

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



Mikrobiologická kvalita mléka a mléčných výrobků

Bakalářská práce

Autor práce: Alena Formáčková

Vedoucí práce: Ing. Veronika Legarová, Ph.D.

© 2018 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Mikrobiologická kvalita mléka a mléčných výrobků" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20.4.2018

Alena Formáčková

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Veronice Legarové Ph.D. za cenné rady a pomoc při vypracování bakalářské práce.

Mikrobiologická kvalita mléka a mléčných výrobků

Souhrn

Tato bakalářská práce se zabývá mikrobiologickou kvalitou kravského mléka, určeného k výrobě konzumního mléka a mléčných výrobků, dále pojednává o chemickém složení a nutričních vlastnostech mléka v souvislosti se zdravím člověka.

Mezi hlavní složky mléka patří voda (87,3 %), bílkoviny (3,2 %), tuky (3,9%) a sacharidy (3,2 %). Specifickým mléčným sacharidem je laktóza. Mléčný tuk se skládá z mastných kyselin a trojmocného alkoholu, z nichž 98 % tvoří triacylglyceroly. Bílkoviny v mléce lze rozdělit na kasein, který se zde vyskytuje ve třech frakcích (α , β a κ) a na syrovátkové bílkoviny (α -laktalbumin, β -laktoglobulin, sérový albumin, imunoglobulin). Mléčné výrobky jsou výborným zdrojem vitaminů (A, B₂, B₁₂, K) a minerálních látek (Ca, Na, K a Mg).

Mléko je ideálním prostředím pro růst mikroorganismů. Hlavní ukazatel mikrobiologické kvality mléka je dán celkovým počtem mikroorganismů (CPM) a hygienická jakost počtem somatických buněk (PSB). Mikroorganismy identifikované v mléku lze rozdělit na prospěšné, patogenní a mléko znehodnocující mikroorganismy.

Důležitými faktory prevence proti mikrobiální kontaminaci je správné chladírenské skladování a tepelné ošetření syrového mléka.

Při výrobě mléčných výrobků je nutné dodržovat legislativní předpisy bezpečnosti potravin, aby byl zajištěn prodej nezávadných potravin.

Nejčastěji konzumované mléčné výrobky jsou fermentované mléčné výrobky, při jejichž výrobě se využívá schopnost bakterií mléčného kvašení. Další mléčné výrobky zastupují sýry, máslo a sušené mléčné výrobky.

Mléko a mléčné výrobky patří mezi potraviny s vysokým obsahem nutričně významných látek nezbytných pro správnou funkci organismu, proto není vhodné je z lidské stravy vyřadit.

Klíčová slova: mléko, mléčný výrobek, mikrobiologie, kvalita, bakterie

Microbiological quality of milk and dairy products

Summary

This bachelor thesis is devoted to a microbiological quality of a cow milk, which is further designated for consumer milk production and other dairy products. Further the essay discusses about chemical composition and nutritional qualities related to human health. Between the main components of milk belongs water (87.3%), proteins (3.2%), fat (3.9%) and saccharides (3.2%). A specific dairy saccharide is called lactose. Milk fat is composed of fatty acids and trivalent alcohol, from which 98% is made from triacylglycerols. Proteins in milk could be divided to: casein, which can be seen in 3 different fractions (α , β , κ) and whey proteins (β -lactoglobulin, α -lactalbumin, immunoglobulin, serum albumin). In addition, dairy products are great source of vitamins (A, B2, B12, K) as well as a source of minerals (Ca, Na, K and Mg)

Milk is an ideal environment for the growth of microorganisms. Between the main indicators of milk quality belongs the total viable count (TVC) as well as the somatic cell count (SCC). Microorganisms which have been identified in milk could be divided as follows: beneficial, pathogenic and milk degrading micro-organisms.

An important factor in preventing microbial contamination is proper refrigerated storage and heat treatment of raw milk.

In the production of dairy products, it is necessary to comply with the food safety legislation, in order to ensure the sale of safe food.

The most commonly consumed dairy products are fermented dairy products, whose production utilizes the ability of lactic acid bacteria. Other dairy products are cheeses, butter and powdered dairy products.

Milk and dairy products are among foods with a high content of nutritionally important substances necessary for the proper functioning of the organism, so it is not appropriate to exclude them from human food.

Keywords: milk, milk product, microbiology, quality, bacteria

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Cíl práce	9
3	Literární rešerše	10
3.1	Základní definice mléka a mléčné žlázy	10
3.2	Základní dělení mléka	11
3.3	Chemické složení mléka	12
3.3.1	Sacharidy.....	12
3.3.2	Lipidy	13
3.3.3	Proteiny	15
3.3.4	Vitaminy.....	17
3.3.5	Minerální látky	17
3.4	Mikrobiologické složení mléka.....	18
3.4.1	Mikroflóra syrového mléka.....	19
3.4.1.1	Gram-negativní psychrotrofní bakterie	19
3.4.1.2	Gram-pozitivní bakterie	22
3.4.1.3	Bakterie mléčného kvašení	24
3.4.1.4	Patogenní mikroorganismy	29
3.4.1.5	Mikrobiologická kvalita mléka prodáváného v mléčných automatech.....	35
3.4.2	Mikroflóra pasterovaného mléka	36
3.4.3	Mikroflóra UHT mléka	36
3.4.4	Mikroflóra ESL mléka	38
3.4.5	Mikroflóra PEF mléka.....	38
3.5	Mikrobiologická kritéria pro výrobu vybraných mléčných výrobků	39
3.5.1	Fermentované mléčné výrobky	39
3.5.1.1	Jogurt.....	42
3.5.1.2	Kefír	43
3.5.1.3	Acidofilní mléko	43
3.5.2	Sýry	44
3.5.3	Máslo.....	45
3.5.4	Sušené mléčné výrobky.....	46

3.6	Vliv na lidské zdraví	46
3.6.1	Laktózová intolerance	48
3.6.2	Alergie na mléčnou bílkovinu.....	50
3.6.2.1	Sójový nápoj.....	51
4	Závěr.....	53
5	Seznam literatury.....	54

1 Úvod

Mléko patří do naší výživy už několik tisíc let, od dob, kdy byla domestikovaná první zvířata. Člověk, jako jediný savec, zařazuje do své stravy mléko jiných savců a v jeho konzumaci pokračuje v průběhu celého života. Nejvíce konzumované je mléko kravské a buvolí. V menší míře mléko kozí a ovčí, které je stále ve větší oblibě. Mléko je často dále zpracováváno. Mezi základní mléčné výrobky patří např. fermentované mléčné výrobky, sýry a máslo.

Mléko a mléčné výrobky jsou komplexní potravinou obsahující významné nutrienty potřebné pro správnou funkci lidského organismu. Jsou výborným zdrojem kvalitních bílkovin, lehce stravitelných lipidů a sacharidů. Dále obsahují široké spektrum vitaminů a minerálních látek, zejména vápníku, který je důležitý pro správnou tvorbu kostí a zubní tkáně. Mezi specifické složky mléka patří laktóza, mléčný tuk, kasein, α -laktalbumin a β -laktoglobulin.

Mléko a výrobky z něj jsou vhodným substrátem pro růst mikroorganismů, které můžeme rozdělit na prospěšné, patogenní a mléko znehodnocující mikroorganismy. Nevhodné mikroorganismy lze eliminovat tepelným ošetřením mléka. Nejčastěji se používá pasterace a technologie UHT.

Velká část populace trpí problémy, které souvisí s užíváním mléka a mléčných výrobků. Především se jedná o intoleranci laktózy, kterou trpí až 70 % populace a méně častou alergií na mléčnou bílkovinu, kde je potřeba eliminační dieta.

2 Cíl práce

Cílem kompilační bakalářské práce je vypracování kvalitní literární rešerše zaměřené na mikrobiologickou kvalitu mléka a mléčných výrobků. Posoudit chemické a mikrobiologické složení mléka a jeho vhodnost využití na výrobu vybraných typů mléčných výrobků s ohledem na jejich nutriční vlastnosti a vliv na zdraví člověka.

3 Literární rešerše

3.1 Základní definice mléka a mléčné žlázy

Mléko je charakteristický tekutý sekret mléčné žlázy samic všech savců. Základní funkční jednotkou je sekreční alveolus, který tvoří mléko v mléčné žláze. Alveoly, které jsou spojeny dohromady a obaleny vrstvou pojivové tkáně se nazývají lalůčky (lobulus), ty se dále slučují ve větší laloky (lobus). Jednotlivé části se spojují a tvoří mlékovody. Většina mléka se skladuje v systému mlékovodů a vývodů, které se podle množství nahromaděného mléka dokáží zvětšit. Kontrakcí kontraktálních myoepiteliálních buněk obklopující alveoly a vývody dochází k jejich stlačení a tím i spuštění mléka. Na mlékovod navazuje mlékojem, který má žlázovou a strukovou část. Struk je ta část mléčné žlázy, kde mládě saje mléko, nebo ze které je mléko vydojováno. Na struku se nachází strukový kanálek, který je uzavřen svěračem. Jeho pevnost zabraňuje výtoku mléka a chrání mléčnou žlázu proti mikrobiální infekci (Bouška a kol., 2006).

Důležitým faktorem sekrece mléka je prokrvení mléčné žlázy, kde je potřeba 500 l krve na jeden litr mléka. Spuštění mléka je řízeno neurohumorálními procesy. K zahájení a udržení sekrece mléka je důležitý zejména somatotropní hormon (STH), tyreostimulační hormon (TSH) a adrenokortikotropní hormon (ACTH). Podrážděním receptorů mléčné žlázy se u samic aktivuje ejekční reflex, který z neurohypofýzy uvolňuje oxytocin. Ten se krví dostane k myoepiteliálním buňkám mléčné žlázy, kde vyvolá smrštění alveol a vývodů. Tlak uvnitř mléčné žlázy se zvýší a zajistí vypuzení mléka. Oxytocin působí 3-6 minut a jeho sekrece nastává během 30-60 sekund po mechanickém podráždění mléčné žlázy (Bouška a kol., 2006).

Zdravotní stav mléčné žlázy se hodnotí zejména podle počtu somatických buněk (PSB). Dle předpisů EU (Vyhláška č. 203/2003 Sb.) je nejvyšší povolená hodnota PSB 400 tis./ml mléka, zvýšený počet naznačuje zánět vemene tzv. mastitidu (Kvapilík a kol., 2013).

Tvorba mléka začíná v období porodu, protože v té době nastávají potřebné hormonální změny. Nejprve se vytváří mlezivo, které se postupně mění ve zralé mléko (Bouška a kol., 2006). Období, kdy mléčná žláza vyměšuje mléko, se nazývá laktace. Laktace je u každého savce jinak dlouhá, například u skotu trvá přibližně 305 dní (Kopáček,

2015). Mléko zajišťuje veškeré nutriční potřeby novorozených mláďat, ale splňuje i ochranou funkci.

Člověk konzumuje mléko přibližně 8 000 let a v mnoha částech světa se z něj stala důležitá součást stravy. Mléko a mléčné výrobky jsou konzumovány hlavně v Evropě, USA, Kanadě, Indii, Austrálii a Novém Zélandu. Vyvinul se významně průmysl na zpracování několika druhů mléka. Dnešní produkce činí 600×10^6 tun mléka za rok. Mléko má širokou škálu využití. Mezi základní mléčné výrobky patří sýry (35 %), sušené mléko, nápojové mléko a fermentované mléčné výrobky (Thomson et al., 2009).

3.2 Základní dělení mléka

Mléko lze rozdělit dle jeho původu. Existuje přibližně 4500 druhů savců, kteří jsou schopni sekrece mléka (80 % druhů již zaniklo). Komerčně důležité a nejvíce produkované je mléko kravské, které činí až 85 % světové produkce, dalším častým konzumovaným mlékem je mléko buvolí (11 % produkce). Velmi významné je i mléko kozí a ovčí, kde jeho spotřeba, zejména v Evropě stále roste. V určitých oblastech světa jsou zpracovávány i mléka velbloudí, sobí, kobyly a oslí (Thomson et al., 2009).

Dále se mléko dělí dle ontogeneze na zralé a nezralé. Nezralému mléku se říká mlezivo, tvoří se ihned po porodu a za 7-10 dní se mění v mléko zralé. Mlezivo neboli kolostrum je hustá, lepkavá kapalina, nažloutlé barvy se slanější chutí (Čepička, 1995). Mlezivo obsahuje kromě růstových faktorů i imunoglobuliny, oligosacharidy, metaloproteiny, enzymy, hormony a řadu živin. Krmení mláďat kolostrem je zásadní pro jejich imunitu a přežití (Burezaq a Razzaque, 2018). V současné době vzrostl zájem o používání mleziva a jeho složek v průmyslové odvětví, zejména při výrobě kosmetiky, funkčních potravin a doplňků stravy (Hyršlová a kol., 2014).

Mléko zralé můžeme také rozdělit podle poměru bílkovin. Rozlišujeme mléka albuminová a kaseinová. Kaseinová mléka jsou produkována přežvýkavci a obsahují více než 75 % kaseinu. Savci s jednoduchým žaludkem, jako jsou všežravci, masožravci a býložravci vytvářejí mléka albuminová (Ingr, 2003).

3.3 Chemické složení mléka

Mezi hlavní složky mléka patří voda, bílkoviny, lipidy a sacharidy (laktóza). Mléko také obsahuje spousty dalších složek, jako například vitaminy, kovové ionty a aromatické látky, které mají zásadní vliv na řadu nutričních, sensorických a technologických vlastností. Složení jednotlivých druhů mléka je uvedeno v tabulce 1. Z tabulky vyplývá, že se složení u jednotlivých druhů výrazně liší. Složení mléka souvisí především na stádiu laktace, plemenné příslušnosti, zdraví, výživě a věku dojnice (Fox a McSweeney, 1998).

Tabulka 1 Složení jednotlivých druhů mléka, uvedeno v %.

Druh mléka	Sušina	Tuky	Bílkoviny	Laktóza
Kravské	12,7	3,7	3,4	4,8
Kozí	12,3	4,5	2,9	4,1
Ovčí	19,3	7,4	4,4	4,8

(Převzato z Fox, 2009, upraveno autorem)

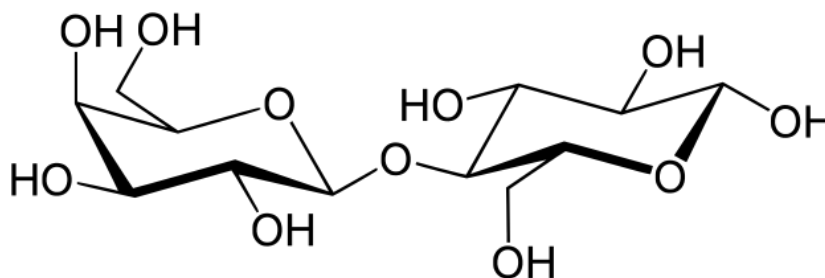
3.3.1 Sacharidy

Laktóza neboli mléčný cukr je hlavním sacharidem v mléce všech savců. Tento redukující disacharid je složen ze dvou monosacharidů. Z glukózy a galaktózy, vzájemně spojených β -1,4-glykosidovou vazbou (viz. Obrázek 1). Laktóza se může vyskytovat jako α a β -anomer (Fox a McSweeney, 1998). Mléko obsahuje stopová množství ostatních sacharidů včetně monosacharidů glukózy, galaktózy a jejich derivátů (aminocukry, fosforečné estery monosacharidů, deoxycukry) (Kopáček, 2017).

Koncentrace mléčného cukru se během laktace výrazně snižuje. Laktóza spolu s ionty sodíku, draslíku a chloridů udržuje osmotický tlak mléka. Pokud je koncentrace laktózy nízká, je v mléku vysoký obsah anorganických solí, které slouží k jeho regulaci.

Laktóza přispívá k nutriční hodnotě mléka. Velmi potřebná je i při výrobě fermentovaných mléčných výrobků, kde slouží jako zdroj uhlíku pro bakterie mléčného kvašení. Slouží také jako zdroj energie pro novorozence. Obsah laktózy souvisí i s nasládlou chutí, která je pro mléko typická (Fox a McSweeney, 1998; Kopáček, 2017).

Laktóza je v tenkém střevu hydrolyzována enzymem β -galaktosidázou (laktázou) na glukózu a galaktózu (Fox a McSweeney, 1998; Kopáček, 2017).



Obrázek 1 Primární struktura laktózy (převzato z <http://www.wikiwand.com/en/Lactose>)

3.3.2 Lipidy

Obsah mléčného tuku se u jednotlivých druhů savců liší, především záleží na energetických nárocích zvířete. Koncentrace mléčného tuku se pohybuje od 2 % až 50 %. Kravské mléko obsahuje průměrně 2-5 % tuku. Mléčný tuk je hlavním zdrojem energie pro novorozená mláďata, je nositelem chuti a vitaminů rozpustných v tucích. Vyskytuje se ve formě emulze tukových kuliček, rozptýlených v mléčném séru. Lipidy jsou nerozpustné ve vodě, ale rozpustné v nepolárních rozpouštědlech (Fox a McSweeney, 1998; Park a Haenlein, 2013).

Mastné kyseliny lze rozdělit do tří skupin dle struktury na nasycené (SAFAs), mononenasycené (MUFAs) a polynenasycené (PUFAs), dále je můžeme klasifikovat dle kvantitativního zastoupení v tuku na majoritní a minoritní. Velmi důležité jsou mononenasycené mastné kyseliny, které dělíme dle poloh dvojných vazeb v C-řetězci, a to na omega (ω -6) a omega (ω -3) skupiny. Patří sem esenciální, pro lidský organismus nepostradatelné mastné kyseliny linolová (ω -6) a linolenová (ω -3). Tělo si je nedokáže samo syntetizovat, proto je nutné je doplňovat potravou (ryby, rostlinný tuk). Důležitou složkou mléčného tuku přežvýkavců je směs polohových a geometrických izomerů kyseliny linolové nazývané jako konjugovaná kyselina linolová (CLA). Někteří autoři jsou přesvědčeni

o jejich antikancerogenních a antiatherogenních vlastnostech (Macek a kol., 2010). Prospěšné účinky na lidskou výživu má i esenciální kyselina dokosahexaenová (DHA) a kyselina eikosapentaenová (EPA) (Fox a McSweeney, 1998; Park a Haenlein, 2013) Naopak nasycené mastné kyseliny (kyselina palmitová) zvyšují hladinu cholesterolu a způsobují vznik kardiovaskulárních onemocnění (Macek a kol., 2010).

Hlavní složkou mléčného tuku jsou mastné kyseliny a trojmocný alkohol, z nichž 98 % tvoří triacylglyceroly. Zbytek je přítomen v diacylglycerolech, monoacylglycerolech, fosfolipidech, volných mastných kyselinách a sterolech. Triacylglyceroly obsahují tři molekuly esteru mastné kyseliny a glycerol.

Fosfolipidy jsou přítomny v membránách mléčného tuku a ovlivňují jejich vlastnosti. Mezi hlavní zástupce patří fosfatidylcholin, fosfatidylethanolamin a sfingomyelin. Sfinomyelin snižuje hladinu cholesterolu. Většina fosfolipidů odchází při zpracování do podmásli a odstředěného mléka. Mastné kyseliny ve fosfolipidové frakci obsahují více polynenasycených mastných kyselin než triacylglycerové frakce (Fox a McSweeney, 1998; Park a Haenlein, 2013).

Hlavní sterol v mléce je cholesterol. Jeho obsah v mléce je v porovnání s ostatními potravinami nízký. V plnotučném mléce je jeho obsah cholesterolu 10-20 mg/dl, to činí 0,3-0,6 % obsahu tuku. Většina cholesterolu se nachází ve volné formě jako ester cholesterylu.

V mléce skotu se vyskytuje více než 400 mastných kyselin, ale většina z nich je přítomna ve velmi nízkých koncentracích. Složení mastných kyselin se mění s ročním obdobím. Obsah tuku je větší v zimě než v létě. Velký vliv má i krmení a stadium laktace. Tuk přežvýkavců je bohatý na mastné kyseliny se středním řetězcem. Mastné kyseliny určují mnoho vlastností včetně nutričních účinků. Koncentrace volných mastných kyselin v mléce se může lipolýzou během skladování zvýšit, ty pak negativně ovlivňují senzoričnou kvalitu mléka. Lipolytickým změnám se dá předejít chlazením mléka (Fox a McSweeney, 1998; Park a Haenlein, 2013).

Ve stopovém množství lze v mléce identifikovat i několik uhlovodíků. Nejvýznamnějším jsou karotenoidy, které jsou zodpovědné za žluté zbarvení mléčného tuku. Obsah karotenoidů závisí především na stravě. V čerstvé pastvě bohaté na vojtěšku a jetel je více karotenoidů, tedy i žlutější barva mléčného tuku, než v mléce pocházející od dojnice krmené senem či siláží (Fox a McSweeney, 1998; Park a Haenlein, 2013). Složení mléčného

tuku je dáno genetickou výbavou a ročním obdobím, ale lze jej významně ovlivnit výživou dojnic (Macek a kol., 2010).

3.3.3 Proteiny

Bílkoviny jsou nezbytnou složkou lidské stravy zajišťující řadu životních procesů. Mléčné bílkoviny patří mezi polymery složené z aminokyselin, které jsou důležité zejména pro správný vývoj svalů. Průměrný obsah bílkovin v mléce se pohybuje kolem 3,4- 3,5 %. Mléko obsahuje několik druhů bílkovin, ale většina z nich je v mléku obsažena ve velmi malém množství. Nejkomplexnější složkou mléka jsou dusíkaté látky. Ty lze rozdělit do tří frakcí: kaseinových bílkovin, syrovátkových bílkovin a nebílkovinných dusíkatých látek. Každá skupina vykazuje odlišné chemické a fyzikální vlastnosti, strukturu i biologickou funkci. Mléčná bílkovina kravského mléka obsahuje přibližně 80 % kaseinových bílkovin a 20 % syrovátkových bílkovin. Nebílkovinné dusíkaté látky se nezahrnují do čistých bílkovin a představují 5 % celkového obsahu dusíku mléka (Simeonová a kol., 2003).

Mléko je jediným zdrojem kaseinových bílkovin. Největší strukturou v mléce jsou kaseinové micely, které lze definovat jako agregáty několika bílkovinných molekul obsahující vnitřní hydrofilní a vnější hydrofóbní část, kde se nachází k-kasein. Kaseinové micely jsou zodpovědné za bílé zbarvení mléka. Kasein je fosfoprotein obsahující přibližně 0,85 % fosforu, zatímco syrovátkové bílkoviny neobsahují žádný. Fosfátové skupiny jsou zodpovědné za řadu vlastností kaseinových bílkovin, například za schopnost vázat velké množství vápníku. Mezi základní frakce kaseinu řadíme α -, β -, γ - a κ -kasein. Z nichž je v kravském mléce nejvíce zastoupen alfa-kasein, který lze dále dělit na α s-1 a α s-2-kasein. Zastoupení jednotlivých frakcí kaseinu v kravském mléce znázorňuje tabulka 2. Kasein je při vysokých teplotách stabilní, jeho vysrážení způsobuje pokles pH pod 4,6. Kaseinové bílkoviny jsou snadno vysráženy z mléka, zatímco syrovátkové bílkoviny obvykle v roztoku zůstávají (Simeonová a kol., 2003).

Tabulka 2 Zastoupení (%) hlavních kaseinových frakcí v kravském mléce (převzato od Park a Haenlein, 2013, upraveno autorem).

kaseinové frakce	kravské mléko
α -kasein	56
β -kasein	33
κ -kasein	11

Syrovátkové bílkoviny lze rozdělit na hlavní sérové bílkoviny (α -laktalbumin, β -laktoglobulin, sérový albumin a imunoglobulin) a na minoritní bílkoviny (laktoferin) (Thomson et al., 2009).

Nejvíce zastoupenou syrovátkovou bílkovinou v kravském mléce je β -laktoglobulin, který představuje 50 % frakce syrovátky a 10 % celkové hmotnosti syrovátky. β -laktoglobulin se skládá ze 162 aminokyselin a vyskytuje se pouze v mléce přežvýkavců a některých monogastrických zvířat. β -laktoglobulin vzhledem ke svým strukturálním vlastnostem dokáže vázat hydrofobní molekuly v mléce, včetně retinolu a mastných kyselin (Park a Haenlein, 2013).

Přibližně 20 % frakce syrovátkových bílkovin náleží α -laktalbuminu, který se skládá ze 123 aminokyselin. Je přítomen v mléce všech savců a podílí se při syntéze laktózy regulací systému enzymu galaktosyltransferázy (Park a Haenlein, 2013).

Syrovátkové bílkoviny jsou oproti kaseinu relativně bohaté na síru. Přítomnost síry je hlavně v aminokyselinách methioninu a cysteinu, které jsou zodpovědné za mnoho změn při tepelném zahřívání mléka, jako např. za vařivou příchut' mléka. Syrovátkové bílkoviny obsahují řadu enzymů (lysozym, laktoperoxidáza), hormonů, růstových faktorů a transportérů živin (Thomson et al., 2009).

Nebílkovinné dusíkaté látky zahrnují 5 % celkového obsahu dusíku mléka (Thomson et al., 2009). Většina sloučenin jsou produkty metabolismu. Dominantním zástupcem je močovina, která tvoří 50 %. Zbytek zastupuje amoniak, kreatin, peptidy, kyselina močová atd (Simeonová a kol., 2003).

Mléko obsahuje řadu důležitých minoritních proteinů. Většina z nich má nezbytnou biologickou funkci. Mezi významné minoritní proteiny patří laktoferin, který vykazuje antibakteriální, antivirové, imunoregulační účinky a je používán při prevenci proti rakovinným nádorům. Dalšími zástupci jsou transferin, feritin, proteopepton, kalmodulin a prolaktin (Fox a McSweeney, 1998; Park a Haenlein, 2013; Thomson et al., 2009).

3.3.4 Vitaminy

Mléčné výrobky jsou významným zdrojem mikroživin, především vitaminů jako je vitamin A (retinol), vitamin B₂ (riboflavin) a B₁₂ (kobalamin). Mléko obsahuje téměř všechny potřebné vitaminy, které značně prospívají lidskému zdraví. V mléce jsou obsaženy vitaminy rozpustné v tucích i ve vodě. V tucích rozpustné vitaminy jsou A, D, E, K. Vitaminy skupiny B a vitamin C jsou rozpustné ve vodě (Park a Haenlein, 2013).

Vitamin A je důležitý pro správnou funkci imunitního systému, zraku, reprodukci, diferenciaci buněk, a především při vývoji organismu v raném stádiu života. Hlavním zdrojem vitaminu A jsou živočišné produkty, zejména mléko a výrobky z něj. V mléce se vyskytuje ve formě esterů mastných kyselin jako retinyl palmitát. Za většinu funkcí vitaminu A je zodpovědná kyselina retinová. Doporučený denní příjem je podle Nařízení EU č. 1169/2011 stanoven na 0,8 mg. Dle studie ale především závislí na věkové kategorii. Zhoršeným vstřebáváním v tenkém střevě mohou trpět děti, senioři nebo lidé s poruchou pankreatu či sekrece žluče. Dle studie obsahuje 1 litr mléka z přímého prodeje průměrně $0,89 \pm 0,34$ mg/l retinolu (Hodulová a kol., 2016).

3.3.5 Minerální látky

Minerální látky lze rozdělit na makroelementy (Ca, P, Mg, Na, K, Cl) a stopové prvky (Fe, Cu, Zn, Se, Mn, I, F, Cr, Pb, Cd, Co, Mo, As, Ni, Si, B) (Scholz-Ahrens, 2003).

Mléko je nejbohatším zdrojem vápníku, který pozitivně působí na kosti a zuby (Park a Haenlein, 2013). Vápník je spojován s prevencí osteoporózy a ledvinových kamenů. Některé studie uvádí i pozitivní vliv vápníku na snižování krevního tlaku či snižování obezity (Scholz-Ahrens, 2003). Jeho koncentrace v mléce je přibližně 1200 mg/l (Park

a Haenlein, 2013). Využitelnost vápníku se zvyšuje s přítomností vitamínu D (Vorlová, 2013).

Dalším důležitým minerálem je fosfor, kterého je v mléce kolem 950 mg/l. V mléce se vyskytuje organicky vázaný fosfor na kasein i anorganický fosfor, který přispívá k minerální rovnováze mléka.

Zásadní roli má i hořčík, sodík a draslík (Park a Haenlein, 2013). Sodík má calciuretický efekt, zatímco draslík působí příznivě proti renálním ztrátám vápníku (Vorlová, 2013).

3.4 Mikrobiologické složení mléka

Mléko je díky vysokému obsahu živin a téměř neutrálnímu pH ideálním prostředím pro růst mikroorganismů. energii čerpají zejména z laktózy, mléčného tuku, citrátů a dusíkatých sloučenin. Mikroorganismy lze rozdělit na patogenní, znehodnocující a prospěšné mikroorganismy. Patogenní organismy působí negativně na lidské zdraví tím, že jsou schopny vyvolat otravu kontaminovanou potravinou. Zatímco organismy znehodnocující mléko jsou schopny na základě svých enzymů mléko hydrolyzovat, způsobit nepříjemný zápach a změnu textury (Tamine, 2009). Termorezistentní enzymy jsou zodpovědné za sensorické vady mlékárenských produktů, jako například za hořkou, nečistou nebo ovocnou chuť.

Mezi nejčastější mikroorganismy způsobující kažení mléka a mléčných nefermentovaných výrobků, patří například sporotvorné bakterie rodu *Bacillus*, bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*, některé bakterie mléčného kvašení, kvasinky a plísňe. Koliformní bakterie rodu *Clostridium*, plísňe a některé kvasinky (*Candida*, *Kluyveromyces*, *Debaryomyces* aj.) znehodnocují fermentované mléčné výrobky (Chramostová a kol., 2014). Jednotlivé skupiny mikroorganismů budou podrobněji popsány níže.

Mezi hlavní ukazatele mikrobiologické kvality mléka patří celkový počet mikroorganismů (CPM) a počet somatických buněk (PSB). Při vyšších teplotách a delším času skladování CPM narůstá (Hasoňová a kol., 2017). Do CPM se nezahrnují jen bakterie, ale i mikroskopické houby (plísňe a kvasinky) schopné růstu za stanovených podmínek při 30 °C. CPM se udává v hodnotě KTJ (kolonie tvořící jednotky) v jednom mililitru mléka (Kuchtík a kol., 2015). Při aseptickém odběru mléka přímo ze zdravé mléčné žlázy by se hodnota CPM měla pohybovat do 100 KTJ/ml mléka (Seydlová a Snášelová, 2010).

V mléce se somatické buňky vyskytují jako buňky epitelu, buňky krve a cystoplasmatické částice. Nejvyšší podíl somatických buněk tvoří leukocyty. Leukocyty jsou schopny fagocytovat a zničit tak patogenní mikroorganismy. PSB se tedy zvyšuje s nárůstem patogenních mikroorganismů v mléčné žláze. Mezi hlavní faktory, které ovlivňují CPM a PSB v mléce patří plemenná příslušnost, zdravotní stav dojnice, stádium laktace, stres, způsob a hygiena dojení, hygiena vemene, skladování a transport mléka (Kuchtík a kol., 2015).

3.4.1 Mikroflóra syrového mléka

Mikroflóra syrového mléka je ovlivněna způsobem manipulace během a po dojení (Yoon at al., 2016). Velmi důležitým faktorem je také správné chladírenské skladování (Vithanage et al., 2017). Podle nařízení ES č. 853/2004 je nutné mléko zchladit na teplotu 6 °C ihned po přijetí ve zpracovatelském závodě a teplotu udržet až do doby zpracování. Pokud se mléko zpracuje do 4 hodin od přijetí je mléko možné skladovat i při vyšších teplotách (Němečková a kol., 2009).

Podle nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 je pro syrové mléko určené k dalšímu zpracování povoleno maximálně 300 tis. KTJ/ml. Počáteční hodnoty se však pohybují kolem 113 tis. KTJ/ml, po 24 hodinách skladování dojde k výraznému zvýšení, a to až na hodnoty 820 tis. KTJ/ml (Hasoňová a kol., 2017).

3.4.1.1 Gram-negativní psychrotrofní bakterie

Psychrotrofní bakterie jsou schopny růstu i při nízkých teplotách skladování syrového mléka. Produkují tepelně stabilní enzymy, jako jsou proteázy a lipázy, které způsobují štěpení bílkovin, tuků a další související vady (Tamime, 2009). Ty znehodnocují mléko i po senzorické a technologické stránce (Hasoňová a kol., 2017).

Pseudomonas spp.

Rod *Pseudomonas* patří mezi velmi různorodé, ubikvitní bakterie, které lze nalézt v nejrůznějších prostředích po celém světě, včetně mléka a mléčných výrobků.

Pseudomonády jsou pravidelné, nesporulující, pohyblivé, nefermentující, striktně aerobní tyčinky o velikosti 0,5-1,0 μm, které jako zdroj energie využívají vodík nebo oxid

uhelnatý (Šviráková a kol., 2017). Jejich optimální teplota růstu je při 25-30 °C, ale jsou schopny růst i při teplotách těsně nad bodem mrazu. Mají krátkou generační dobu při 0-7 °C, která se za přítomnosti vzduchu ještě zkracuje. Nejrychleji rostoucí druhy mají generační dobu 8-12 hodin při 3 °C a 5,5 - 10,5 hodin při 3-5 °C. Při těchto teplotách dokáže *Pseudomonas* spp. způsobit zkažení mléka do pěti dní a to i při výskytu pouze 1 kolonie tvořící jednotky (KTJ) mL¹.

Zhruba polovinu rodu tvoří fluorescenční pseudomonády, charakterizované produkcí pigmentu pyoverdinu (Tamime, 2009). Pyoverdin je hlavní siderofor, který během bakteriálního růstu sbírá železo a soutěží o něj s lidským, na železo vázaným proteinem transferinem. Je nezbytným pro virulenci *Pseudomonas aeruginosa* (Meyer et al., 1996).

Běžnými mléko kontaminujícími zástupci jsou bakterie *Pseudomonas fluorescens*, *P. fragi*, *P. aeruginosa*, *P. lundensis*, *P. putida*, *P. chlororaphis* a *P. viridiflava* (Němečková a kol., 2012). Při požití kontaminované potravin, mohou pseudomonády u lidí způsobovat řadu gastrointestinálních onemocnění, především *P. fluorescens* je často spojována s chronickým nespecifickým střevním zánětem tzv. Crohnovou chorobou. Pseudomonády se také podílejí na řadě nemocničních infekcí, jako například zápal plic či septikémie a indentifikovány byly i u osob trpící cystickou fibrózou, očními infekcemi, popáleninami nebo s nemocí AIDS. Většina zástupců je rezistentní vůči penicilinu (Šviráková a kol., 2017)

Enterobacteriaceae

V psychrotrofické mikroflóře syrového mléka se vyskytuje 5-30 % zástupců rodu *Enterobacteriaceae*. Jsou to malé, pohyblivé, fermentace schopné gram-negativní tyčinky s optimální růstovou teplotou vyšší než 30 °C (Tamime, 2009).

Enterobakterie se nacházejí ve střevní mikroflóře a patří mezi nejčastější lidské patogeny, které se dokážou snadno šířit mezi lidmi především ve velkých skupinách, nemocničních zařízeních a z kontaminovaných potravin. Způsobují řadu infekcí, jako je cystitida, meningitida, septikémie nebo pneumonie (Nordmann et al., 2011).

Podle studie se od roku 2000 celosvětově rozšířily enterobakterie produkující enzymy karbapenemázy, které jsou zodpovědné za rezistentnost bakterií vůči karbapenům, lékům, které jsou důležité pro prevenci a léčbu života ohrožujících nozokomiálních infekcí (Nordmann et al., 2011). Karbapeny se tak stávají neúčinnými při léčbě enterobakteriálních infekcí a tím je antimikrobiální léčba velmi omezená. Karbapenemázy se v Enterobakteriích

nacházejí ve formě β -laktamáz (třída A), metalo- β -laktamáz (třída B) nebo OXA 48 β -betalaktamáz (třída D) (Nordmann et al., 2009). Některé β -laktamázy jsou kódované chromozomem a jiné plazmidem, jako například *Klebsiella pneumoniae*. U kmene *Serratia marcescens* byla zaznamenána produkce metalo- β -laktamáz. OXA 48 β -betalaktamázy jsou většinou produkovány *K. pneumoniae* a *Escherichia coli* (Nordmann et al., 2011).

Mezi další zástupce patří *Salmonella cubana*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca* a *Proteus mirabilis* (Nordmann et al., 2009).

Escherichia coli

Bakterie *Escherichia coli* se běžně vyskytuje v syrovém mléce a mléčných filtrech (Skočková a kol., 2013). Patří mezi nesporetvorné, fakultativně anaerobní, bičíkaté tyčinky s optimální růstovou teplotou 37 °C při pH 7,6. *E. coli* dokáže štěpit sacharidy (laktózu, glukózu, fruktózu aj.), tím dochází k fermentaci a tvorbě plynů a organických kyselin, jako například kyselině mléčné. Díky této schopnosti se řadí mezi heterofermentativní mléčné bakterie (Tvrdoň, 1978). Přestože je bakterie *E. coli* přirozenou součástí intestinální mikroflóry lidí a zvířat, patří mezi hlavní humánní patogeny.

E. coli je používána k posouzení hygienické kvality potravin a k identifikaci selekčního tlaku způsobeného užíváním antibiotik, vzhledem k projevující se rezistentnosti vůči antibiotikům (Skočková a kol., 2013). Hlavním zdrojem kontaminace mléka *E. coli* je z nedodržení hygienických zásad personálu i zvířat na farmě, znečištěním vemene při dojení, například kontaminovanou vodou či hnojem nebo z technologického zařízení. Patogeny jsou do mléka vylučovány i v případě mastitidy vemene způsobenou *E. coli*. (Desmarchelier a Fegan, 2011).

Patogenní *E. coli* dokáže u lidí vyvolat alimentární infekci, projevující se průjmy, ale i vážně hemoragické kolitidy s krvácením ve střevě (Marejková a kol. 2009).

Jiné psychrotrofní bakterie

Mezi další běžně se nacházející psychrotrofní bakterie v mléce řadíme *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes* a *Chromobacterium*. Patří mezi gram-negativní bakterie, které jsou schopny růstu při nízkých teplotách. Mírně znehodnocují mléko i bakterie rodu *Acinetobacter* a *Psychrobacter*, které mají pomalejší růst při nízkých teplotách než ostatní psychrotrofní bakterie (Tamime, 2009).

3.4.1.2 Gram-pozitivní bakterie

Sporulující bakterie

Některé bakterie jsou schopny ve formě spor přežívat za nepříznivých podmínek například v prostředí bez živin či vlhkosti. Vytvoří si ochrannou strukturu a při zlepšení podmínek mohou znovu pokračovat v růstu (McHugh et al., 2017).

Endospory se skládají z několika silných vrstev. Vnější vrstva některých druhů se nazývá exosporium. Skládá se z glykoproteinu BclA, který pomáhá zajistit vazbu spor na substrát, přežití, šíření a patogenní potenciál spor především v potravinovém řetězci, přispívá také k hydrofobicitě. Nejsvrchnější vrstvou všech endospor jsou sporové obaly, zajišťují odolnost vůči chemikáliím a enzymům, ale zároveň umožňují přístup živin. Sporové obaly jsou komplexní, semipermeabilní proteinové vrstvy. Vnější sporová membrána tvoří plášť spory. Další vrstvou je kortex, který obklopuje stěnu zárodečných buněk a je tvořen ze specifického glykoproteinu. Zajišťuje odolnost spor a obsahuje bílkoviny potřebné k znovu vyklíčení na aktivní buňky. Uvnitř endospory se nachází jádro, které je dehydratováno, umožňuje imobilizaci bílkovin a zabraňuje jim koagulaci následující po denaturaci teplem (McHugh et al., 2017).

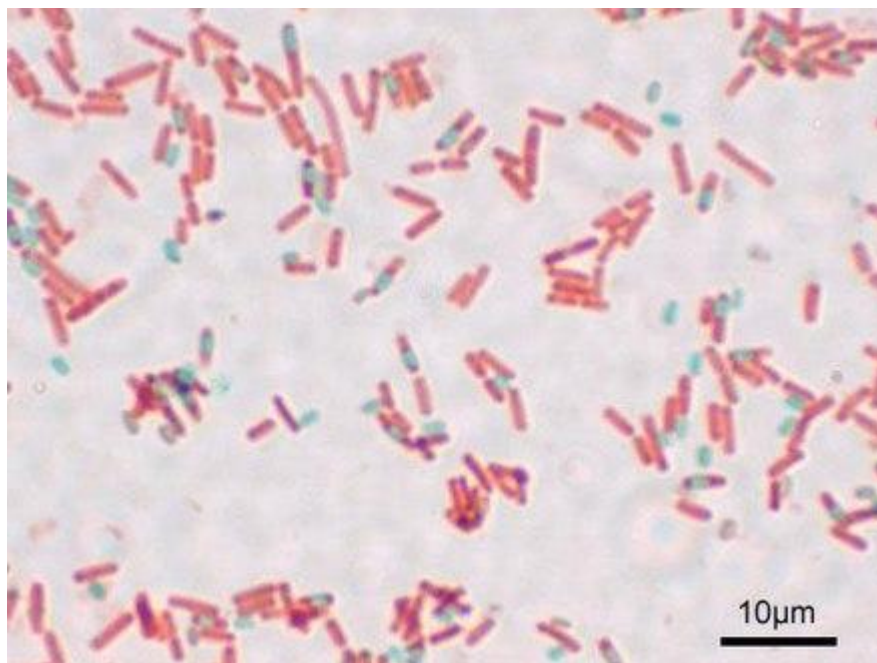
Z hlediska bezpečnosti potravin jsou nejvíce znepokojivé anaerobní sporotvorné bakterie rodu *Bacillus* spp. a *Clostridium* spp. Kontaminace anaerobními bakteriemi tvořící spory není tak častá jako kontaminace aerobními, především kvůli provzdušňování mléka v mlékárnách (McHugh et al., 2017).

Bacillus spp.

Jako sporulující mikroorganismy v syrovém mléce najdeme převážně tyčinkovité, gram-pozitivní bakterie rodu *Bacillus* spp. Jejich optimální teplota růstu je při 20-40 °C, ale některé kmeny jsou schopny růstu i při vyšších teplotách. V 80 % vzorků syrového mléka byl izolován *Bacillus cereus*, mezi další běžně kontaminující bakterie rodu *Bacillus* spp. patří *B. licheniformis*, *B. subtilis* a *B. megaterium* (Tamime, 2009). Bakterie rodu *Bacillus* tvoří endospory (viz. Obrázek 2), které mají termorezistentní vlastnosti, a proto jsou schopny přežívat pasterizaci, ale ošetření UHT je ale obvykle zničí.

Nejčastějším zdrojem kontaminace mléka bakterií *B. cereus* je infekce vemene z půdy či podestýlky, kde se nacházejí její endospory (Christiansson 2011). Ke kontaminaci bakteriemi *Bacillus* spp. také může dojít přes dojící zařízení a během přepravy z farmy do zpracovatelského závodu (McHugh et al., 2017).

B. cereus je producentem několika druhů enterotoxinů a emetických toxinů, které dokáží vyvolat stejně jako *E. coli* alimentární infekci, a to ve formě emetického nebo diarhogenního syndromu, projevující se obvykle nevolností, které obvykle do 24 hodin zmizí (Granum a Lund 1997; Christiansson, 2011). *B. cereus* způsobuje výrazně hořkou chuť mléka, tím se stává kontaminované mléko organolepticky nepříjemné pro lidi, proto není otrava příliš častá (Hilton, 2017). Mezi enterotoxiny, u kterých byla prokázána souvislost se vznikem alimentární infekce, patří hemolyzin BL (Hbl), cytotoxin K (cytK) a nehemolytický enterotoxin (Nhe). Přesto je mnoho druhů *Bacillus* spp. považováno za bezpečné a některé jsou používány i jako probiotika (McHugh et al., 2017).



Obrázek 2 Zabarvený preparát obsahující endospory (modré zbarvení) a vegetativní buňky (červené zbarvení) (převzato z <http://www.wikiwand.com/en/Endospore>).

Clostridium spp.

V malém množství jsou v syrovém mléce přítomny i bakterie rodu *Clostridium* spp. (Tamime, 2009), které patří mezi gram-pozitivní, anaerobní, sporotvorné, pohyblivé tyčinky (Bhunia, 2008).

Počet clostridií se mění v závislosti na ročním období, v zimě je jejich obsah v syrovém mléce vyšší, protože krávy leží na podestýlce a jsou krmeny siláží, které jsou kontaminovány sporami Clostridie (Tamime, 2009).

Nebezpečný je zejména kmen *Clostridium botulinum*, zejména kvůli produkci vysoce účinného jedu botulotoxinu, který způsobuje potravinový, raný, střevní nebo kojenecký botulismus (McHugh et al., 2017). Bakterie *C. botulinum* je schopna produkce botulotoxinu v rozmezí 3 - 15 °C, je proto dobré potraviny důkladně tepelně ošetřit před její konzumací (Bhunia, 2008).

3.4.1.3 Bakterie mléčného kvašení

Významnou skupinou mikroorganismů jsou bakterie mléčného kvašení (BMK), které lze definovat jako mikroaerofilní, gram-pozitivní, fermentace schopné mikroorganismy přeměňující hexózu za produkce kyseliny mléčné. BMK se využívají zejména při výrobě kysaných mléčných výrobků, ale také při výrobě kakaa, kávy či vína.

Do skupiny mikroorganismů BMK patří mnoho rozmanitých, technologicky významných rodů, jako např. *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* atd. Některé druhy mají antimikrobiální vlastnosti díky produkci bakteriocinů nebo organických kyselin, které inhibují růst nežádoucích bakterií, např. *E. coli*, *Salmonella thyphimurium*, *Campylobacter jejuni* atd. Baktericidní mechanismy mohou způsobit degradaci buněčné DNA, inhibovat syntézu peptidoglykanů, tvořit póry nebo narušit specifickou část 16S rRNA (Šalaková a kol., 2015). Bakteriociny jsou tvořeny krátkořetězovými peptidy, jejichž účinnost ovlivňuje složení aminokyselin (Suchanová, 2015). Tyto nízkomolekulární proteiny se naváží na receptor na povrchu buňky a integrují s cílovými buňkami. Některé BMK mohou vykazovat antibakteriální vlastnosti i díky jiným mechanismům, nebo sloučeninám. Jako např. produkcí peroxidu vodíku nebo organických kyselin. Tyto bakterie s antibakteriálními vlastnosti slouží zejména k prodloužení

trvanlivosti výrobků v potravinářském průmyslu. Dle studie neexistuje žádný kmen, který by byl schopný inhibovat veškeré nežádoucí mikroorganismy vyskytující se v syrovém mléce, ale každý izolovaný nežádoucí mikroorganismus má antagonistický druh bakterie, který je schopen omezit jeho růst či metabolismus (Šalaková a kol., 2015).

Některé BMK (viz. Tabulka 3) mají pozitivní účinky na lidské zdraví především pro své probiotické vlastnosti, které příznivě působí na střevní mikroflóru. Ovlivňují imunitní systém, který zajišťuje obranyschopnost, homeostázi a imunitní dohled zodpovědný za regulační reakce organismu. Při poruše imunitního systému dochází k alergiím, autoimunitě nebo zánětlivým onemocněním (Drbohlav a kol., 2010).

Probiotické mikroorganismy musí splňovat bezpečnostní, technologické a funkční kritéria, a to především schopnost přežít v trávicím traktu (Horáčková a kol., 2010). Na životaschopnost mikroorganismů působí negativně nízké pH žaludku, žlučové soli v tenkém střevě nebo trávicí enzymy (Lisová a kol., 2013). Vhodný výrobek by měl obsahovat alespoň 10^6 - 10^9 KTJ g^{-1} životaschopných probiotických mikroorganismů (Mühlhansová a kol., 2016). Ochranné prostředí pro probiotika v trávicím traktu pomáhají vytvářet media, ke kterým patří i mléčné výrobky obohacené o probiotické kmeny nebo nestravitelné složky potravy sacharidického původu (Horáčková a kol., 2010). Některé kmeny projevují rezistenci vůči antibiotikům (Dušková a kol., 2017).

Tabulka 3 Bakterie mléčného kvašení a bifidobakterie patřící mezi probiotika (převzato z Holzapfel et al., 2001, upraveno autorem).

<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i>	<i>Další BMK</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecali</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconstoc mesenteroides</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>L. johnsonii</i>		
<i>L. paracasei</i>		
<i>L. plantarum</i>		
<i>L. reuteri</i>		
<i>L. rhamnosus</i>		

Při nesprávném skladování syrového mléka, zejména při vyšších teplotách se mohou BMK podílet na kontaminaci mléka. K tomu dochází nejčastěji v zemích, kde je mléko skladováno na farmách a přepravováno v nechlazených nádobách. Při dostatečně vysoké teplotě, nebo pokud je inhibován růst gram-negativních aerobních mikroorganismů, může docházet k růstu BMK v psychrotrofní bakterie. Mezi nejčastější druhy BMK způsobující kontaminaci patří *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* a *Pediococcus* (Tamime, 2009).

Lactobacillus

Bakterie rodu *Lactobacillus* patří mezi nesporulující, anaerobní, mikroaerofilní nepohyblivé tyčinky. Tyto bakterie lze rozdělit na základě rozdílného metabolismu, a to na homofermentativní, které fermentují laktózu za produkce pouze kyseliny mléčné a fakultativně či obligátně heterofermentativní laktobacily. Ty fermentují laktózu na kyselinu mléčnou, kyselinu octovou, ethanol a oxid uhličitý. Při výrobě kysaných mléčných výrobků se využívá *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lbc. acidophilus*, *Lbc. helveticus*, *Lbc. casei* atd. (Šalaková a kol., 2015). Mezi kmeny s probiotickými účinky patří *Lactobacillus acidophilus*, *Lbc. casei*, *Lbc. plantarum* nebo *Lbc. rhamnosus* (Šalaková a kol., 2016).

Za nejodolnější kmen v trávicím traktu je považován *Lactobacillus acidophilus* (Horáčková a kol., 2010). Je schopen produkovat bacteriocin acidocin B inhibující růst nežádoucích bakterií, jako například *Listeria monocytogenes*, *Clostridium sporogenes*, *Brochothrix thermophacta*. Je syntetizován kódovaným plazmidem (Šalaková a kol., 2015). Konzumace mléčných výrobků obsahující *Lbc. acidophilus* má příznivý vliv na prevenci a léčbu střevních infekcí, zlepšuje trávení laktózy u lidí trpících laktózovou intolerancí, pomáhá snižovat cholesterol a má antikarcinogenní vlastnosti. Dle studie snižuje riziko onemocnění cév a srdce až o 10 % (Šalaková a kol., 2016).

Lactobacillus plantarum tvoří bacteriocin, který inhibuje růst bakterií rodu *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* a *Staphylococcus* (Šalaková a kol., 2015). *L. plantarum* žijící ve střevě zamezí nežádoucím organismům v uchycení se na slizniční výstelku. *L. plantarum* patří mezi fakultativně heterofermentativní mikroorganismy produkující oba izomery kyseliny mléčné D a L, má probiotické účinky a je často využíván k přirozené konzervaci mléčných výrobků. Kmen *L. plantarum* je spojován s prevencí a léčbou metabolických poruch u kuřáků zejména kvůli produkci kyseliny propionové při bakteriální fermentaci vlákniny. Také je schopen tvorby konjugované kyseliny linolenové (CLA) (Šalaková a kol., 2013).

Leuconostoc

Dalším zástupcem BMK jsou gram-pozitivní, nepohybující, kataláza negativní, nesporotvorné koky rodu *Leuconostoc*.

Leuconostoc mesenteroides produkuje bacteriocin mesenterocin 5, který působí negativně na růst bakterií rodu *Listeria*. Bacteriociny je schopen tvořit i *Leuconostoc lactis* (Šalaková a kol., 2015).

Streptococcus

Bakterie rodu *Streptococcus* patří mezi gram-pozitivní, nepohyblivé, fakultativně anaerobní koky. Patří mezi chemoorganotrofní bakterie s fermentativním metabolismem, které produkují kyselinu mléčnou bez uvolňování plynu, ale i jiných organických kyselin, jako např. kyseliny jablečné, octové, citronové a propionové.

Vybrané kmeny rodu *Streptococcus* jsou schopny tvořit bacteriociny. Mezi zástupce s bakteriocidními vlastnostmi patří kmeny bakterií *Streptococcus bovis*, *Streptococcus thermophilus* a *Streptococcus macedonicus*, u kterého byla prokázána schopnost inhibovat bakterie účastnící se na rozvoji orálních nemocí (Šalaková a kol., 2015).

Některé druhy mají patogenní vlastnosti, jako například *S. agalactiae*, který je spojován s řadou závažných onemocnění mléčné žlázy dojnic. Zhoršuje mikrobiologickou kvalitu mléka a tím způsobuje ztráty v chovech (Seydlová a Snášelová, 2010).

Lactococcus

Mezi další zástupce BMK patří bakterie rodu *Lactococcus*, které lze definovat jako gram-pozitivní, nesporotvorné, nepohyblivé koky vyskytující se v páru nebo krátkých řetězcích. Dříve byl tento rod řazen k rodu *Streptococcus*.

Lactococcus lactis tvoří bacteriocin nisin, který inhibuje růst a klíčení spor gram-pozitivních bakterií, jako například *Listeria*, *Clostridium* nebo *Bacillus*. (Šalaková a kol., 2015). Nisin je běžně přidávaným konzervačním činidlem do potravin. Dnes je nisin komerčně vyráběn, ale za nejvhodnější i nejlevnější médium se považuje syrovátka, zejména kvůli obsahu laktózy, syrovátkových bílkovin, minerálních látek a vitaminů (Binder a kol., 2016). *Lactococcus lactis* produkuje také bacteriocin lactococcin R, který je účinný proti řadě potravinářských patogenů, ale velmi citlivý na působení pepsinu a α -chymotripsinu (Šalaková a kol., 2015).

Lactococcus lactis způsobuje znehodnocení mléka při teplotě 10-37 °C, a to produkcí kyselin způsobující okyselení mléka (Tamime, 2009).

Bifidobacterium

Bifidobacterium jsou gram-pozitivní, striktně anaerobní, heterofermentativní tyčinky, které jsou velmi citlivé na nepříznivé podmínky prostředí, jako např. nízké pH (rostou při pH 4,5- 8,5). Některé druhy jsou schopny produkce bakteriocinů a vitamínu skupiny B. Tvoří přirozenou součást mikroflóry trávicího traktu člověka.

Bifidobacterium a *Lactobacillus* jsou nejčastěji využívanými rody bakterií s probiotickými účinky v mléčných výrobcích. *Bifidobacterium* štěpí laktózu za produkce kyseliny mléčné i kyseliny octové (v poměru 2:3), která může být následně zodpovědná za nežádoucí chuť a vůni fermentovaných mléčných výrobků. Lze tomu předejít pomocí mikroenkapsulace buněk, která sníží produkci kyselin a zvýší životaschopnost bifidobakterií v trávicím traktu (Horáčková a kol., 2014).

Dle studie má přidavek jednobuněčných řas do fermentovaných mléčných výrobků pozitivní vliv na probiotické vlastnosti, stabilitu a schopnost bifidobakterií přežít v trávicím traktu. V současnosti se v potravinářství nejčastěji využívá *Chlorella vulgaris*, *Dunatiella salina* a *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) (Hyršlová a kol., 2017).

3.4.1.4 Patogenní mikroorganismy

Mezi patogenní mikroorganismy lze zařadit některé bakterie, viry, prvoky či mikroskopické houby, které jsou schopné přežít v potravíně a po požití kontaminované potraviny tvořit své faktory virulence v těle hostitele. Způsobují řadu infekčních onemocnění (Bhunja, 2008).

V syrovém mléce se vyskytuje celá řada rozmanitých patogenních mikroorganismů (viz. Tabulka 4), které lze inhibovat chlazením či konkurencí nepatogenních mikroorganismů. Patogenní mikroorganismy se rozdělují na ty, které způsobují mastitidu skotu, a na vnější kontaminanty (Tamime, 2009).

Tabulka 4 Lidské patogenní mikroorganismy související s mlékem a mléčnými produkty (převzato od Hayes a Boor, 2001, upraveno autorem).

Patogenní mikroorganismus		Onemocnění / příznaky
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia Coli</i> včetně O157:H7	gastroenteritida, hemolytická urémie
	<i>Salmonella</i>	gastroenteritida, tyfus
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	gastroenteritida
Ostatní gram-negativní bakterie	<i>Aeromonas hydrophila</i>	gastroenteritida
	<i>Brucella spp.</i>	brucelóza
	<i>Campylobacter jejuni</i>	gastroenteritida
Gram-pozitivní sporotvorné bakterie	<i>Bacillus cereus</i>	gastroenteritida
	<i>Bacillus anthracis</i>	antrax
	<i>Clostridium perfringens</i>	gastroenteritida
	<i>Clostridium botulinum</i>	botulismus
Gram-pozitivní koky	<i>Staphylococcus aureus</i>	emetické intoxikace
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	bolest v krku
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	spála/bolest v krku
	<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	faryngitida/zánět ledvin
Ostatní gram-pozitivní bakterie	<i>Corynebacterium spp.</i>	záškrť
	<i>Listeria monocytogenes</i>	listerióza
	<i>Mycobacterium bovis</i>	tuberkulóza
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	tuberkulóza
Rickettsie	<i>Coxiella burnetii</i>	Q-horečka
Viry	<i>Enteroviry, polioviry, rotaviry</i>	střevní infekce
	<i>FMD virus</i>	slintavka a kulhavka
Houby	Plísně	mykotoxikóza
Prvoci	<i>Entamoeba histolytica</i>	améboza
	<i>Giardia lamblia</i>	giardióza (lamblióza)
	<i>Toxoplasma gondii</i>	toxoplazmóza

Staphylococcus

Rod *Staphylococcus* lze rozdělit na základě tvorby vázané na plazma-koagulázu (clumping factoru) na koaguláza-pozitivní a koaguláza-negativní stafylokoky. Ty patří mezi významné ukazatele správného dodržení hygienických předpisů při výrobním procesu a kvality syrového mléka související s bezpečností finálních mléčných produktů (Němečková a kol, 2017).

Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 udává povinnost stanovovat především koaguláza-pozitivní stafylokoky v sušených mléčných výrobcích a v některých typech sýrů. V mléce a mléčných výrobcích jsou nejčastěji identifikovány koaguláza-pozitivní stafylokoky, jako např. *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. schleiferi* a *S. lugdunensis*, které lze zařadit mezi patogenní mikroorganismy pro člověka i zvířata. Zatímco koaguláza-negativní jsou považovány za podmíněné patogeny vyvolávající onemocnění jen u oslabených jedinců. Koaguláza-negativní zástupci jsou *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. carnosus*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus* atd. Některé stafylokoky jsou schopny tvořit enterotoxiny a způsobovat stafylokovou mastitidu (Němečková a kol, 2017).

V prostředí chovu zvířat se nejčastěji vyskytuje *S. aureus* (Klimešová a kol., 2016). Jedná se o grampozitivní, nesporetvorné, fakultativně anaerobní bakterie s optimální teplotou růstu při 37 °C. *S. aureus* lze najít na kůži teplokrevných živočichů, nosičem může být tedy i člověk (Le Loir et al., 2003). Mléko se nejčastěji kontaminuje od dojníc trpící mastitidou vemene, skrze zaměstnance nebo z půdy, vody či prachu (Asperger a Zangerl, 2011). *S. aureus* je schopný tvořit stafylokokové enterotoxiny (SEs), které způsobují stafylokovou enterotoxikózu. První příznaky se objevují za 1 - 6 hodin po konzumaci kontaminované potraviny SEs a způsobují bolesti hlavy, břicha, zvracení a průjem. SEs je značeno písmeny A-V a v současné době je známo 22 druhů. Některé SEs jsou termorezistentní a přežívají pasterační teploty. Nejdůležitějším preventivním opatřením proti rozvoji stafylokokové enterotoxikózy je správné provedení a nepřerušování chladicího řetězce. Mezi další toxické substance patří toxiny syndromu toxického šoku, Pantonův-Valentinův leukocidin a exfoliativní toxiny.

Rizikové množství koaguláza-pozitivních *S. aureus* je počet větší než 10^5 KTJ/ml (g) potraviny. Růst *S. aureus* v syrovém mléce potlačují některé BMK (Necidová a Bogdanovičová, 2015).

Salmonella spp.

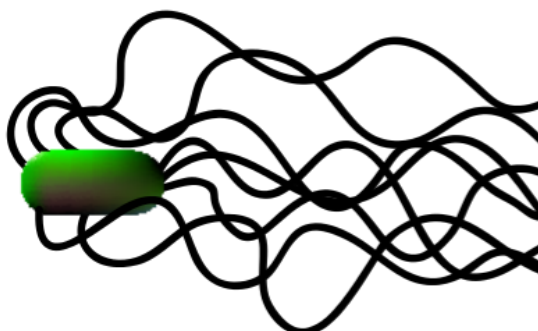
Bakterie rodu *Salmonella spp.* jsou gram-negativní, nesporetvorné, fakultativně anaerobní, většinou pohyblivé bakterie s peritrichálním rozmístěním bičíků (viz. Obrázek 3), které jsou řazeny do čeledi Enterobacteriaceae. Jsou schopny růstu v širokém rozmezí teplot (5-45 °C), ale jejich teplotní optimum je při 35-37 °C. *Salmonella* projevuje citlivost na zvýšené koncentrace soli.

Oficiálně se *Salmonella* dělí na základě somatického (O), flagelárního (H) a kapsulárního (Vi) antigenního vzoru do dvou druhů. Prvním druhem je *Salmonella enteritica*, která má 6 poddruhů (I-VI) a obsahuje 2 443 sérotypů, druhým druhem je *Salmonella bongori* s 20 sérotypy.

Salmonella je fakultativně intracelulární patogen poškozující především makrofágy, dendrické a epitelární buňky. Geny virulence zajišťující invazi, přežití a šíření jsou rozmístěny na ostrovu patogenity (SPI).

Hlavním zdrojem kontaminace pro lidi je drůbeží maso a vejce, ale *Salmonelu* mohou obsahovat i mléčné výrobky vyrobené z nedostatečně tepelně ošetřeného syrového mléka, jako například zmrzlina či sýr.

Salmonella způsobuje gastrointestinální onemocnění, jako je gastroenteritida a břišní tyfus. Celosvětově ročně zemře průměrně 3 miliony lidí na onemocnění způsobené salmonelou (Bhunia, 2008). *Salmonely* způsobují velké problémy v mlékárenském průmyslu, zejména kvůli rezistentnosti některých druhů (*Salmonella ser. typhimurium*) k antibiotikům (Tamime, 2009).

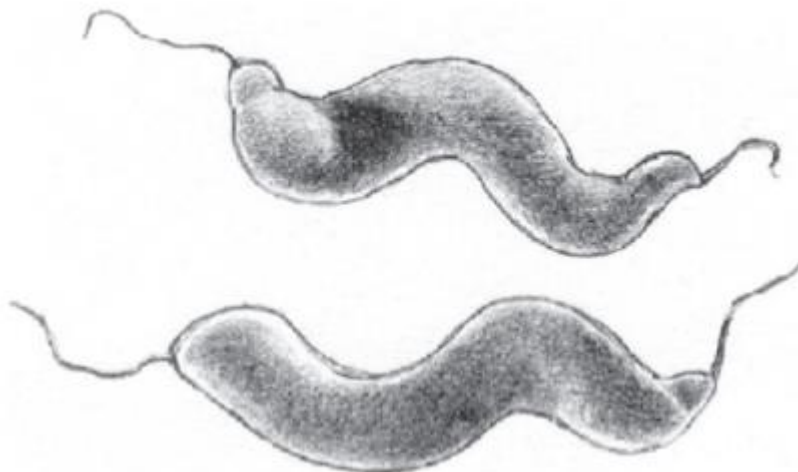


Obrázek 3 Bakteriální peritrichální flagela (rozmístění bičíků) (převzato z Online 3, upraveno autorem).

Campylobacter

Campylobacter se řadí mezi gram-negativní, nesporotvorné, pohyblivé tyčinky ve tvaru spirály s polárně umístěnými bičíky, které jsou znázorněny na obrázku 4. Vyžadují striktní podmínky pro svůj růst, jsou mikroaerofilní s potřebou kyslíku o koncentraci 3-5 % a oxidu uhličitého 3-10 %. V mléce se nejčastěji vyskytují termofilní druhy *Campylobacter jejuni* a *Campylobacter coli*, které rostou při optimální teplotě 42 °C.

Campylobacter je významným patogenem způsobující zoonózy u lidí a zvířat. Je spojován především s gastroenteritidou, bakteriemií, periodontálních onemocněním, vedoucím až ke chronickým následkům, jako např. Guillainův-Barrého či Reiterův syndrom (Bhunias, 2008).



Obrázek 4 Schématické znázornění *Campylobacter jejuni* s polárním umístěním bičíků (převzato z Bhunias, 2008, upraveno autorem).

Yersinia enterocolitica

Yersinia enterocolitica patří mezi gram-negativní, fakultativně anaerobní, nesporulující, pohyblivé tyčinky (Barton, 2011). *Y. enterocolitica* roste v teplotním optimu 28-29 °C, ale je schopna růstu i při teplotách pohybujících se kolem 0 °C. Přestože je *Y. enterocolitica* termolabilní vůči pasteračnímu záhřevu, byla izolována v pasterovaném mléce a mléčných výrobcích. Proto je její občasný výskyt v tepelně ošetřeném mléce zdůvodňován sekundární kontaminací po pasterizaci, jako např. nedodržením pasteračního režimu či přidáním kontaminovaných přísad u ochucených výrobků.

U lidí *Y. enterocolitica* způsobuje střevní onemocnění yersiniózu, která se projevuje jako enteritida, a je třetí nejčastěji hlášenou zoonózou (Bursová a kol., 2015).

Plísně

Plísně způsobují kažení mléčných výrobků projevující se barevnými změnami, viditelným nárůstem hmoty, narušením textury a nežádoucí chutí či vůní. Mléčné výrobky nejčastěji kontaminují plísně rodu *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Phoma*, *Cephalosporium*, *Geotrichum*, *Rhizobium* a *Alternaria*.

Některé plísně jsou schopny růstu během skladování při 1-5 °C, s nízkou aktivitou vody a za nízkého parciálního tlaku kyslíku. Důležité je inhibice plísní z technologických zařízení pomocí horké vody či páry (nad 70 °C) a aplikace sanitačních prostředků s antifugálním účinkem (Němečková a kol., 2015).

Některé plísně produkují sekundární metabolity-mykotoxiny, které jsou zodpovědné za ekonomické ztráty v mlékárenském průmyslu, ale i za původce různých onemocnění u lidí.

Mezi mykotoxiny, které produkuje *Penicillium* spp. patří kyselina penicilová, patulin, ochratoxin A a citrinin. Ochratoxin A (OT) je nebezpečný zejména pro své karcinogenní vlastnosti. Dále byly prokázány i jeho hepatotoxické, nefrotoxické, imunotoxické a teratogenní účinky (Tamime, 2016). Ochratoxin A přechází ze zvířat do živočišných produktů a ty pak mohou být rizikové pro zdraví lidí. Přežvýkavci jsou vůči ochratoxinům rezistentní, protože v bacheru dochází k jejich detoxikaci (Suchý a Herzig, 2004).

Aspergillus flavus, *A. parasiticus* a *A. nomius* jsou schopny tvořit aflatoxiny (AF). *A. parasiticus* a *A. nomius* produkují aflatoxin A a G, zatímco *A. flavus* jen aflatoxin A. Nejvíce toxický je aflatoxin B₁, který se do mléka může dostat přes kontaminovanou potravu dojníc. Aflatoxin B₁ je v játrech metabolizován na aflatoxin M₁, který patří mezi nejsilnější karcinogeny. Je imunotoxický a hepatotoxický. Vzhledem k tomu, že zpracování mléka nesnižuje obsah aflatoxinu M₁, vyskytuje se i v různých mléčných výrobcích. Nebezpečný je především pro kojence a děti. Některé studie uvádí geografické a sezónní rozdíly v obsahu aflatoxinu v mléce (Tamime, 2016).

Krom aflatoxinů *Aspergillus* spp. produkuje mykotoxin sterigmatocystin (STC), který se nachází především na tvrdém sýru. Je karcinogenní, hepatotoxický, teratogenní,

mutagenní, ale s mnohem menší účinností než AF B₁. Sterigmatocystin je, také prekurzorem biosyntézy AF B₁ (Tamime, 2016).

Kvasinky

Kvasinky rodu *Candida*, *Debaryomyces hansenii* a *Yarrowia lipolytica* znehodnocují mléčné výrobky. V sýrech a FMV je jejich výskyt hlavní příčinou napěnění, bombážování, zápachu, tvorbou ok či vytváření viditelných kolonií na povrchu výrobku. Kvasinky jsou schopny tvořit biofilmy, a to je také jeden z hlavních zdrojů kontaminace (Němečková a kol., 2017).

3.4.1.5 Mikrobiologická kvalita mléka prodávaného v mléčných automatech

Od roku 2003 je v České republice povolen přímý prodej syrového mléka přímo ze dvora a v roce 2009 se prodej syrového mléka rozšířil i přes mléčné automaty (Bogdanovičová a kol., 2015). Běžný spotřebitel si tedy může syrové mléko zakoupit přímo v mléčném automatu. Přestože je tepelně neošetřené mléko zdrojem mnoha patogenů, podle studie až 75 % konzumentů před spotřebou mléko tepelně neupravuje. Mléko je nezbytné co nejdříve od nákupu tepelně ošetřit (Hasoňová a kol., 2017). Bogdanovičová a kol. (2015) uvádějí za nejvhodnější alternativní opatření prodávat v mléčných automatech mléko již ošetřené pasterací.

Hodnota CPM ze vzorků pasterovaného mléka z mléčných automatů byla dle řecké studie pod limitem 107 tis. KTJ/ml. Všechny vzorky měly negativní výsledek na přítomnost bakterie *Listerie monocytogenes*. Mléko z mléčných automatů splňuje normy kvality pasterovaného mléka, přesto maloobchodní vzorky mléka mají lepší výsledky ve stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů, enterobakterií a aerobních bakterií v porovnání se vzorku z mléčných automatů. Dle studie má mléko z mléčných automatů výrazně vyšší obsah tuku než přebalené maloobchodní mléko, ale prakticky stejnou specifickou měrnou hmotnost (1031-1032 g/L). Studie byla provedena na konci doby skladovatelnosti, tedy po 3 dnech při 4 °C nebo 8 °C (Angelidis et al., 2016).

Aby se vyloučila možnost intenzivního růstu bakterií je mléko doporučeno skladovat při 4 °C a prodáno do 48 hodin (Bogdanovičová a kol., 2015).

3.4.2 Mikroflóra pasterovaného mléka

Pasterace mléka je jedna z neúčinnějších metod prevence mikrobiální kontaminace. Pasterace nedokáže inaktivovat bakterie tvořící spory, například *Clostridium* spp. a *Bacillus* spp. a některé tepelně rezistentní bakterie. Pasterace mléka způsobí inaktivaci enzymů (lipázy, proteázy) a přirozené mikroflóry přítomné v syrovém mléce, které jsou zodpovědné za organoleptické vlastnosti, zejména chuti mléka (Yoon et al., 2016).

Mikrobiologická kvalita pasterovaného mléka je závislá na kvalitě výchozího mléka. Zásadní roli na kvalitu má i kombinace času a teploty v pasteračním procesu, hygienické podmínky při plnění a balení, teplota během přepravy a skladování na maloobchodní i spotřebitelské úrovni. Bakteriální množení během skladování snižuje dobu trvanlivosti pasterovaného mléka. Výsledné metabolity způsobují nežádoucí změny a v důsledku působení postpasterizačních kontaminantů, například gram-negativních psychrotrofických bakterií nebo termodynamických, psychrotrofických gram-pozitivních bakterií dojde ke zkažení mléka (Angelidis et al., 2016).

Při použití dostatečně mikrobiologicky kvalitního syrového mléka, správném provedení pasteračního záhřevu a teplotě do 12 °C je doba skladování 2-3 dny. V tepelně ošetřeném mléce určeném na výrobu mléčných výrobků je povolen CPM nižší než 100 tis./ml (Němečková a kol., 2009). Nejčastějším zdrojem kontaminace jsou nedostatečně vyčištěné plnicí přístroje (Angelidis et al., 2016).

3.4.3 Mikroflóra UHT mléka

Při zpracování mléka ultra vysokou teplotou (UHT; Ultra-Hight Temperature) se mléko zahřeje v průměru na 140 °C po dobu 1-2 sekund, a poté následuje prudké zchlazení. UHT metoda je schopna eliminovat větší množství mikroorganismů než pasterace, ale je příčinou snížení sensorické kvality mléka, zejména chuti (Fernandes, 2009). Zpracování ultra-vysokou teplotou mléko sterilizuje a prodlužuje tak jeho trvanlivost o několik měsíců.

Při UHT ošetření se používá buď přímý, nebo nepřímý záhřev mléka (Tamine, 2009). Při přímém záhřevu dochází ke kontaktu horké páry a mléka, u nepřímého záhřevu se využívá deskových nebo trubkových výměníků tepla. UHT mléko je baleno za aseptických podmínek, které mají výrazně pozitivní vliv na eliminaci mikroorganismů a trvanlivost (Hilton, 2017). Během skladování při vyšších teplotách se v mléce na dně balení tvoří

sediment bílkovin, který lze odstranit protřesením balení před konzumací (Gaur et al., 2018). Obsah patogenních látek závisí zejména na hygienických podmínkách během dojení a skladování. Riziko bakteriální kontaminace se s počtem manipulací s mlékem zvyšuje (Němečková a kol., 2012). Dle studie je míra znehodnocení UHT mléka 1 z 10 000 a většinou se jedná o postpasterizační kontaminanty či tepelně odolné spory (Tamime, 2009).

Malé množství spor je schopno přežít UHT ošetření mléka, zejména pokud byl jejich obsah v syrovém mléce při výrobě vysoký. V UHT mléce byly především izolovány spory *Geobacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. sporothermodurans* a *Peanibacillus lactis*, které prokazují proteolytickou a lipolytickou aktivitu (Tamime, 2009).

Reziduální proteolytické aktivity produkované *Pseudomonas* spp. způsobují kažení UHT mléka během skladování. Pseudomonády tvoří tepelně stabilní extracelulární peptidázy, které si část své aktivity zachovávají i po UHT ošetření mléka, přestože jsou vegetativní buňky inaktivovány během pasterace. Peptidázy hydrolyzují kappa-kasein a beta-kasein za produkce malých, kyselých rozpustných peptidů, které způsobují hořkou chuť mléka. Proteolytická aktivita se většinou objevuje v UHT mléku vyrobeného z již skladovaného syrového mléka a projevuje se změnou chuti, tvorbou sedimentů, krémové vrstvy a zgelovatěním mléka, jak znázorňuje obrázek 5 (Stoeckel et al., 2016). Ke gelovatění dochází již při použití syrového mléka obsahující 1×10^7 KTJ/ml pseudomonád (Němečková a kol., 2012).

Při výrobě mléka s určenou dobou životnosti přibližně na jeden rok se doporučuje mléko skladovat při teplotě nižší než 20 °C a používat syrové mléko bez proteolytické aktivity *Pseudomonas* spp. (Stoeckel et al., 2016).

Obrázek 5 Znázornění krémové vrstvy (ukazují šipky) a zgelovatění UHT mléka po 4 měsících skladování při teplotě 20 °C (převzato od Stoeckel et al., 2016).



Do postpasterizačních kontaminantů lze zařadit i vláknitou houbu *Fusarium oxysporium*, která je zodpovědná za nežádoucí chuť mléka. Tato houba se nejčastěji do mléka dostane přes plnicí stroje z kontaminovaného vzduchu. Je schopna produkovat plyn způsobující přetlak, který se projeví se nafouknutím spotřebitelského obalu. Pokud dojde k znečištění mléka houbou *Fusarium oxysporium* je těžké ji eliminovat (Tamime, 2009).

3.4.4 Mikroflóra ESL mléka

U mléka s prodlouženou dobou skladování (ESL; Extended Shelf-Life) se k tepelnému ošetření používají teploty mezi pasterační a ultra vysokou teplotou (123-127 °C, 1-5 sekund), doplněné netermickými procesy, jako je např. baktofugace či mikrofiltrace. Mléko ošetřené metodou ESL skladované v ledničce má trvanlivost 21-45 dní (Hilton, 2017).

ESL mléko není baleno při aseptických podmínkách do spotřebitelských obalů, proto může dojít k mikrobiální kontaminaci mléka po zpracování, především bakteriemi tvořící spory. V ESL mléce byli izolovány spory *Bacillus licheniformis*, dále pak *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *Brevibacillus brevis* a *Paenibacillus*.

ESL mléko, výrazně ovlivňuje i mikrobiologická kvalita syrového mléka používaného při výrobě. Stejně jako u UHT mléka, se v ESL mléce mohou vyskytovat psychrotrofní bakterie, jako např. pseudomonády.

Běžně jsou z ESL mléka izolovány i nesporetvorné bakterie *Rhodococcus*, *Anquinibacter*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* a *Micrococcus*, které mléko kontaminují ze vzduchu, plnicího zařízení nebo obalu (Hilton, 2017).

3.4.5 Mikroflóra PEF mléka

Alternativní technologií pro konzervaci mléka je ošetření pulzním elektrickým polem (PEF; pulsed electric field), tato metoda využívá elektrických pulzů (20-50 μ s, 25-30 kV/cm) v kombinaci s mírnou teplotou (50-60 °C) během několika sekund. PEF zpracování mléka je schopno eliminace mikroorganismů, stejně jako mléko pasterované, přičemž si zachovává kvalitu sensorických a fyzikálně-chemických vlastností mléka, především kvůli nižšímu tepelnému poškození. Teploty do 70 °C neovlivňují funkčnost syrovátkových bílkovin

a kaseinu a zachovávají aktivitu mléčných enzymů, které pozitivně ovlivňují chuť sýrů a dalších mléčných výrobků.

Některé populace bakterií v syrovém mléce jsou rezistentní vůči PEF ošetření, proto se v současné době provádí řada studií, aby se PEF metoda mohla stát plnohodnotným způsobem zpracování mléka. PEF ošetření má v porovnání s konvenčním tepelným opracováním vyšší náklady na zpracování a energii (McAuley et al., 2016).

3.5 Mikrobiologická kritéria pro výrobu vybraných mléčných výrobků

Velmi důležitým kritériem v celém potravinovém řetězci je správné dodržování legislativních předpisů bezpečnosti potravin (Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících předpisů, ve znění pozdějších předpisů). Každý potravinový řetězec má povinnost zajistit prodej nezávadných potravin. Je třeba dodržovat i předpisy dané Evropskou unií a to především tzv. hygienický balíček ((ES) č. 852/2004, 853/2004, 854/2004, 882/2004, 178/2002) a Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005, o mikrobiologických kritériích pro potraviny, ve znění pozdějších předpisů (Doležalová a kol., 2013)

3.5.1 Fermentované mléčné výrobky

Fermentovaným mléčným výrobkem se dle Vyhlášky č. 397/2016 Sb. rozumí: kysaný nebo zakysaný mléčný výrobek získaný kysáním mléka, smetany, podmáslí, syrovátky nebo jejich směsí za použití mikroorganismů (viz. Tabulka 5), tepelně neošetřený po kysacím procesu (Sbírka zákonů, 2016). Mezi fermentované mléčné výrobky (FMV) lze zařadit jogurt, kefir, acidofilní mléko, zakysanou smetanu nebo kumys. Při výrobě se používá tepelně ošetřené mléko, které se dále okyseluje pomocí bakterií, kvasinek či plísní (Fernandes, 2009). Fermentované mléčné výrobky jsou zdrojem řady nutrientů, inhibují oxidaci, snižují peroxidaci lipidů a mají antioxidační vlastnosti, protože během fermentace produkují bioaktivní peptidy s antioxidační aktivitou (Dušková a kol., 2017).

Při výrobě FMV se využívá startovacích kultur, především bakterií mléčného kvašení (Dušková a kol., 2017). Výchozí kultury jsou nejdůležitějšími faktory při určení celkové kvality konečného produktu a výrobního procesu FMV.

Příznivé účinky má i růst kvasinek ve FMV, především v kefiru, které jsou zodpovědné za aromatické komponenty. Kvasinky ke svému růstu využívají laktózu nebo metabolity bakterií mléčného kvašení. Vzájemná interakce kvasinek a BMK snižuje pH a tím je zajištěna jejich životaschopnost. Během fermentace štěpí kvasinky laktózu za produkce etanolu a CO₂. Kvasinky také převádějí aminokyseliny na alkohol (Marya et al., 2017). Plyny tvořené kvasinkami mohou způsobit vydutí obalů při skladování. Přidáním probiotických kmenů laktobacilů, především *Lcb. plantarum* lze růst kvasinek zpomalit (Lacmanová a kol., 2010; Kök-Taş et al., 2013).

FMV jsou díky svému nízkému pH chráněny proti většině vad, které souvisí s kontaminací mikroorganismy. Přesto se např. v ochucených jogurtech obsahující nekvalitní ovocnou složku mohou objevit acidotolerantní kvasinky *Sacharomyces*, které tvoří plyn a *Candida* sp. způsobující nežádoucí chuť výrobku. Tyto kvasinky během své metabolické aktivity zvyšují pH, což výrazně prospívá kažení a růstu psychrotrofních kontaminujících mikroorganismů. Z FMV mohou být izolovány i okem viditelné plísně rostoucí v neporušených obalech na povrchu výrobku (Němečková a kol., 2011).

Značné škody mohou při výrobě FMV způsobit bakteriální inhibitory, především kvůli své schopnosti částečně či úplně zamezit růst startérových bakterií. Za ztráty v mlékárenském průmyslu jsou zodpovědné především plynotvorné bakterie odolné vůči antibiotikům, jako např. koliformní bakterie, *Clostridium* či *Proteus* (Hamiroune et al., 2016). Při zvýšeném počtu pseudomonád ve výchozím syrovém mléce použitém při výrobě FMV dochází k hořké, nečisté nebo ovocné pachuti výrobku (Němečková a kol., 2012). Hořkou chuť mohou způsobit i sporotvorné aerobní bakterie *B. cereus* a *B. subtilis* (Němečková a kol., 2011).

Trávení laktózy z FMV je lepší než z mléka, a to především kvůli obsahu enzymu β -galaktosidázy, který je nezbytný pro hydrolýzu laktózy a je aktivní po konzumaci výrobku. Proto mohou být některé FMV vhodné pro osoby trpící intolerancí laktózy (Sarkar a Misra, 2010).

Tabulka 5 Mikrobiologické požadavky na jednotlivé mléčné výrobky a na druhy živých mikroorganismů mléčného kvašení v kysaných mléčných výrobcích (příloha č.1 k Vyhlášce č. 397/2016 Sb., Sběrka zákonů, 2016)

Druh výrobku	Použité mikroorganismy	Mléčná mikroflóra výrobku v 1 g
Kysané či zakysané mléčné výrobky dále neuvedené, např. kysané mléko, smetanový zákys, zakysané podmásli, zakysaná smetana, kysané mléčné nápoje	monokultury nebo směsné kultury bakterií mléčného kvašení	10^6
Acidofilní mléko	<i>Lactobacillus acidophilus</i> a další mezofilní, příp. termofilní kultury bakterií mléčného kvašení	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Jogurty včetně jogurtového mléka	protosymbiotická směs <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> a <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	10^7
Kefír	zákys připravený z keřirových zrn nebo keřirové kultury, jehož mikroflóra se skládá z kvasinek zkvašujících laktózu <i>Kluyveromyces marxianus</i> i nezkvašujících laktózu <i>Sacharomyces unisporus</i> , <i>Sacharomyces</i>	z bakterie mléčného kvašení 10^6 a kvasinky 10^4

cerevisiae, *Sacharomyces exignus* a dále *Leuconostoc*, *Lactococcus* a *Aerobacter*, rostoucí ve vzájemném společenství

Kefírové mléko	zákys skládající se z bakterie mléčného kvašení kvasinkových kultur rodu 10^6 a kvasinky 10^2 <i>Kluyveromyces</i> , <i>Torulopsis</i> nebo <i>Candida valida</i> a mezofilních a termofilních kultur bakterií mléčného kvašení v symbióze
Kysaný mléčný výrobek s bifidokulturou	<i>Bifidobacterium</i> sp. v 10^6 bifidobakterie kombinaci s mezofilními a termofilními bakteriemi mléčného kvašení

3.5.1.1 Jogurt

Jogurt je dle studie nejčastěji konzumovaným mléčným výrobkem, a to zejména pro svou dobrou stravitelnost, vysokou nutriční hodnotu a širokou nabídku v tržní síti. Smyslové a výživové vlastnosti lze zlepšit přidáním dalších složek, jako je např. ovoce či med (Samková a kol., 2014; Costa et al., 2016). Díky proteolytické aktivitě jsou jogurty oxidativně stabilnější než mléko (Marya et al., 2017).

Jogurt se vyrábí za použití jogurtové startovací kultury složené z bakterií *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* v poměru 1:1. Kultivace probíhá při 42 °C přibližně 3 hodiny (Ma et al., 2015). Tepelně ošetřené mléko se naočkuje 1-2 % jogurtovou kulturou a poté se plní do spotřebitelských obalů, ve kterých se nechá zrát (Görner a Valík, 2004). Jogurtové kultury během fermentace produkují acetaldehyd, který je hlavním nositelem chuti jogurtů. Okyselení jogurtu při výrobě zajišťuje *S. thermophilus* (Ma et al., 2015).

Jogurty lze rozdělit do několika kategorií podle způsobu výroby, a to na jogurt pevným koagulátem (set type), s rozmíchaným koagulátem (stirred type), jogurty určené k pití (drink type), mražené jogurty a koncentrované jogurty (Park a Haenlein, 2013).

Do jogurtů s nízkým obsahem tuku se jako zahušřovadlo přidává škrob. Škrob v jogurtech zvyšuje jejich viskozitu, zlepšuje strukturu a snižuje citlivost k synerezi, která je také nejčastější vadou jogurtů (Ropciuc at al., 2016).

3.5.1.2 Kefír

Kefír je nápoj vyrobený mléčně-alkoholickým kvašením s mírně nakyslou až kvasničnou chutí. K jeho výrobě se používají kefírová zrna skládající se z laktobacilů, laktokoků, kvasinek a bakterií octového kvašení, nebo přirozená počáteční kefírová kultura (Lacmanová a kol, 2010; Kök-Taş et al., 2013).

Mikroorganismy produkují během fermentace kyselinu mléčnou, acetaldehyd, aceton a ethanol, které souvisejí s charakteristickými smyslovými vlastnostmi kefíru (Lacmanová a kol, 2010; Kök-Taş et al., 2013). Obsah kyseliny mléčné je nejčastěji kolem 0,8 % a alkoholu 1 % (Park a Haenlein, 2013). Fermentace průmyslového kefíru probíhá v tancích 8-20 hodin při teplotě 20-22 °C, kefír poté dozrává až 7 dní při teplotě 8-16 °C (Farnworth, 2008).

V průběhu fermentace se tvoří exopolysacharid (EPS) známý jako kefíran. Kefíran je ve vodě rozpustný rozvětvený glukolaktan složený z D-glukózy a D-galaktózy, který má příznivý vliv na technologické i organoleptické vlastnosti kefíru. Hlavními producenty EPS jsou *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus parakefir* a *Lactobacillus kefiranofaciens*. Kefíran projevuje antikarcinogenní, antimutagenní, imunostimulační, antialergické či protizánětlivé účinky (Lacmanová a kol, 2010; Kök-Taş et al., 2013).

V některých zemích je kefír doporučován v dětské výživě, kojencům, matkám po porodu, ale i lidem trpícím laktózovou intolerancí, vzhledem ke své dobré stravitelnosti díky schopnosti některých mikroorganismů zvyšovat ve střevech aktivitu enzymu β -galaktosidázy (Farnworth, 2008).

3.5.1.3 Acidofilní mléko

Při výrobě acidofilního mléka se v současné době používá acidofilní probiotická kultura (ABT) (Šalaková a kol., 2016) Mléko se očkuje probiotickou bakterií

Lcb. acidophilus v množství 2-5 % a je inkubováno při teplotě 37 °C po dobu 12 hodin. Do acidofilního mléka se mohou přidávat i startérové kombinace bakterií *Bifidobacterium bifidum* a *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *s hermannii*.

Specifickou chuť a vůni acidofilního mléka způsobuje diacetyl, aceton a těkavé kyseliny, které vznikají v průběhu fermentace (Park a Haenlein, 2013; Sarkar a Misra, 2010).

3.5.2 Sýry

Sýr je dle Vyhlášky č. 397/2016 Sb. definován jako mléčný výrobek vyrobený vysrážením mléčné bílkoviny z mléka působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel, oddělením podílu syrovátky a následným prokysáním a zráním. Po celém světě se ročně vyprodukuje přibližně 17 milionů tun sýra, což tvoří 30 - 40 % celkové produkce mléka. Mezi největší oblasti výroby patří Evropa (52 %), Amerika, Austrálie a Nový Zéland. Existuje přibližně 1000 druhů sýra, mezi ty nejznámější patří Cheddar, Mozzarella, Gouda, Emmental či Camembert (Park a Haenlein, 2013).

Při výrobě sýra se tepelně ošetřené mléko naočkuje až 2 % bakterií vhodné startérové kultury BMK s přídavkem syřidla (Park a Haenlein, 2013). Do starérové kulturní mikroflóry lze zařadit např. zákysové kultury mezofilní (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus*) a termofilní (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*) (Doležalová a kol., 2013). Do některých sýrů se přidává sekundární nstartérová mikroflóra (zrací kultura), která zajišťuje specifické, zejména organoleptické vlastnosti sýru. Jako např. do švýcarských sýrů se přidává *Propionibacterium shermanii*, do zrajících sýrů na povrchu *Brevibacterium*, do sýrů s modrou plísní *Penicillium roqueforti* nebo *P. camemberti* a *Geotrichum candidum* do sýrů s plísní na povrchu (Park a Haenlein, 2013).

Mléko je převedeno do nádrží, kde probíhají tři základní procesy: okyselení, koagulace a dehydratace. Okyselení (pH 4,6) probíhá pomocí BMK. Po okyselení následuje koagulace neboli vysrážení mléčných bílkovin za vzniku gelu (sýřeniny), který zachycuje mléčný tuk. Koagulaci zajišťuje především syřidlo. Nejúčinnější je syřidlo živočišné získané z předžaludků telat, kde je aktivní látkou enzym chymozin, který je později nahrazen proteolytickým pepsinem. Z ekonomických důvodů se častěji využívá rostlinných či komerčně vyráběných syřidel. Po vysrážení se sýřenina krájí za současného vylučování

syrovátky. Podle druhu sýra následují další procesy, jako např. zrání, tepelné opracování či přidání dalších přísad (Park a Haenlein, 2013).

Výsledná kvalita sýra je ovlivněna především složením mléka při výrobě, obsahem tuku, bílkovin, vápníku a pH. Zvýšený počet somatických buněk v mléce ($>300 \times 10^3 - 1000 \times 10^3$ /ml) snižuje obsah kaseinu a tuku, to zhoršuje koagulaci mléka a tvorbu sýřeniny, snižuje výtěžnost sýra a způsobuje proteolýzu během zrání díky vyšší vlhkosti sýra.

Sýr lze připravit z čerstvého i pasterovaného mléka. Sýr vyrobený ze syrového mléka má intenzivnější chuť, ale představuje určité riziko pro lidské zdraví vzhledem k možné mikrobiologické kontaminaci (Park a Haenlein, 2013).

Nežádoucím mikroorganismem při výrobě sýrů je *Clostridium tyrobutyricum*, který katabolizuje kyselinu mléčnou za produkce CO_2 , H_2 a kyseliny máselné. Způsobuje duření sýru a nepříjemnou chuť. Růstu *C. tyrobutyricum* lze předejít rychlým poklesem pH, solením či eliminací vlhkosti (Park a Haenlein, 2013).

Výrobce má povinnost stanovit koaguláza-pozitivní stafylokoky ((ES) č. 2073/2005) a to s důrazem na sýry vyrobené ze syrového mléka, sýry podrobené jinému tepelnému ošetření, než je pasterace, zrající sýry a měkké nezrající sýry (Němečková a kol., 2017).

Zrající sýry jsou ideálním substrátem pro růst patogenní bakterie *Listeria monocytogenes*. Ke kontaminaci dochází nejčastěji z technologického zařízení a z prostředí zpracovatelských podniků. *L. monocytogenes* je schopna růstu i za chladírenských podmínek. Dle Nařízení Komise (ES) 2073/2005 je požadována její nepřítomnost v 25 g testovaného vzorku a v tržní síti je její počet limitován na log 2 KTJ/g (Gelbíčková a Karpíšková, 2016). *L. monocytogenes* lze eliminovat konzervací potravin, jako např. vysokou teplotou, která ale výrazně ovlivňuje výslednou kvalitu produktu. Tato bakterie způsobuje závažnou nemoc listeriózu (Van Nassau et al., 2017).

Dalšími patogenními mikroorganismy, které lze identifikovat v sýrech je *E. coli*, *Salmonella enteritica* a některé plísňe (Šafařík a Šafaříková, 2012).

3.5.3 Máslo

Máslo je emulze vody v oleji s minimálním obsahem tuku 80 %. Celosvětově spotřeba másla dosahuje až 4,1 milionu tun ročně.

Máslo obsahuje několik složek, které mají pozitivní vliv na lidské zdraví, jako např. lipoproteinovou membránu mléčného tuku (MFGM), konjugovanou kyselinu linolenovou (CLA) a mastné kyseliny. MFGM se skládá z bioaktivních složek, které jsou důležité především pro správnou funkci buněčného množení, apoptózy buněk, signální transdukce a koagulace krve. Sfingolipidy obsažené v MFGM snižují cholesterol a mají antibakteriální vlastnosti (Park a Haenlein, 2013).

Na povrchové kažení a hydrolytické žluknutí másla se podílí *Pseudomonas fluorescens*, *P. putrefaciens* a *P. fragi* (Němečková a kol., 2012).

3.5.4 Sušené mléčné výrobky

Sušené mléčné výrobky jsou oblíbené zejména pro svou lepší skladovatelnost a dlouhou dobu trvanlivosti. Sušenými mléčnými výrobky rozumíme sušené plnotučné mléko, sušené odstředěné mléko, koncentrát syrovátkového proteinu, syrovátkový proteinový izolát, mléčný proteinový izolát, kasein a kaseináty. Sušené mléčné výrobky mají řadu využití jako například v cukrovinkách, kojenecké výživě, sportovní výživě jako doplněk stravy či jako doplněk pro obnovu zdraví (McHugh et al., 2017).

Jsou stanoveny přísné normy a kontroly na množství a druhy mikroorganismů přítomných v sušených mléčných výrobcích. Především se klade důraz na sporulující bakterie, díky své schopnosti přežít v extrémních podmínkách. Množství mikroorganismů výrazně snižují tepelná ošetření použítá při výrobě mléčných prášků, přesto za těchto podmínek dokáží přežít sporotvorné bakterie, které nepříznivé podmínky přežijí ve formě spor a poté opět začnou pokračovat v klíčení a růstu. Nejčastějšími kontaminanty sušených mléčných výrobků jsou bakterie rodu *Bacillus* spp., ale také *Clostridium halophilum*, *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. haemolyticum*, *C. sporogenes*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus aureus* a *Cronobacter sakazakii* (McHugh et al., 2017).

3.6 Vliv na lidské zdraví

Na zdraví člověka se až z 65 % podílí životní styl, z čehož 60 % zastupuje způsob výživy (Samková a kol., 2014). Mléko a mléčné výrobky patří mezi potraviny s vysokým obsahem významných nutričních látek nezbytných pro správnou funkci lidského organismu. Zejména v mléčných výrobcích, které procházejí fermentačním procesem dochází k zvýšení

biologické hodnoty oproti původní surovině. Některé takto upravené výrobky můžeme zařadit mezi tzv. funkční potraviny.

Mléčné výrobky obsahují více bílkovin ve srovnání s mlékem, protože se fyziologicky aktivní složky bílkovin v mléčných výrobcích zvyšují tvorbou aminokyselin a peptidů během inkubace, zrání a skladování. Většina bioaktivních peptidů má opioidní, antitrombotické, antihypertenzní, imunomodulační a antimikrobiální vlastnosti. Ve fermentovaných mléčných výrobcích produkují laktobacily řadu proteáz a peptidáz, které zajišťují štěpení kaseinu za tvorby biologicky aktivních peptidů. Některé studie uvádí, že jogurty obsahují imunomodulační bioaktivní peptidy, které omezují buněčnou proliferaci střevních epitelárních buněk (IEC-6 a Caco-2 buňky). Tím je vysvětlována snížení incidence rakoviny tlustého střeva u konzumentů jogurtů. Některé sýry také vykazují aktivitu biologicky aktivních peptidů, které se tvoří zejména při zrání sýrů, a mají příznivý vliv na tenké střevo a zubní sklovinu (Vorlová, 2013).

Pravidelná konzumace fermentovaných kysaných mléčných výrobků a sýrů snižuje LDL cholesterol, především díky tvorbě exopolysacharidů, vysokému obsahu vápníku a textuře výrobku (Vorlová, 2013).

Mléčné výrobky jsou výborným zdrojem anorganických substrátů (Na, K, Cl, Ca, Mg, P) a anorganických biokatalyzátorů (Se, Cr, Zn, I, Cu, Mn, Fe, Mo, Ni, Si, B, As). Díky fermentačním procesům dochází ke zlepšení jejich využitelnosti, především vápníku a fosforu až o 11 % oproti mléku. Rozpustnost minerálií v tenkém střevě souvisí s tvorbou kyseliny mléčné a bioaktivních peptidů (Vorlová, 2013).

Některé bakterie mléčného kvašení eliminují aktivitu fekálních enzymů ve střevech a tím snižují mutagenní aktivitu a růst nádorových buněk (Vorlová, 2013).

Dle studií konzumace mléka a mléčných výrobků klesá s věkem, což můžeme vyhodnotit jako neuspokojivé. Pravidelná konzumace kvalitních bílkovin působí preventivně na úbytek svalové hmoty (sarkopenii), která je fyziologickým projevem stárnutí organismu. Mléčné bílkoviny, zejména syrovátkové proteiny jsou považovány za velmi kvalitní zdroj bílkovin. Sirovátkové proteiny jsou vhodné pro starší osoby, především pro svou snazší stravitelnost a schopnost stimulace syntézy svalových proteinů (Samková a kol., 2014; Wildová a kol., 2015)

Není doporučováno vyřadit mléko a mléčné výrobky z jídelníčku. Lidé, kteří odmítají dlouhodobě konzumovat mléko a mléčné výrobky trpí především nedostatkem vápníků.

To se časem projeví bolestmi kloubů, zvýšenou kazivostí zubů, křivicí, svalovými křečemi, nekvalitními nehty, ale i depresí či ztrátou paměti. Vápník lze doplňovat i z jiných potravin, jako např. mák, pohanka, semínka, ořechy, kapusta aj. Obsahem vápníku je srovnatelná jedna sklenice mléka s 3 kg ovoce nebo 750 g zeleniny. Mléko proto představuje efektivnější zdroj vápníku oproti rostlinným zdrojům (Kopáček, 2017).

3.6.1 Laktózová intolerance

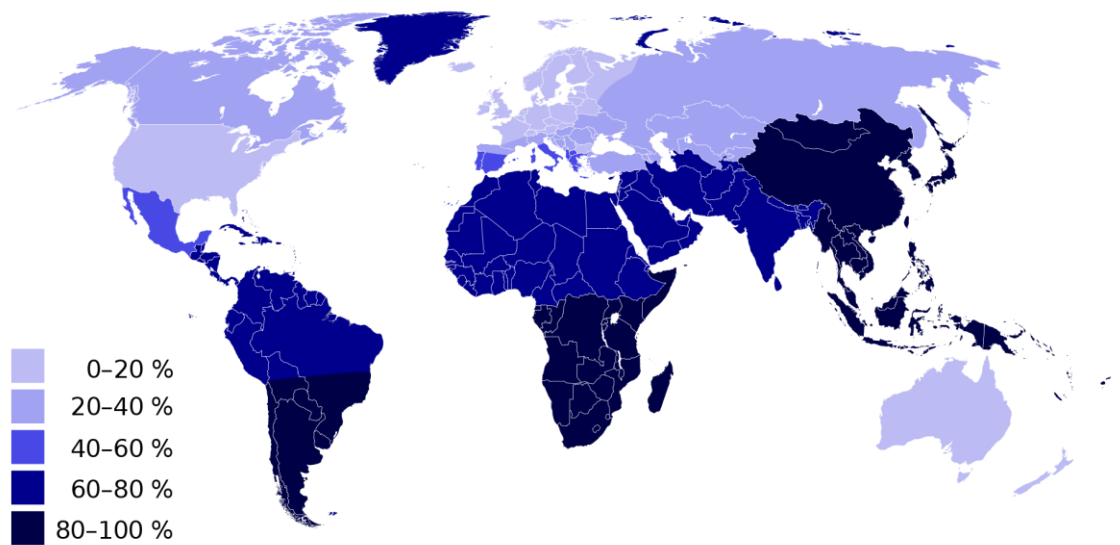
Laktózovou intoleranci lze definovat jako geneticky podmíněnou metabolickou poruchu lidí, kteří nejsou schopni trávit mléčný cukr (laktózu) z mléka kvůli nedostatečné tvorbě enzymu β -galaktosidázy (laktázy) (Park a Haenlein, 2013). Tento enzym je tvořen buňkami tenkého střeva, ale jsou ho schopny produkovat i některé bakterie mléčného kvašení (*Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* atd.) (Kopáček, 2017).

K trávení laktózy v trávicím traktu je nezbytná aktivita enzymu β -galaktosidázy. β -galaktosidáza zajišťuje rozložení laktózy na monosacharidy laktózu a galaktózu. Pokud nedojde k rozštěpení laktózy v tenkém střevu, pokračuje do kyčelníku a tlustého střeva, kde se na jejím rozkládání podílejí bakterie mléčného kvašení za produkce vodíku, metanu, oxidu uhličitého a organických kyselin. To způsobuje podráždění střevní sliznice a následnou plynatost, bolesti břicha a průjemy (Kopáček, 2017).

U kojenců je aktivita β -galaktosidázy téměř stoprocentní a během prvních 4 let se může snížit až o 90 %. Z toho lze vyvodit, že se zvyšujícím se věkem se snižuje tolerance laktózy v důsledky snížené tvorby β -galaktosidázy. Někteří lidé ale prodělali mutaci na chromozomu 2, který zajistí nepřerušování tvorby enzymu β -galaktosidázy a mohou tak celý život konzumovat mléko a mléčné výrobky bez omezení (Kopáček, 2017).

Ze studií lze vyvodit i určitou spojitost nedostatku enzymu β -galaktosidázy se zeměpisnou oblastí, kde lidé žijí. Nejnižší výskyt laktózové intolerance se objevuje v severských státech, naopak největší procento obyvatel trpících nesnášenlivostí mléčného cukru pochází z východní Evropy, Středomoří, a především z Afriky, kde laktózová intolerance může stoupat až k 80 - 100 % (viz. Obrázek 6) (Kopáček, 2017).

Obrázek 6 Procentuální vyjádření laktóзовé intolerance ve světě (Kopáček, 2017).



V současné době jsou definovány tři základní typy laktóзовé intolerance. Prvním a nejčastějším typem je primární, geneticky podmíněná laktóзовá intolerance, která se běžně projevuje v období puberty nebo pozdním dospívání a trpí jí až 70 % populace (Park a Haenlein, 2013).

Druhým typem je získaná sekundární laktóзовá intolerance, která se projeví v důsledku poškození střevní sliznice např. po nemoci, chirurgickým zákroku, ozařování, častou konzumací léků (antibiotik), ale také při celiakii nebo Crohnově chorobě. Sekundární intolerance laktóзы může působit jen dočasně (Park a Haenlein, 2013).

Velmi vzácná je vrozená laktóзовá intolerance, která se projevuje v prvním týdnu života. Kojenci trpí úplnou absencí β -galaktosidázy, to způsobuje infantilní průjmy, zvracení a může dojít až k selhání organismu v důsledku dehydratace. Je proto nutná bezlaktóзовá dieta (Park a Haenlein, 2013).

Většina lidí trpící laktóзовou nesnášenlivostí dokáže tolerovat až 12 g laktóзы v jedné dávce (240 ml mléka) s minimálními potížemi. Podle stupně intolerance se přizpůsobuje dieta. V současné době je na trhu dostupné velké množství výrobků se sníženým obsahem laktóзы. Vhodná je konzumace fermentovaných mléčných výrobků a sýrů, kde je množství laktóзы sníženo. Řešením jsou i enzymatické tablety s obsahem β -galaktosidázy, které jsou běžně dostupné v lékárně. Ke zvýšení schopnosti organismu trávit laktóзу lze přispět i pravidelnou konzumací mléka a mléčných výrobků v malém množství (Kopáček, 2017).

Laktózovou intoleranci lze diagnostikovat gastrokopií, provokačním laktózovým testem nebo dechovým testem, kde se stanoví množství vydechaného vodíku, který se tvoří při kvašení mléčného cukru po konzumaci výrobku. Laktózová intolerance je také často chybně zaměňována s alergií na mléčnou bílkovinu (Kopáček, 2017).

3.6.2 Alergie na mléčnou bílkovinu

Alergie je zprostředkovaná imunitním systémem a vyvolává negativní reakci lidského organismu na daný podnět (alergen). V případě alergie na mléčnou bílkovinu (ABKM) je to zejména kasein (65 %). Mezi další bílkovinné alergeny mléka patří syrovátkové bílkoviny β -laktoglobulin, α -laktalbumin, imunoglobulin, sérový albumin a laktoferin (Park, Haenlein, 2013).

Potravinové alergie se rozdělují na základě imunologických vlastností mechanismu na alergie zprostředkované protilátkami typu IgE (imunoglobulin typu E) nebo non-IgE a na smíšené alergie zprostředkované IgE a non-IgE (Park, Haenlein, 2013).

Alergii na mléčnou bílkovinu lze charakterizovat jako okamžitou hypersenzitivitu na bílkovinu kravského mléka, která je nejčastěji vyvolána produkcí IgE protilátek proti specifickým proteinům. Tato protilátka pak po konzumaci určitého alergenu vyvolá během několika minut alergickou reakci (Park, Haenlein, 2013).

Patofyziologická reakce má dvě fáze. V první, senzibilizační fázi produkuje imunitní systém IgE protilátky, které se navážou na specifické receptory na povrchu žírných buněk nebo bazofilů. To vede k uvolňování (degranulaci) fyziologicky aktivních mediátorových molekul, jako např. histaminu, leukotrienu nebo prostaglandinu. V druhé fázi vzniká působením mediátorů na různé tkáně alergická reakce (Park, Haenlein, 2013).

Symptomy alergické reakce na mléčnou bílkovinu jsou různorodé. Alergie se může projevit lokálně jako kožní onemocnění (kopřivka, atopický ekzém, angioedém), může postihnout gastrointestinální trakt (preorální alergický syndrom, nevolnost, zvracení, průjem, bolesti břicha), respirační trakt (astma, rýma, otok hrtanu) nebo systémově způsobit anafylaktický šok (Park, Haenlein, 2013).

ABKM je nejčastější alergií postihující kojence (2-3 %) a děti do 3 let, která většinou do několika let odezní. Alergií trpí především kvůli brzkému zařazení kravského mléka do

jejich stravy. Proto je doporučováno během prvních 4-6 měsíců kojit, ale nevyhýbat se alergenním potravinám ve snaze předcházet alergiím (Park, Haenlein, 2013).

Jako možnou alternativou kravského mléka bylo navrženo mléko kozí či ovčí, zejména kvůli nižšímu množství kaseinových bílkovin (viz. Tabulka 6). Dle studie DBPCFC po konzumaci kozího mléka negativně reagovalo 24 z 26 pacientů trpící ABKM, proto se kozí mléko ani výrobky z něj nedoporučují osobám trpící ABKM (Park, Haenlein, 2013). Přesto jsou některé studie přesvědčeni o nižší alergicitě kozího mléka. I přes jeho specifickou chuť, kterou mnoho lidí odmítá, vzrostl zájem o výrobky z kozího mléka, zejména jogurty, a to především kvůli jeho funkčním vlastnostem a trendem zdravého životního stylu (Costa et al., 2016). Další možnost, jak nahradit především důležité bílkoviny z kravského mléka je mléko vyrobené ze sójových bobů (Ikya et al., 2013).

Tabulka 6 Porovnání zastoupení (%) hlavních kaseinových frakcí obsažených v kravském a kozím mléce (převzato od Park a Haenlein, 2013, upraveno autorem).

kaseinové frakce	kravské mléko	kozí mléko
α -kasein	56	26
β -kasein	33	64
k-kasein	11	10

3.6.2.1 Sójový nápoj

„Sójové mléko“, správně nazývané sójový nápoj je bílá emulze oleje, vody a bílkovin. Je svou konzistencí a vzhledem podobný kravskému konvenčnímu mléku, a proto je často používáno jako jeho alternativa např. při potravinové alergii, intoleranci laktózy nebo v rozvojových zemích, kde je považováno za levný zdroj kvalitních bílkovin. Má specifickou chuť po sójových bobech (Ikya et al., 2013).

Sójové mléko obsahuje přibližně 3,5 % bílkovin, 2,9 % sacharidů a asi 2 % tuku bez obsahu cholesterolu. Dle ICMSF je povolený limit celkového počtu mikroorganismů 10^7 /ml (Ikya et al., 2013).

Přidáním *Lbc. plantarum* do sójových výrobků lze eliminovat nadýmání, které sója způsobuje. Fermentační proces je také schopen zredukovat alergické reakce na sóju (až o 99 %) a zvýšit obsah i využitelnost esenciálních aminokyselin a peptidů (Šalaková a kol., 2013).

4 Závěr

V syrovém mléce lze identifikovat širokou škálu mikroorganismů, především kvůli vysokému obsahu živin a téměř neutrálnímu pH, které z mléka tvoří ideální prostředí pro jejich růst.

Některé mikroorganismy znehodnocují mléko působením svých enzymů způsobující nechtěné organoleptické změny mléka a mléčných výrobků. Zvláště nežádoucí jsou patogenní mikroorganismy, jako např. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus* sp., *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. a *Listeria monocytogenes*, které jsou schopny vyvolat po konzumaci kontaminované potravinou specifické alimentární onemocnění.

Při výrobě mléčných produktů, zejména fermentovaných mléčných výrobků je nutné použít mlékařské kultury, zejména bakterie mléčného kvašení (*Lactobacillus* sp., *Lactococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Bifidobacterium* sp.), které štěpí laktózu za produkce kyseliny mléčné.

Mikrobiologická nezávadnost mléka a mléčných výrobků je zajištěna tepelným ošetřením, důležité je i správné chladiřenské skladování a dodržení hygienických podmínek při zpracování, aby se zamezilo postpasterizační kontaminaci.

Mléko a mléčné výrobky obsahují plnohodnotný zdroj živin, potřebných pro správný vývoj organismu, proto je konzumace mléka z výživového hlediska velmi důležitá. Pozitivní vliv na lidské zdraví mají především fermentované mléčné výrobky, kde v důsledku fermentačního procesu dochází k zvýšení jejich biologické hodnoty a řadí se tak mezi tzv. funkční potraviny.

5 Seznam literatury

- Angelidis, A.S., Tsiota, S., Pexara, A., Govaris, A. 2016. The microbiological quality of pasteurized milk sold by automatic vending machines. *Letters in Applied Microbiology*. 62(6). p. 472-479.
- Asperger H., Zangerl P. 2011. Pathogens in Milk: *Staphylococcus aureus* – Dairy. In: Fuquay J. W., Fox P. F., McSweeney P. L. H. (eds.). *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier. Amsterdam. 2nd ed. 4. p. 111-116.
- Barton M. D. 2011. Pathogens in Milk: *Yersinia enterocolitica*. In: Fuquay J. W., Fox P. F., McSweeney P. L. H. (eds.). *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier. Amsterdam. 2nd ed. 4. p. 117-123.
- Bhunia A. K. 2008. *Foodborne microbial pathogens: mechanisms and pathogenesis*. Springer. New York. p. 276.
- Binder M., Nehyba A., Šalaková A., Sedlák V. 2016. Semi-kontinuální fermentace sladké syrovátky za účelem produkce nisinu kmenem *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCDM 731. *Mlékařské listy*. 158. s. 19-22.
- Bogdanovičová K., Štástková Z., Vyletělová-Klimešová M., Karpíšková R. 2015. Mikrobiologická kvalita mléka z jihomoravských mléčných automatů. *Mlékařské listy*. 151. s. I-III.
- Bouška, J., Doležal, O., Jílek, F., a kol. 2006. *Chov dojeného skotu*. Nakladatelství Profi Press. Praha. 186 s. ISBN: 80-86726-16-9.
- Burezq, H. A. Razzaque. 2018. Effects of immunizing pregnant ewes and does on the humoral immune response of secreted colostrum. *JAPS: Journal of Animal* [online]. 28(1). p. 341-347.
- Bursová Š., Necidová L., Lněničková Z., Rojíčková K. 2015. Hodnocení růstu *Yersinia enterocolitica* v pasterovaném kravském a kozím mléce v závislosti na skladovacích podmínkách. *Mlékařské listy*. 152. s. XII-XV.
- Christiansson A. 2011. Pathogens in Milk: *Bacillus cereus*. In: Fuquay J. W., Fox P. F., McSweeney P. L. H. (eds.). *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier. Amsterdam. 2nd ed. p. 24-30.
- Costa, R.G., Beltrão Filho, E.M., de Sousa, S., da Cruz, G.R.B., Queiroga, R.de..C.R.do..E., da Cruz, E.N. 2016. Physicochemical and sensory characteristics of yoghurts made from goat and cow milk. *Animal Science Journal*. 87 (5). p.703-709.
- Čepička, J. (ed.). 1995. *Obecná a potravinářská technologie*. Praha. VŠCHT.
- Desmarchelier P., Fegan N. 2011. Pathogens in Milk: *Escherichia coli*. In: Fuquay J. W., Fox P. F., McSweeney P. L. H. (eds.). *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier. Amsterdam. 2nd ed. p. 60-66.
- Doležalová M., Stratilová Jermářová M., Holko I. 2013. Mikrobiologická nezávadnost sýrů zrajících pod mazem. *Mlékařské listy*. 136. s. I-IV.

- Dušková M., Morávková M., Vlková H., Zobaníková M., Karpíšková R. 2017. Rezistence startovacích kultur k antimikrobikům. *Mlékařské listy*. 164. s. 12-15.
- Drbohlav J., Bártová J., Šalaková A., Roubal P., Kokešová A. 2010. Studium imunomodulačních účinků bakterií mléčného kvašení. *Mlékařské listy* 120. s. 22-25.
- Farnworth E. 2008. *Handbook of Fermented Functional Foods: Functional Foods and Nutraceuticals Series*. 2nd ed. CRC Press. London. ISBN: 978-1-4200-5328-9.
- Fernandes R. 2009. *Microbiology handbook: mechanisms and pathogenesis*. Leatherhead Publishing a Royal Society of Chemistry. Cambridge. 3rd ed. p. 173.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. 1998. *Dairy chemistry and biochemistry*. Blackie Academic & Professional, an imprint of Thomson Science. London. ISBN: 0412720000.
- Gaur, V., Schalk, J. & Anema, S.G. 2018. Sedimentation in UHT milk. *International Dairy Journal*. 78. p. 92-102.
- Gelbíčová T., Karpíšková R. 2016. Modelový růst *Listeria monocytogenes* na povrchu zrajících sýrů. *Mlékařské listy*. 159. s. 35-38.
- Granum P. E., Lund T. 1997. *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. *FEMS Microbiol. Lett.* 157. p. 223-228.
- Görner, F., Valík L., 2004. *Aplikovaná mikrobiologie poživatin*. Bratislava. Vydavateľstvo Malé centrum, 528 s. ISBN 80-967064-9-7.
- Hamiroune M., Berber A., Boubekour, S. 2016. Evaluation of the bacteriological quality of raw cow's milk at various stages of the milk production chain on farms in Algeria. *OIE Revue Scientifique et Technique*. 35(3). p. 925-946.
- Hasoňová L., Samková E., Beerová M., Klimešová M., Kala R. 2017. Změny v hodnotách celkového počtu mikroorganismů při skladování syrového kravského mléka. *Mlékařské listy*. 161. s. 1-3.
- Hayes M. C., Boor K. 2001. *Raw Milk and Fluid Milk Products*. In: Marth E. H., Steele J. L. (eds.). *Applied dairy microbiology*. Marcel Dekker. New York. 2nd ed. p. 59-76.
- Hilton D. 2017. Optimum Thermal Processing for Extended Shelf-Life (ESL) Milk. *Foods*. 6 (11). p 102.
- Hodulová L., Vorlová L., Kostrhounová R., Klimešová M., Hanuš O. 2016. Aktuální obsah vitamínu a v kravskom a kozom mlieku v ČR. *Mlékařské listy*. 154. s. 7-9.
- Holzappel W. H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., Schillinger U. 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73. p. 365-373.
- Horáčková Š., Žaludová K., Plocková M. 2010. Výběr bakterií mléčného kvašení s probiotickými vlastnostmi. *Mlékařské listy*. 123. s. IV-VII.

- Horáčková Š., Martínková K., Sluková M., Plocková M. 2014. Životaschopnost a metabolická aktivita volných a enkapsulovaných bifidobakterií. *Mlékařské listy*. 146. s. XVII-XX.
- Hyršlová I., Chmúrová J., Krausová G., Čurda L. 2014. Potenciál kravského kolostra pro aplikaci do fermentovaných mléčných výrobků. *Mlékařské listy*. 147. s. XII-XIV.
- Hyršlová I., Smolová J., Bártová j., Staňková B. 2017. Imunomodulační a prebiotické vlastnosti *Dunaliella salina*. *Mlékařské listy*. 163. s. 18-21.
- Chramostová J., Havlíková Š., Pukrtová S., Němečková I., Roubal P. 2014. Potenciál mikroorganismů při kažení mléka a mlékarenských produktů. *Mlékařské listy*. 147. s. XVII-XX.
- Ingr, I. 2003. *Zpracování zemědělských produktů*. Brno: MZLU. 249 s. ISBN: 8071575208.
- Ikya, J.K., Gernah, D.I., Ojobo, H.E., Oni, O.K. 2013. Effect of cooking temperature on some quality characteristics of soy milk. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 5(5), p. 543-546.
- Klimešová M., Manga I., Nejeschlebová L., Ponížil A., Horáček J., Hanuš O., Vondrušková E., Žák P. 2016. Prevalence *Staphylococcus aureus* a MRSA u dojného a masného skotu ZD Jeseník. *Mlékařské listy*. 159. s. 8-10.
- Kopáček, J. 2015. *Mléko a mléčné výrobky edice Jak poznáme kvalitu? 1. vyd. Sdružení českých spotřebitelů, z. ú. a Potravinářská komora ČR v rámci priorit České technologie platformy pro potraviny*. 31 s. ISBN: 978-80-87719-18-3 (Sdružení českých spotřebitelů). ISBN: 978-80-88019-02-2 (Potravinářská komora ČR).
- Kuchtík J., Šustová K., Kalhotka L. Pavlata L. 2015. Celkový počet mikroorganismů a počet somatických buněk v kozím mléce a jejich korelace. *Mlékařské listy*. 152. s. XIX-XXVI.
- Kvapilík J., Syrůček J. 2013. Počet somatických buněk a další ukazatele jakosti mléka. *Mlékařské listy*. 137. s. X-XV.
- Kök-Taş, T., Seydim, A.C., Özer, B., Guzel-Seydim, Z.B., 2013. Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir. *Journal of Dairy Science*. 96 (2), p.780-789.
- Lacmanová I., Dráb V., Volná L. 2010. Aplikace probiotických kultur laktobacilů v mléčných výrobcích typu kefíru. *Mlékařské listy*. 123. s. XVIII-XXI.
- Lisová I., Kunová G., Chmúrová J. 2013. Probiotické vlastnosti kmenů *Lactobacillus plantarum*. *Mlékařské listy*. 138. s. I-V.
- Loir Y., Baron F., Gautier M. 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet Mol Res*. 2. p. 63-76.
- Ma, C., Chen, Z., Gong, G., Huang, L., Li, S. & Ma, A. 2015, "Starter culture design to overcome phage infection during yogurt fermentation", *Food Science and Biotechnology*, vol. 24, no. 2, pp. 521-527.

- Macek A., Samková E., Hanuš O., Špička J., Sojková K. Kopecký J. 2010. Mastné kyseliny v mléčném tuku a jejich hodnocení ve vztahu k ostatním ukazatelům kvality mléka. *Mlékařské listy*. 121. s. XXVI-XXXI.
- Marejková M., Zieg J., Dušek J., Bláhová K., Petráš P. 2009. Smrtný případ diareapozitivního hemolyticko-uremického syndromu vyvolaného enterohemoragickým *Escherichia coli* O26. *Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie*. s. 212-214.
- Marya, D.T., Nurliyani, Widodo, Sunarti. 2017. Characterization and antioxidant activity of fermented milk produced with a starter combination. *Pakistan Journal of Nutrition*. 16 (6). p. 451-456.
- McAuley, C. M., Singh, T. K.Haro-Maza, J. F., Williams, R., Buckow, R. 2016. Microbiological and physicochemical stability of raw, pasteurised or pulsed electric field-treated milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 38. p. 365-373.
- McHugh, A.J., Feehily, C., Hill, C., Cotter, P.D.,2017. Detection and enumeration of spore-forming bacteria in powdered dairy products. *Frontiers in Microbiology*. 109 (8). p. 1-15.
- Meyer, J. M., Neely, A., Stintzi, A., Georges, C., & Holder, I. A. 1996. Pyoverdinin is essential for virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection and immunity*. 64(2). p. 518-523.
- Mühlhansová A., Horáčková Š., Plocková M. 2016. Stanovení životaschopných laktobacilů s využitím Propidium monoazidu pomocí QPCR. *Mlékařské listy*. 154. s. 9-13.
- Necidová L., Bogdanovičová K. 2015. Vliv pasteračních teplot na aktivitu stafylokokových enterotoxinů typu A, B, C. *Mlékařské listy*. 152. s. I-III.
- Němečková I., Zhexenbay N., Roubal P. 2009. Vliv podmínek skladování na mikrobiologickou kvalitu pasterovaného mléka. 117. s. 31-33.
- Němečková I., Martinková S., Roubal P. 2011. Vliv pH a teploty skladování na mikrobiologickou kvalitu acidofilních mlék. *Mlékařské listy*. 128. s. XV-XVIII.
- Němečková I., Pešek E., Hanušová J., Roubal P. 2012. Kultivační metody stanovení bakterií rodu *Pseudomonas* v mléce. *Mlékařské listy*. 131. s. I-V.
- Němečková I., Chramostová J., Klimešová M., Roubal P., Gelbíčová T., Karpíšková R. 2017. Kultivační metody stanovení stafylokoků v syrovém mléce a jejich porovnání. *Mlékařské listy*. 164. s. 22-28.
- Němečková I., Hlaváčková Z., Šebková T., Smolová J., Strmiska V. Horáčková Š. 2017. Vliv sanitačních roztoků na kvasinky kontaminující mlékárenské provozy a na jejich biofilmy. *Mlékařské listy*. 161 s. 8-13.
- Němečková I., Mihalová D., Kejmarová M., Roubal P. 2015. Metody testování účinnosti sanitačních roztoků proti plísním. *Mlékařské listy*. 152. s. III-VII.
- Nordmann P., Cuzon G., Naas T. 2009. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *The lancet infectious diseases*. 9(4). p.228-236.

- Nordman P., Naas T., Poirel L. 2011. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerging Infectious Diseases*. 17(10) p. 1791.
- Park Y.W., Haenlein G.F.W. 2013. *Milk and Dairy Products in Human Nutrition : Production, Composition and Health*, John Wiley & Sons, Incorporated, Somerset. ISBN: 9781118534205.
- Ropciuc S., Dabija A. 2016. Monitoring the fermentation process and the quality improvement of yogurt with added starch. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference-SGEM*. p. 293-300.
- Samková E., Hasoňová L., Mach K., Smetana P., Kala R. 2014. Obliba mléka a mléčných výrobků mezi mladými konzumenty. 147. s. XV-XVI.
- Sarkar, S. & Misra, A.K. 2010, "Technological and dietetic characteristics of probiotic acidophilus milk", *British Food Journal*, 112 (3). p. 275-284.
- Savaiano, D. A., AbouElAnouar, A., Smith, D. E., & Levitt, M. D. 1984. Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet acidophilus milk, and cultured milk in lactase-deficient individuals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 40(6). p. 1219-1223.
- Scholz-Ahrens K.E. 2003. Nutrients of milk and their relevance for health. *Die Medizinische Welt*. Kiel, Germany. 54(9). p. 222-230.
- Simeonová, J., Gajdůšek S., a Ingr, I. 2003. *Zpracování a zbožíznalství živočišných produktů*. Vyd. 1. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Brno. 122 s. ISBN: 80-7157-708-1.
- Skočková A., Bogdanovičová K., Koláčková I., Vyletělová M., Němečková I., Šustová K., Karpíšková R. 2013. Charakteristika *Escherichia coli* v prvovýrobě mléka. 138. s. III-X.
- Stoeckel M., Lidolt M., Achberger V., Glück C., Krewinkel M., Stressler T., von Neubeck M., Wenning ., Scherer S., Fischer L., Hinrichs J. 2016. Growth of *Pseudomonas weihenstephanensis*, *Pseudomonas proteolytica* and *Pseudomonas sp.* in raw milk: Impact of residual heat-stable enzyme activity on stability of UHT milk during shelf-life. *International Dairy Journal*. 59. p. 20-28.
- Suchý P., Herzig I. 2004. *Plísně a mykotoxiny, Prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech*. Vědecký výbor výživy zvířat. Brno.
- Suchanová E. 2015. Růst a antimikrobiální vlastnosti bifidobakterií a laktobacilů lidského původu. *Mlékařské listy*. 149. s. XIV-XIX.
- Šafařík I., Šafaříková M. 2012. Imunomagnetická detekce patogenních mikroorganismů v sýrech. *Mlékařské listy*. 134. s. III-VI.
- Šalaková A., Nehyba A., Lisová I., Drbohlav J., Roubal P., Dragounová H., Chmúrová J. 2013. Biochemické vlastnosti a schopnost růstu kmenů *Lactobacillus plantarum* v různých kultivačních médiích. 136. s. VII-XII.
- Šalaková A., Pechačová M., Dráb V., Drbohlav J., Pešek E. 2015. Antimikrobiální účinky vybraných bakterií mléčného kvašení. *Mlékařské listy*. 148. s. I-VII.

- Šalaková A., Dragounová H., Drbohlav J., Roubal P. 2016. Laktobacily a jejich uplatnění v kysaných mléčných výrobcích. *Mlékařské listy*. 157. s. 18-22.
- Šviráková E., Purkrťová S., Němečková I., Karpíšková R., Jelínková M. Jürgen. F. 2017. Metody identifikace a charakterizace potravinářských průmyslových izolátů pseudomonas spp. 161. s. 13-20.
- Tamime, A.Y. 2009. *Milk Processing and Quality Management*. John Wiley and Sons. Chichester. p. 344. ISBN: 978-1-4051-4530-5.
- Tamime, A.Y. 2016. *Microbial Toxins in Dairy Products*. Dairy Science and Technology Consultant Ayr. Scotland. p. 1-338. ISBN: 978-111882309-5.
- Thompson, A., Boland, M., Singh, H. 2009. *Milk Proteins from Expression to Food*, Food Science and Technology Series. Elvise. San Diego. 532 s. ISBN: 978-0-12-374039-7.
- Tvrdoň, M. 1978. *Školní atlas mikroorganismů*. Nakladatelství technické literatury. Praha. 178 s. ISBN: 04-815-78.
- Van Nassau T.J., Lenz C.A., Scherzinger A.S, Vogel R.F. 2017. Combination of endolysins and high pressure to inactivate *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*. p. 81-88.
- Vithanage N. R., Dissanayake M., Bolge G., Palombo E.A., Yeager T.R., Datta N. 2017. Microbiological quality of raw milk attributable to prolonged refrigeration conditions *Journal of Dairy Research*. 84(1). p. 92-101.
- Vorlová L. 2013. Nutriční aspekty konzumace mléčných výrobků. *Mlékařské listy*. 140. s. VII-IX.
- Vyhláška č. 397/2016 Sb. ze dne 12.12.2016. Vyhláška o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. [dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-397>]
- Wildová E., Němečková I., Chramostová J. Dlouhý P., Drbohlav J., Anděl M. 2015. Vliv jogurtů s vyšším zastoupením syrovátkových bílkovin na nutriční stav seniorů. *Mlékařské listy*. 151. s. XVI-XIX.
- Yoon, Y., Lee, S., Choi, K-H. 2016. Microbial benefits and risks of raw milk cheese. *Food Control* 63. p. 201-215.