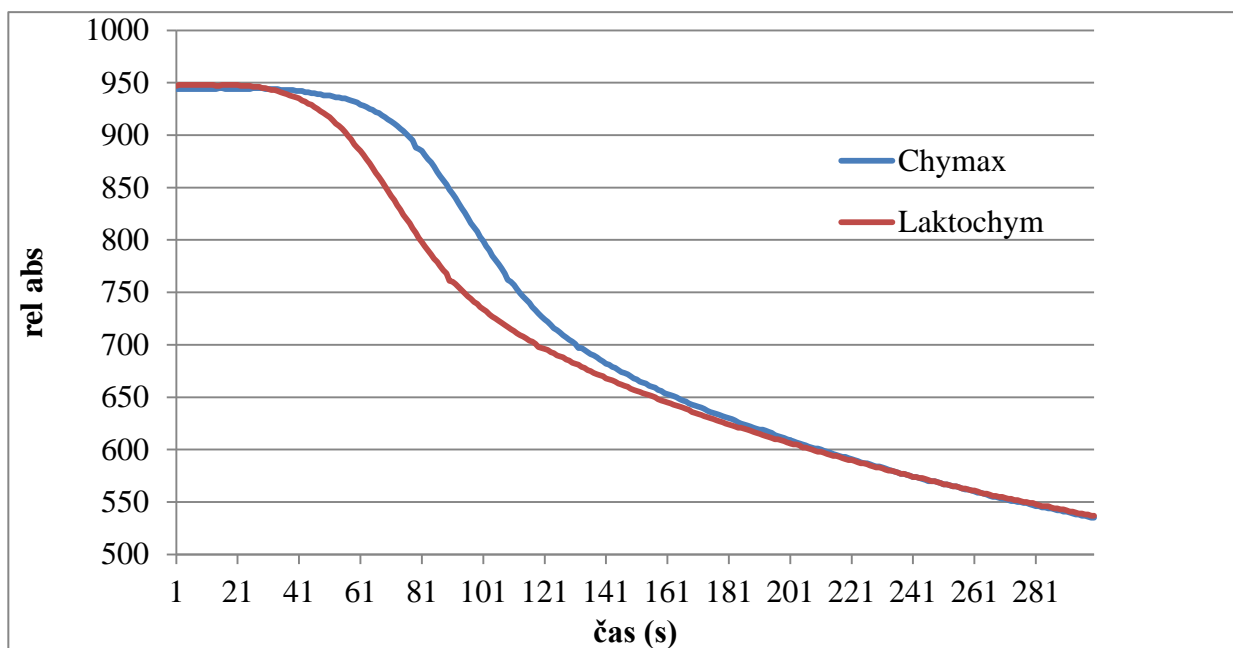
Tabulka č. 13: *Výsledky měření 12.3.2015– syřidlo Laktochym (1:0)*

12.3. 2015	CaCl₂ (μl)	VIZ č. 1 (s)	VIZ č. 2 (s)	VIZ průměr (s)	NEF (+33s) (s)	Rozdíl (s)	jakost sýřeniny
Lakto- chym	-	133	131	132	139	-7	1 - 2
	-	132	129	130,5	137	-6,5	1 - 2
	-	148	147	147,5	140	+7,5	1 - 2
	-	147	146	146,5	139	+7,5	1 - 2
	20	118	124	121	119	+2	1
	20	119	121	120	118	+2	1
	30	112	113	112,5	113	-0,5	1
	30	118	116	117	116	+1	1
	40	104	102	103	109	-6	1

Tabulka č. 14: *Statistické vyhodnocení - syřidlo Laktochym (12.3.2015)*

	Paired Differences	t	df	p-hodnota
Laktochym VIZ	0	0	8	1
Laktochym NEF				

Při použití syřidla Laktochym byly naměřené rozdíly mezi hodnotami vizuální a přístrojové metody zcela stejné, tedy statisticky nevýznamné.



Obrázek č. 7: *Porovnání syřitelnosti nefelo-turbidimetricky pomocí různých syřidel syrového mléka*

Na grafu vidíme, že inflexní bod (bod kdy dojde k vyvločkování kaseinu) syrového mléka je lépe viditelný u syřidla Laktochymu než u CHY-MAXu. Tomu odpovídá i vizuální metoda, kde syřitelnost pomocí Laktochymu je 130,5 sekundy, kdežto u CHY-MAXu je syřitelnost 163,5 sekundy.

5.2 Výsledky mléka 24.3.2015

Tabulka č. 15: *Výsledky laboratorní analýzy mléka ze dne 24.3.2015*

	Spotřeba (ml)	Faktor	Výsledek
Titrační kyselost (°SH)	3,35	1,0471	7,02
pH	-	-	6,69
Stanovení vápníku (g/l)	2,5	1	1
N-test	-	-	2

Podle hodnoty titrační kyselosti je mléko vhodné k dalšímu zpracování (je v rozmezí 6,5 – 7,8 °SH). Vzorky mléka po promíchání s reagens změnily konzistenci, která byla do 30 sekund od smíchání kapalin viskózního charakteru s uplívajícím filmem na skle Petriho misky. Vzorky byly proto zařazeny do třídy č. 2. Počet buněčných elementů nepřesahuje hranici, která by činila toto mléko nevhodné k sýrařské produkci.

5.2.1 Výsledky času koagulace vzorků

Tabulky zpracovaných výsledků jsou součástí této kapitoly a slouží k přehlednému porovnání metod a jednotlivých syřidel při významu zkratk:

- VIZ = vizuální metoda (čas koagulace naměřený vizuální metodou)
- NEF = přístrojová metoda (čas koagulace naměřený nefelo-turbidimetrickým snímačem koagulace mléka)
- rozdíl = rozdíl mezi průměrem vypočítaným z hodnot naměřených vizuální metodou č. 1 a č. 2 a mezi přístrojovou metodou

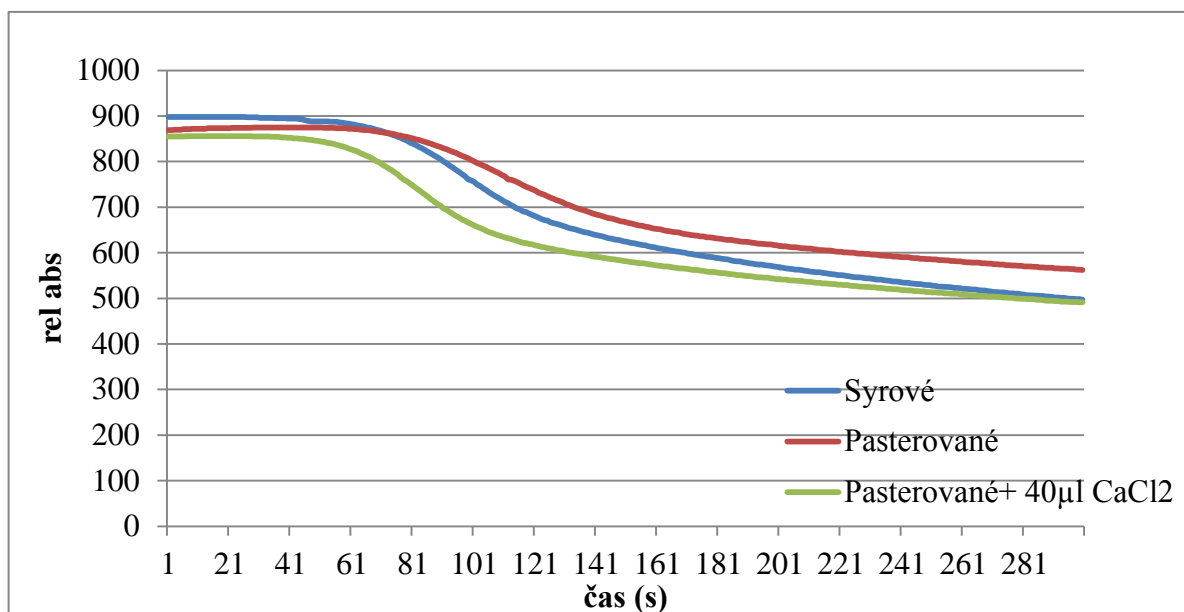
Tabulka č. 16: *Výsledky měření ze dne 24.3.2015– syřidlo CHY-MAX (1:5)*

24.3. 2015	CaCl₂ (μl)	VIZ č. 1 (s)	VIZ č. 2 (s)	VIZ průměr (s)	NEF (+33s) (s)	Rozdíl (s)	jakost sýřeniny
CHY-MAX	-	168	167	167,5	151	+16,5	1
	-	167	169	168	152	+16	1
	-	208	203	205,5	160	+45,5	2
	-	221	223	222	163	+59	2
	20	172	174	173	144	+29	1 - 2
	20	175	179	177	148	+29	1
	30	156	156	156	139	+17	1
	30	162	146	154	142	+12	1 - 2
	40	143	145	144	132	+12	1 - 2
	40	147	140	143,5	132	+11,5	1

Tabulka č. 17: *Statistické vyhodnocení - syřidlo CHY-MAX (24.3.2015)*

	Paired Differences	t	df	p - hodnota
CHY-MAX VIZ CHY-MAX NEF	24,75	4,849	9	0,001

Stejně tak jako u předchozího měření při použití syřidla CHY-MAX byly naměřené rozdíly mezi hodnotami mezi vizuální metodou a nefeloturbidimetrickou metodou 24,75 sekundy, proto je rozdíl statisticky významný na hladině významnosti 99 %.



Obrázek č.8: Porovnání syřitelnosti syrového, pasterovaného a pasterovaného mléka s přidavkem 40 µl CaCl₂

Při srovnání mléka syrového, pasterovaného a pasterovaného s přidavkem 40 µl CaCl₂ je viditelné, že nejlepší syřitelnost má mléko pasterované s přidavkem chloridu vápenatého. Nejhorší syřitelnost je u mléka pasterovaného bez přidavku CaCl₂, kde dochází ke změnám rozpustnosti vápenatých iontů.

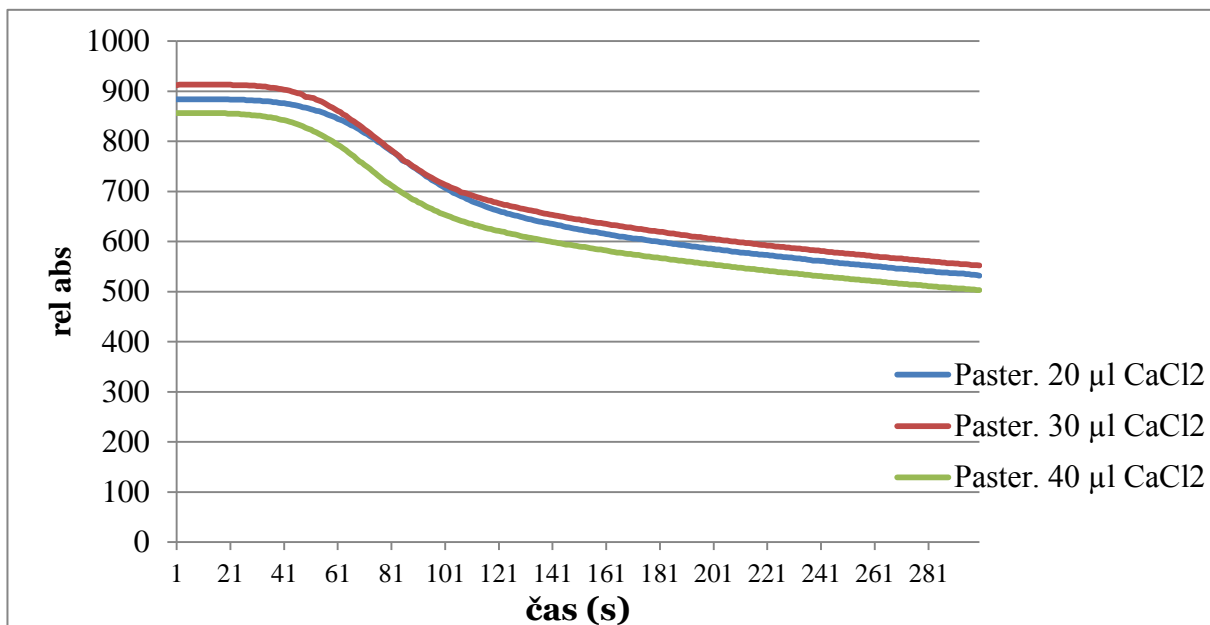
Tabulka č. 18: *Výsledky měření ze dne 24.3.2015– syřidlo Laktochym (1:0)*

24.3. 2015	CaCl₂ (μl)	VIZ č. 1 (s)	VIZ č. 2 (s)	VIZ průměr (s)	NEF (+33s) (s)	Rozdíl (s)	jakost sýřeniny
Laktochym	-	155	150	152,5	147	+5,5	1 - 2
	-	146	143	144,5	147	-2,5	1 - 2
	-	206	197	201,5	159	+42,5	3
	-	184	182	183	162	+21	2
	20	157	156	156,5	135	+21,5	2
	20	160	168	164	157	+7	2 - 3
	30	146	144	145	130	+15	1
	30	141	141	141	130	+11	1
	40	130	132	131	126	+5	1

Tabulka č. 19: *Statistické vyhodnocení – syřidlo Laktochym (24.3.2015)*

	Paired Differences	t	df	p - hodnota
Laktochym VIZ Laktochym NEF	14	3,173	8	0,013

U předchozího měření syřidla Laktochym byl rozdíl nulový – tedy statisticky nevýznamný. Avšak měření ze dne 24.3.2015 ukázalo rozdíl 14 sekund. Tento rozdíl je statisticky významný na hladině významnosti 99 %.



Obrázek č. 9: Porovnání syřitelnosti pasterovaného mléka s přidavkem 20,30 a 40 µl CaCl₂

Na obrázku č. 9 můžeme pozorovat, že čím větší přídavek chloridu vápenatého, tím kratší čas k zasýření mléka potřebujeme. U vyšších koncentrací chloridu vápenatého je kvalita výsledné sýřeniny lepší. Při koncentraci 30 a 40 µl CaCl₂ byla výsledná sýřenina jakosti 1, kdežto u přídávku 20 µl CaCl₂ byla výsledná jakost 2 – sýřenina byla méně pevná a hůře uvolňovala syrovátku.

5.3 Diskuze

Na základě těchto výsledků je možné tvrdit, že metody nepodávají stejné hodnoty výsledků a čas koagulace měřen vizuálně a s pomocí nefelo-turbidimetrického snímače koagulace mléka se statisticky významně liší. Také není možné tvrdit, že by výsledky měřeny vizuální metodou byly pozorovány v předstihu nebo naopak okem zaznamenány později než přístrojem. Platí, že rozdíl mezi jednotlivými metodami je do 60 sekund.

Obdobnou analýzou se zabývala studie publikovaná v roce 2011 (SOJKOVÁ et al., 2011), ve které byl čas koagulace mléka hodnocen u 16 bazénových vzorků vizuální metodou a s využitím nefelo-turbidimetru. Cílem bylo zjistit vztah mezi těmito metodami.

Rozdíly mezi jednotlivými metodami mohou být způsobeny různými vlivy. Ty, které jsou považovány za nejvýznamnější:

- **Výběr a ředění syřidla**

Testování byly podrobeny pouze dva druhy chymosinových syřidel, které byly voleny tak, aby jedno syřidlo (v případě této diplomové práce konkrétně Laktochym), tvořilo poměrně snadno detekovatelné vločky na stěně nádoby. Naopak, vločky bílkoviny sražené CHY-MAXem jsou velmi jemné a těžko zachytitelné. Také změna konzistence mléka na hustější v průběhu koagulace probíhá velmi pozvolna, což činí určení přesného času koagulace komplikovanějším. Použitý Laktochym nebyl ředěn destilovanou vodou, co se mohlo promítnout do výsledků. Vlastnosti samotného syřidla může ovlivnit mnoho faktorů, ze kterých jsou primárně důležité síla syřidla, ředění a jeho mikrobiologická kvalita.

- **Ovlivnění výsledků**

Neobjektivnost naměřených výsledků může být způsobena také zkušenostmi pozorovatele. Pro zvýšení objektivnosti byl každý vzorek z dané skupiny měřen dvakrát, poté byl stanoven průměr a porovnán s časem koagulace naměřeným pomocí nefelo-turbidimetru.

Vločky vyvolané působením CHY-MAXu jsou jemné a při měření vizuální metodou poměrně náročně zachytitelné volným okem. V případě Laktochymu jsou naopak hrubší vločky na stěně skleněné baňky pouhým okem viditelné poměrně jednoduše. Z tohoto důvodu bylo očekáváno, že rozdíly mezi výsledky naměřenými vizuální a přístrojovou metodou budou u Laktochymu menší než u CHY-MAXu.

5.4 Vliv koncentrace syřidla na ekonomiku výroby sýrů

Měření koagulace je možné v provozních podmínkách využít z ekonomického pohledu k optimalizaci výrobního procesu. Adekvátní množství syřidla v optimálním ředění snižuje náklady na výrobu. Výsledná jakost sýřeniny se projevuje v dobré synerezi a vyšší výtěžnosti. Na výrobu přibližně 10 kg sýru je potřeba 100 l mléka (ŠUSTOVÁ a SÝKORA, 2013). Na základě výpočtů z této diplomové práce (množství syřidla a jeho ředění) je k zasýření 100 l mléka syřidlem CHY-MAX potřeba 0,2 l tohoto syřidla a ke stejnému množství mléka sýřeného Laktochymem je potřebný 1 l syřidla.

Tabulka č. 20: Výpočet objemu syřidla na 100 l mléka

druh syřidla	ředění	objem syřidla na 100 l mléka	přibližná cena za syřidlo
Laktochym	1:00	1,0 l	500 Kč s DHP
CHY-MAX	1:05	0,2 l	198 Kč s DPH

Cena za syřidlo nutné k zasýření 100 l mléka je za použití CHY-MAXu o 302 Kč levnější než za použití Laktochymu. Je tedy možné tvrdit, že pro optimalizaci nákladů je vhodnější používat syřidlo CHY-MAX o síle min 190 IMCU/ml ředěné destilovanou vodou v poměru 1:5, za předpokladu, že výsledná sýřenina bude obdobných vlastností.

Pokud použijeme statisticky průkazné výsledky z našeho měření, tak můžeme pozorovat, že měření syřitelnosti pomocí nefelometrického snímače koagulace mléka je výhodné jak z ekonomického hlediska, tak na jakost výsledné sýřeniny.

Oko:

$$S = \frac{100 \cdot 2400}{173}$$

$$S = 1:1387,28$$

$$D = \frac{100000}{1387,28} * \frac{35}{35} * \frac{40}{40}$$

$$D = 72,1 \text{ ml} * 2 = 144,2 \text{ ml}$$

Nefelo-turbidimetr:

$$S = \frac{100 \cdot 2400}{144}$$

$$S = 1:1666,66$$

$$D = \frac{100000}{1666,66} * \frac{35}{35} * \frac{40}{40}$$

$$D = 60,0 \text{ ml} * 2 = 120 \text{ ml}$$

Jestliže nefelo-turbidimetr zachytí koagulaci mléka o 29 sekund dříve než oko, ušetříme při zasyřování 100 l mléka 24,2 ml syřidla. Pokud použijeme průměrnou cenu Laktochymu 500 Kč/ 1 l syřidla ušetříme 12,10 Kč. V případě, že použijeme CHY-MAX (průměrná cena 990 Kč/ 1 l) ušetříme 23,96 Kč na 100 l zasyřovaného mléka.

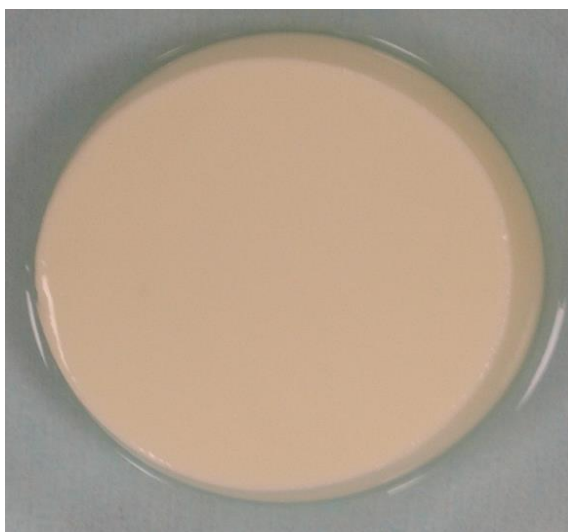
5.5 Hodnocení jakosti sýřeniny

Vzorky sýřenin byly po inkubaci v termostatu hodnoceny a zařazeny do jednotlivých tříd. Hodnocené sýřeniny dosahovaly poměrně dobrých vlastností, a tak je možné použité chymosinové syřidla na základě tohoto měření doporučit k výrobě sýrů za předpokladu dobré výtěžnosti. Pro zlepšení vlastností sýřeniny je doporučeno zvýšit přídavek vápenatých iontů. Zároveň je toto měření vhodně pro rozsáhlejší analýzy, soustřeďující se na vztah mezi dávkou syřidla a jakostí sýřeniny. Nejsou pozorovány výrazné rozdíly mezi sýřeninami vzniklé působením syřidla Laktochym a CHY-MAX.

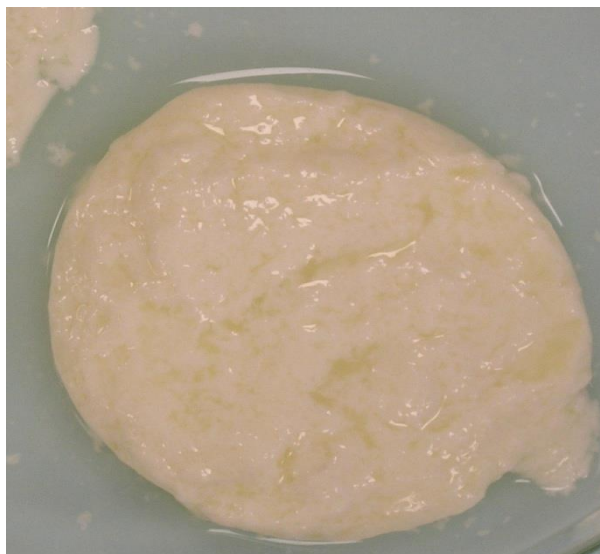


Obrázek č. 10: *Příklad syřeniny jakostní třídy 2 vzniklé ze syrového mléka působením CHY-MAXu*

Další vzorek mléka byl pasterován a obsahoval nejvyšší koncentraci CaCl_2 , která byla při měření použita, a to $40\mu\text{l}$. Je pravidlem, že s vyšším přídávkem CaCl_2 je jakost výsledné syřeniny lepší.



Obrázek č. 11: *Příklad syřeniny jakostní třídy I (Laktochym s přídávkem $40\mu\text{l}$ CaCl_2)*



Obrázek č. 12: *Příklad sýřeniny jakostní třídy 3 (CHY-MAX s přidavkem 20 μ l CaCl_2)*

5.6 Výsledky studií koagulace mléka s využitím nefelo-turbidimetru

Obdobnou analýzou se zabývala studie publikována v roce 2011 (SOJKOVÁ et al., 2011), ve které byl čas koagulace mléka hodnocen u 16 bazénových vzorků pomocí vizuální metody a s využitím nefelo-turbidimetru. Cílem studie bylo zjistit vztah mezi těmito metodami.

Studie probíhala za srovnatelných podmínek jako v případě této diplomové práce, a to z důvodů:

- bazénové vzorky mléky byly obdobných výchozích vlastností
- na základě dostupných dat byly nastaveny a dodrženy obdobné podmínky analýzy (teplota mléka, teplota vodní lázně, použité syřidlo a jeho koncentrace; objem analyzovaného mléka nebyl uveden)

V případě studie byly naměřeny rozdílné výsledky času koagulace mezi metodami, a to 139 sekund u vizuální metody a 58 sekund u metody přístrojové. Studie zdůvodňuje, že tento rozdíl mohl vzniknout subjektivním vlivem a dále interakcí mléka, enzymu a metody, kdy v daných podmínkách přístrojová metoda dříve zachytila

koagulaci bílkovin. Mezi těmito dvěma metodami byla zjištěna signifikantní závislost, a z tohoto důvodu autoři doporučují nefelo-turbidimetr pro potřeby sýrárny.

Náplň studie byla rozsáhlejší než náplň této diplomové práce. Autoři doplňují, že výpověď hodnoty času koagulace k následné možné technologické kvalitě sýrů, zejména ve smyslu jejich pravděpodobné pozdější konzistence a textury, se jeví jako méně významná (SOJKOVÁ et al., 2011).

Porovnáváním vizuální a přístrojové metody s využitím nefelo-turbidimetrického snímače koagulace mléka se zabývala také studie z roku 2005 (CHLÁDEK a ČEJNA, 2005). Na základě naměřených výsledků bylo zjištěno, že rozdíl mezi výsledky při porovnávání těchto dvou metod je 40 sekund. Je tomu tak z důvodu, že průměrný čas koagulace mléka zjištěn vizuální metodou (počet vzorků $n=30$), je 243 sekund, zatímco u stejného počtu vzorků za stejných podmínek metody je čas koagulace zjištěn nefelo-turbidimetrem 203 sekund. Závěrem studie je, že u vizuální metody dochází k opožděnějšímu odečítání vloček, než je tomu u metody přístrojové. Autoři studie, obdobně jako u experimentu z roku 2011, doporučují nefelo-turbidimetrický snímač koagulace mléka do provozních podmínek sýráren (CHLÁDEK a ČEJNA, 2005).

6 ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývá vztahem mezi metodami měření koagulace mléka s cílem zjistit, zda mezi těmito metodami existuje vztah a jak je možné v rámci rozsahu této práce ekonomicky optimalizovat výrobu sýrů prostřednictvím ovlivnění procesu syřitelnosti.

Všechna měření, která tato práce zahrnuje, jsou popsány v praktické části této diplomové práce. Syrové kravské mléko bylo před samotným měřením syřitelnosti podrobena základním rozborům, na základě kterých bylo vyhodnoceno jako mléko vhodné k použití na výrobu sýrů. Bazénový vzorek mléka byl po temperaci na 42 °C a následnému zchlazení na 20 °C rozdělen na 20 vzorků po 100 ml. Základní rozdělení mléka bylo na mléko syrové a pasterované, které bylo ošetřeno tepelným ohřevem 72 °C po dobu 20 sekund. Do vzorků pasterovaného mléka byl dále přidán CaCl_2 pro zlepšení procesu syřitelnosti v množství od 0 do 40 μl . Vliv přídavku CaCl_2 byl zohledněn také u hodnocení jakosti výsledné sýřeniny.

K zasýření mléka byly použity 2 rozdílná chymosinová syřidla. Laktochym tvoří poměrně snadno detekovatelné vločky na stěně nádoby, a proto je považován za vhodnější k měření syřitelnosti. Naopak, vločky bílkoviny sražené CHY-MAXem jsou velmi jemné a těžko zachytitelné. Ředění syřidla Laktochym bylo zvoleno 1:0 a CHY-MAX 1:5 z důvodu, aby se čas koagulace nacházel kolem 150 sekund (+/- 5 sekund), což je hodnota v ideálním rozmezí pro srážení mléka.

Vzorky mléka byly po zasýření posuzovány vizuální a přístrojovou metodou, pomocí kterých byl měřen čas koagulace. K měření času u vizuální metody sloužily stopky, které byly zapnuty v čase, kdy byl do vzorku mléka přidán 1 ml syřidla. Po důsledném promíchání byl vzorek odebrán stříkačkou a vložen do nefeloturbidimetru. V čase 30 sekund od začátku měření byl spuštěn 5 minutový program, výsledkem kterého je křivka s inflexním bodem představujícím čas koagulace. Vzorky měřeny vizuální metodou byly za stálého míchání pozorovány proti světlu a v čase, kdy byly na stěně nádoby spatřeny první vločky koagulace mléka, byly stopky zastaveny.

Pro zvýšení objektivnosti měření byly vizuální metodou měřeny 2 vzorky. Průměr těchto hodnot byl porovnáván s výsledky z nefelo-turbidimetru.

Na základě statistického zpracování dat bylo zjištěno, že rozdíl mezi průměrným měřením koagulace mléka vizuálně a přístrojově je ve třech případech statisticky významný. V případě měření syřidla Laktochym ze dne 12.3.2015 je rozdíl mezi naměřenou hodnotou vizuálně a přístrojově zcela shodný, tedy statisticky nevýznamný. V případě syřidla CHY-MAX byly naměřené rozdíly mezi hodnotami mezi metodami 10,6 sekundy dne 12.3.2015 a 24,75 sekundy dne 24.3.2015. Oba rozdíly byly statisticky významné na hladině významnosti 99 %. V případě měření syřidla Laktochym ze dne 24.3.2015 je rozdíl 14 sekund hodnocen jako statisticky signifikantní na hladině významnosti 99 %. Na základě těchto výsledků je možné tvrdit, že metody nepodávají stejné hodnoty výsledků a čas koagulace měřen vizuálně a s pomocí nefelo-turbidimetrického snímače koagulace mléka se statisticky významně liší. Také není možné tvrdit, že by výsledky měřeny vizuální metodou byly pozorovány v předstihu nebo naopak okem zaznamenány později než přístrojem. Platí, že rozdíl mezi jednotlivými metodami je do 60 sekund. Tyto výsledky byly porovnávány s výsledky výzkumů zabývajících se stejnou problematikou, které doporučují nefelo-turbidimetr k měření koagulace mléka pro komerční účely do sýráren.

Při srovnání mléka syrového, pasterovaného a pasterovaného s přísadkou 40 μl CaCl_2 bylo zjištěno, že nejlepší syřitelnost má mléko pasterované s CaCl_2 . Nejhorší syřitelnost byla zaznamenána u mléka pasterovaného bez přísadky CaCl_2 , kde dochází ke změnám rozpustnosti vápenatých iontů. Bylo zjištěno, že čím větší přísadka CaCl_2 , tím kratší byl čas potřebný k zasýření mléka. U vyšších koncentrací CaCl_2 je kvalita výsledné sýřeniny lepší, jelikož při koncentraci 30 a 40 μl CaCl_2 byla výsledná sýřenina jakosti 1, kdežto u přísadky 20 μl CaCl_2 byla výsledná jakost 2 – sýřenina byla méně pevná a hůře uvolňovala syrovátku.

Na základě výpočtů z této diplomové práce je k zasýření 100 l mléka syřidlem CHY-MAX potřeba 0,2 l tohoto syřidla a ke stejnému množství mléka sýřeného Laktochymem je potřebný 1 l syřidla. Cena za syřidlo nutné k zasýření 100 l mléka je za použití CHY-MAXu o 302 Kč levnější než za použití Laktochymu. Je tedy možné tvrdit, že pro optimalizaci nákladů je vhodnější používat syřidlo CHY-MAX o síle min 190 IMCU/ml ředěné destilovanou vodou v poměru 1:5, za předpokladu, že výsledná

sýřenina bude obdobných vlastností. Syřidlo je však na rozdíl od Laktochymu nutné ředit, k čemu se vztahuje vyšší pracnost. Jestliže nefelo-turbidimetr zachytí koagulaci mléka o 29 sekund dříve než oko, ušetříme při zasyřování 100 l mléka 24,2 ml syřidla. Pokud použijeme průměrnou cenu Laktochymu 500 Kč/ 1 l syřidla ušetříme 12,10 Kč. V případě, že použijeme CHY-MAX (průměrná cena 990 Kč/ 1 l) ušetříme 23,96 Kč na 100 l zasyřovaného mléka.

Hodnocené sýřeniny dosahovaly poměrně dobrých vlastností, a tak je možné na základě tohoto měření použité chymosinové syřidla doporučit k výrobě sýrů za předpokladu dobré výtěžnosti. Pro zlepšení vlastností sýřeniny je doporučeno zvýšit přísávek vápenatých iontů. Nejsou pozorovány výrazné rozdíly mezi sýřeninami vzniklé působením syřidla Laktochym a CHY-MAX.

7 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

AULDIST M. J., MULLINS C., O'BRIEN B., O'KENNEDY B. T., GUINEE T., 2002: *Effect of Cow Breed on Milk Coagulation Properties*. In: *Milchwissenschaft*, no. 3, 140 – 143 s., ISSN: 0026-3788

BUČEK, 2013: *Koagulace mléka při výrobě sýrů*. In: *Chov skotu*, č.1, roč. 10, [online]. Praha, ČMSCH a.s. [vid. 2.3.2015]. Dostupné z: http://www.crvcz.cz/Portals/0/Files/Ke%20stazeni/Chov%20skotu/CHS_02_2013.pdf

CECCHINATO A., CIPOLAT-GOTED C., CASELLAS J., PENASA M., ROSSONI A., 2012: *Genetic Analysis of Rennet Coagulation Time, Curd-firming Rate, and Curd Firmness Assessed Over an Extended Testing Period Using Mechanical and Near-infrared Instruments*. In: *Journal Dairy Science*, vol.98. ISSN 2012-5784

ČEJNA V., CHLÁDEK G., 2004: *Vliv stádia laktace na titrační kyselost a syřitelnost mléka dojníc českého strakatého plemene*. In: *Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků*, 33-34 s. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita, ISBN: 80-7157-771-5

ČEJNA V., RŮŽIČKOVÁ J., CHLÁDEK G., 2005: *Změny obsahu kaseinu vlivem stadia laktace a jeho vztah k vybraným ukazatelům mléka u dojníc holštýnského plemene skotu*. In: *Den mléka 2005*, 71 – 72 s., Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, ISBN: 80-213-1327-7

ČEJNA V., 2008. *Zkušenosti z mlékárny se syřitelností mléka ve vazbě na dodavatele mléka* [online]. Příbrav. [vid. 12.3.2015]. Dostupné z: <http://www.vuchs.cz/akce/2008-10-08-Rapotin/2008-10-08-Rapotin-Cejna.pdf>

ČEPIČKA J., 1995: *Obecná potravinářská technologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 246 s., ISBN 80-7080-239-1.

CHLÁDEK G., ČEJNA V., 2005: *Měření syřitelnosti mléka pomocí nefeloturbidimetrického snímače*. In: *Mléko a sýry*, 127-130 s. ISBN: 80-86238-48-2

JANŠTOVÁ B., 2012: *Technologie mléka a mléčných výrobků*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 141 s., ISBN 978-80-7305-635-3.

JANŠTOVÁ B., NAVRÁTILOVÁ P., 2014: *Návody do cvičení z technologie a hygieny mléka a mléčných výrobků*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 90 s. ISBN 978-80-7305-714-5

ESTEVEZ C.L.C., LUCEY J.A., WANG T., PIRES E.M.V., 2003: *Effect of the pH on the Gelation Properties of Skim Milk Gels Made From Plant Coagulants and Chymosin*. In: *Journal of Dairy Science*, no. 8, 2558-2567 s., ISSN: 0022-0302

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS: *Milk and Dairy Products in Human Nutrition - Questions and Answers* [online]. USA. [vid. 2.4.2015]. Dostupné z:

http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/newsroom/docs/Milk%20and%20Dairy%20Q&A.pdf

FORMAN L., 1996: *Mlékárenská technologie II*. 2 Vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 228 s., ISBN 80-7080-250-2

FOX P., GUINEE T., COGAN T., McSWEENEY P., 2000: *Fundamentals of cheese science*. USA: An Aspen Publication, 587 s., ISBN 0834212609.

GAJDŮŠEK S., 1995: *Požadavky na kvalitu mléka pro výrobu sýrů*. In: Zborník referátov z V. Medzinárodnej konferencie Nové poznatky v sýrarskej technológii a technike. Žilina: Edičné stredisko Domu techniky, 201 s., ISBN 80-967362-4-8.

GAJDŮŠEK S., 1998: *Mlékařství II*. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita, 197 s., ISBN 80-7157-342-6

GAJDŮŠEK S., 2003: *Laktologie*. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita, 78 s., ISBN 8071576573.

ČEJNA V., PŘIBYLA L., 2006: *Porovnání vizuální a nefelo-turbidimetrické metody pro měření syřitelnosti mléka*. In: *Den mléka 2006*, 110-111 s. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 172 s., ISBN: 80-213-14898-2

ČERNÝ V., KLEPETÁŘ J., PŘIBYLA L., 2003: *Měření koagulace mléka působením syřidla*. In: *Mléko a sýry*, 42 – 48 s., Praha: Česká společnost chemická, ISBN 80-86238-31-8

GRANDISON A. S., FORD G. D., MILLARD D., OWEN A.J.. 1984: *Chemical composition and coagulating properties of renneted milks from cows during early lactation*. In: *Journal of Dairy Research*, 407-416 s, vol. 51, no. 3, ISSN: 0022-0299

IKONEN T., 2000: *Possibilities of genetic improvement of milk coagulation properties of dairy cows*. [online]. In: *Academic dissertation*, Faculty of Agriculture and Forestry of the University of Helsinki, 34 s. [vid. 15.3.2015]. Dostupné z: <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/maa/kotie/vk/ikonen/possibil.pdf>

KADLEC P., MELZUCH K., VOLDŘICH M., 2009: *Co byste měli vědět o výrobě potravin?* Ostrava: Key Publishing, , 536 s., ISBN 978-80-7418-051-4

KNĚŽ V., 1974: *Mlékárenská příručka: tabulky a výpočty*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 447 s.

LANDFELD A., NOVOTNÁ P., HOUŠKA M., 2002: *Vliv množství syřidla, chloridu vápenatého, teploty a ošetření mléka vysokým tlakem na průběh koagulace mléka*. In: *Mléko a sýry*. Praha: Česká společnost chemická, 163 – 168 s. ISBN 80-86238-21-0

McMAHON D. J., BROWN R.J., 1982: *Evaluation of Formagraph for Comparing Rennet Solutions 1,2*. [online] In: *Journal of Dairy Science*, vol. 65, 1639-1642 s., [vid. 13.4.2015]. Dostupné z: <http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302%2882%2982390-4/abstract>

OLDŘICHOVÁ T., 2002: *Vliv tepelného ošetření na změny syrovátkových bílkovin*. [online] 12-16 s. In: *Mlékařské listy - zpravodaj*, 72 s. [vid. 13.3.2015]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=1&val=7610&ids=155>

PRETTO D., KAART T., VALLAS M., JOUDU I., HENNO M., ANCILOTTO L., CASSANDRO M., PARTNA E., 2011: *Relationships Between Milk Coagulation Property Traits Analyzed with Different Methodologies*. In: *Journal of Dairy Science*, vol. 94, 4336-4346 s., ISSN: 2011-4267

PŘIBYLA, 2015: *CHARAKTERIZACE syřitelnosti MLÉKA pomocí Nefeloturbidimetrického snímače koagulace mléka* [online] [vid. 24.4.2015]. Dostupné z: <http://www.aclp.eu/mleko1.html>

ROGINSKI H., W FUQUAY J., FOX P, 2003: *Encyclopedia of dairy sciences : Volume 1*. New York: Academic Press, 557 s., ISBN 0122272358.

SBODIO O.A., REVELLI G.R., 2012: *Milk's coagulation. Development of a device for online "monitoring" of the process. Progress made in Argentina*. [online]. In: *Revista de Investigaciones Agropecuarias*. [vid. 2.4.2015]. Dostupné z: <http://ria.inta.gov.ar/english/wp-content/uploads/2013/06/By-Sbodio-ingles-4.pdf>

SHALABI S.I., FOX P, 1982: *Influence of pH on the rennet coagulation of milk*. In: *Journal of Dairy Research*, vol. 49, 153-157 s., ISSN 0022-0299

SKÝPALA M., PŘIBYLA L., FALTA D., CHLÁDEK G., 2010: *Posouzení vlivu vybraných technologických parametrů na syřitelnost kravského mléka*. In *Celostátní přehlídka sýrů 2010 Výsledky přehlídek a sborník přednášek konference Mléko a sýry*, 149—152 s. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, ISBN 978-80-7080-760-6

SOJKOVÁ K., HANUŠ O., GENČUROVÁ V., VYLETĚLOVÁ M., MANGA I., KOPECKÝ J., JEDELSKÁ R., 2011: *Nefelometricky a tradičně stanovená syřitelnost..* In: *Sborník z 19.5.2011: Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků VIII.*, 31-33 s., Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN: 978-80-7375-970-4

SUKOVÁ I., 2009: *Vliv syřidla na výtěžnost a senzorickou kvalitu sýrů*. [online] In: *European Dairy Magazine*, 6-9 s., no. 7, [vid. 3.3.2015]. ISSN: 1798-5897 Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?typ=1&val=98407>

SUKOVÁ I., 2010: *Mléko z automatu*. [online]. [vid. 2.4.2015]. Dostupné na odkaze: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/syrove-mleko-z-automatu.aspx>

ŠUSTOVÁ, K., 2005: *Laktologie (návody do cvičení)*. 49 s. In press

ŠUSTOVÁ K., 2006: *Vliv pasterace mléka na výrobu sýrů*. In: *Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků III.*, 49 s. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, ISBN: 80-7157-771-5

ŠUSTOVÁ K., SÝKORA V., 2013: *Mlékárenské technologie*. Brno: Mendelova univerzita, 223 s., ISBN 978-80-7375-704-5

TEPLÝ M., MAŠEK J., HAVLOVÁ J., 1976: *Syřidla živočišná a mikrobiální*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 287 s.

VEJRAŽKA M., 2009: *Turbidimetrie*. [online] In: *WikiSkripta, projekt sítě lékařských fakult MEFANET* [vid. 23.4.2015]. ISSN: 1804-6517 Dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Soubor:Turbidimetrie_a_nefelometrie.png

WALSTRA P., WOUTERS J., GEURTS T., 2006: *Dairy science and technology*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC/Taylor & Francis, 782 s., ISBN 0824727630

YUKSEL Z., 2013: *Determination of Rennet Clotting Time by Texture Analysis Method*. [online]. In: *Food and Nutrition Sciences*, vol. 4, no. 11, ISSN: 2157-9458, [vid. 2.4.2015]. Dostupné z: http://file.scirp.org/Html/5-2700812_37556.htm

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: *Fáze sladkého srážení mléka* (KADLEC et al., 2009)

Obrázek č. 2: *Změna kaseinové micely v průběhu enzymatického srážení mléka*
(FOX et al., 2000)

Obrázek č. 3: *Závislost stupně koagulace na RCT* (FOX et al., 2000)

Obrázek č. 4: *Vztah mezi koncentrací enzymu (E) a RCT* (FOX et al., 2000)

Obrázek č. 5: *Nefelometrie, turbidimetrie* (VEJRAŽKA, 2009)

Obrázek č. 6: *Výsledek N-testu* (ŠUSTOVÁ, 2005)

Obrázek č. 7: *Porovnání syřitelnosti nefelo-turbidimetricky pomocí různých syřidel syrového mléka*

Obrázek č. 8: *Porovnání syřitelnosti syrového, pasterovaného a pasterovaného mléka s přidavkem 40 μ l CaCl_2*

Obrázek č. 9: *Porovnání syřitelnosti pasterovaného mléka s přidavkem 20,30 a 40 μ l CaCl_2*

Obrázek č. 10: *Příklad syřeniny jakostní třídy 2 vzniklé ze syrového mléka působením CHY-MAXu*

Obrázek č. 11: *Příklad syřeniny jakostní třídy I (Laktochym s přidavkem 40 μ l CaCl_2)*

Obrázek č. 12: *Příklad syřeniny jakostní třídy 3 (CHY-MAX s přidavkem 20 μ l CaCl_2)*

9 SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1.: *Základní složení mléka* (GAJDŮŠEK, 2003)

Tabulka č. 2: *Bílkoviny v mléce* (GRANDISON et al., 1984)

Tabulka č. 3: *Důvody kolísání hodnot titrační kyselosti mléka* (KNĚZ, 1974)

Tabulka č. 4: *Rozdělení vzorků mléka*

Tabulka č. 5: *CHY-MAX M200*

Tabulka č. 6: *Laktochym*

Tabulka č. 7: *Ředění CHY-MAXu 1:5*

Tabulka č. 8: *Ředění Laktochymu 1:0*

Tabulka č. 9: *Hodnocení kvality sýřeniny* (GAJDŮŠEK, 1998)

Tabulka č. 10: *Výsledky laboratorní analýzy mléka ze dne 12.3.2015*

Tabulka č. 11: *Výsledky měření 12.3.2015 – syřidlo CHY-MAX(1:5)*

Tabulka č. 12: *Statistické vyhodnocení - syřidlo CHY-MAX (12.3.2015)*

Tabulka č. 13: *Výsledky měření 12.3.2015– syřidlo Laktochym (1:0)*

Tabulka č. 14: *Statistické vyhodnocení - syřidlo Laktochym (12.3.2015)*

Tabulka č. 15: *Výsledky laboratorní analýzy mléka ze dne 24.3.2015*

Tabulka č. 16: *Výsledky měření ze dne 24.3.2015– syřidlo CHY-MAX (1:5)*

Tabulka č. 17: *Statistické vyhodnocení - syřidlo CHY-MAX (24.3.2015)*

Tabulka č. 18: *Výsledky měření ze dne 24.3.2015– syřidlo Laktochym (1:0)*

Tabulka č. 19: *Statistické vyhodnocení – syřidlo Laktochym (24.3.2015)*

Tabulka č. 20: *Výpočet objemu syřidla na 100 l mléka*