


Prohlášení

Diplomová práce s názvem „**Prokysávací schopnosti mlékařenské suroviny**“ (Fermentation capability of bulk milk under usual conditions) nemůže být vložena do systému STAG vzhledem ke skutečnosti, že zveřejnění dat obsažených ve výše zmíněné práci v dubnu 2012 by bránilo publikování těchto dat ve vědeckém časopisu.

Diplomová práce bude v tištěné podobě k dispozici v Akademické knihovně JU.

Vedoucí diplomové práce


Ing. Eva Samková, Ph.D.



.....

Autor diplomové práce

Lucie Boušková



.....

V Českých Budějovicích

27. dubna 2012

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů

Studijní program: M4101 Zemědělské inženýrství

Studijní obor: Provozně podnikatelský

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Prokysávací schopnosti mlékárenské suroviny

(Fermentation capability of bulk milk under usual conditions)

Vedoucí diplomové práce:

ING. EVA SAMKOVÁ, PH.D.

Konzultant: ING. PAVEL SMETANA

Autor diplomové práce:

LUCIE BOUŠKOVÁ

České Budějovice

2012

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lucie BOUŠKOVÁ**
Osobní číslo: **Z07049**
Studijní program: **M4101 Zemědělské inženýrství**
Studijní obor: **Provozně podnikatelský obor**
Název tématu: **Prokysávací schopnosti mlékárenské suroviny**
Zadávací katedra: *****Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Kysací schopnost je základním znakem, který určuje jakost mléka z hlediska jeho dalšího využití při zpracování na mléčné produkty - jogurty a sýry.

Cílem práce bude vyhodnocení změn v prokysávání syrového a tepelně ošetřeného mléka v závislosti na různých podmínkách fermentace (např. teplota). Při sledování dynamiky prokysávání se zaměříte především na sledování změn titrační a aktivní kyselosti v průběhu prokysávání.

Diplomová práce je součástí řešení projektu OP VK CZ.1.07/2.3.00/09.0081 a bude vypracována na základě pokynů uvedených na www.zf.jcu.cz/studenti/informace-pro-studujici/ podle následující osnovy:

1. **Úvod** - význam řešené problematiky včetně uvedení cílů práce
2. **Literární přehled** - současný stav poznání problematiky včetně faktorů ovlivňujících kysací schopnost mléka zpracovaný na základě studia vědecké a odborné literatury
3. **Materiál a metodika** - popis použitých analytických metod včetně metod statistických
4. **Výsledky a diskuse** - tabulkové a grafické zpracování získaných dat navazující na cíl práce, jejich statistické vyhodnocení a porovnání se zjištěnými literárními údaji
5. **Závěr** - shrnutí výsledků vlastní práce, doporučení vyplývající z řešené problematiky
6. **Summary** - přehled a nejdůležitější výsledky včetně klíčových slov (v anglickém jazyce)
7. **Seznam literatury** - podle zásad ČSN 01 0197, ČSN ISO 690 a ČSN ISO 690-2.

Rozsah grafických prací: 10-20 stran (tabulky a grafy)
Rozsah pracovní zprávy: 30-40 stran textu
Forma zpracování diplomové práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

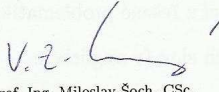
- ČSN 57 0529 Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování. 1993
DRAGOUNOVÁ, H., TOUŠOVÁ, R.: Praktická příručka pro faremní zpracovatele mléka. 1.vyd. Praha: VÚM, ČZU, 2008. 72 s.
NAVRÁTILOVÁ, P.: Problematika reziduí inhibičních látek v syrovém kravském mléce. Veterinářství, 2002, 52 (478-481).
<http://www.vetweb.cz/projekt/clanek.asp?cid=1651&pid=2>
HARPER, W.J., HALL, C.W.: Dairy technology and engineering. Westport, Connecticut: The AVI Publishing Company, 1976, 631 s. ISBN-0-87055-198-1.
KADLEC, P. a kol.: Technologie potravin II. 1.vyd. Praha: VŠCHT, 2002. 236 s. ISBN 80-7080-510-2.
ŠILHÁNKOVÁ, L.: Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. 3. vyd. Praha: Academia, 2002. 363 s. ISBN: 80-200-1024-6.
TEPLÝ, M. et al.: Čistě mlékařské kultury. Výroba, kontrola, použití. Praha: SNTL, 1984. 295 s.
WELCH, R.A.S. et al.: Milk composition, production and biotechnology. CAB Wallingford: CAB International, 1997. 581 s. ISBN 0-85199-161-0

Databáze

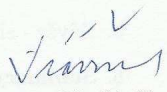
CASLIN, Česká zemědělská bibliografie, CAB Abstracts, PROQUEST, dostupné na: <http://www.zf.jcu.cz/public/departments/knihovna/>

Vědecké a odborné články v časopisech Výživa a potraviny, Mlékařské listy a ve sbornících odborných konferencí, př. sborníky Den mléka (Praha: ČZU), Mléko a sýry (Praha: VŠCHT) aj.

Vedoucí diplomové práce: Ing. Eva Samková, Ph.D.
***Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů
Konzultant diplomové práce: Ing. Pavel Smetana
***Katedra veterinárních disciplin a kvality produktů
Datum zadání diplomové práce: 25. března 2010
Termín odevzdání diplomové práce: 30. dubna 2012


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice


prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 25. března 2010

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně na základě vlastních poznatků a s použitím pramenů, uvedených v přehledu literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách

V Českých Budějovicích, 27. dubna 2012

.....

Lucie Boušková

PODĚKOVÁNÍ

Poděkování za odbornou pomoc, cenné připomínky a rady při zpracování a řešení mé diplomové práce patří obzvláště Ing. Evě Samkové, Ph.D. Děkuji i mé rodině a přátelům, kteří mě po dobu pětiletého studia podporovali.

Zvláštní dík patří paní Bc. Haně Leherové ze společnosti AGRO-LA, spol. s r. o., která mi umožnila provést pokus ve skutečných výrobních podmínkách.

Obsah

1	Úvod.....	- 8 -
2	Literární přehled	- 9 -
2.1	Mikrobiální požadavky na syrové mléko	- 9 -
2.1.1	Psychrotrofní mikroorganismy	- 10 -
2.1.1.1	Mikrobiální lipázy.....	- 11 -
2.1.1.2	Mikrobiální proteázy.....	- 11 -
2.1.2	Termofilní mikroorganismy	- 12 -
2.1.3	Termorezistentní mikroorganismy	- 12 -
2.1.4	Koliformní bakterie.....	- 12 -
2.2	Bakterie mléčného kysání	- 13 -
2.3	Čisté mlékařské kultury	- 15 -
2.4	Inhibiční látky.....	- 15 -
2.5	Technologické vlastnosti mléka	- 16 -
2.5.1	Kyselost.....	- 16 -
2.5.1.1	Titrační kyselost.....	- 17 -
2.5.1.2	Aktivní kyselost	- 17 -
2.5.2	Kysací schopnost.....	- 18 -
3	Seznam literatury	- 23 -

1 Úvod

Prokysávací schopnost mléka je jednou z nejdůležitějších vlastností, podle které hodnotíme kvalitu této suroviny. Tato schopnost je dána množstvím a druhem bakterií mléčného kysání v mléce. Po určitý čas závisela prokysávací schopnost pouze na přirozené kontaminaci mléka bakteriemi mléčného kysání. Získané produkty měly velmi kolísavou jakost podle nahodilých změn mikroflóry. Pro dnešní mlékárenský průmysl je to již nemyslitelné. S objevem čistých mlékařských kultur se vytvořil předpoklad pro pasteraci mléka, a tím i zajištění zdravotní nezávadnosti mléčných výrobků. Syrové mléko je očkováno kulturami s vybraným a předvídatelným působením, aby se dosáhlo jednotné kvality produktů.

Kysané výrobky patří mezi potraviny s řadou pozitivních účinků. Prokysávání produktů v provozovnách je způsobeno vlivem mnoha faktorů, a proto cílem této práce je vyhodnocení změn v prokysávání syrového a tepelně ošetřeného mléka v závislosti na různých fermentačních teplotách. Během fermentačního procesu jsou sledovány změny titrační a aktivní kyselosti.

2 Literární přehled

ČSN 57 0529 definuje syrové kravské mléko jako čisté, čerstvé, neporušené mléko z jedné nebo více důjí, získané úplným vydojením dojníc, jež jsou prosté všech onemocnění, včetně kožních onemocnění mléčné žlázy. Mléko lze ale také charakterizovat jako velmi dobré prostředí pro rozvoj různorodých mikroorganismů. Může obsahovat nesčetné formy virů, parazitujících na bakteriích používaných v mlékařství, a proto je hlavní ochranou především prevence ve formě řádné hygieny při získávání, tepelném zpracování, chlazení, zahušťování, sušení a zakysání požadovanou mikroflórou (ČEPIČKA A KOL., 1995).

2.1 Mikrobiální požadavky na syrové mléko

V roce 2006 nabyly účinnosti nařízení a směrnice EU týkající se hygieny potravin a úřední kontroly a to pod souhrnným názvem „hygienický balíček“ (*WWW.EAGRI.CZ, STAŽENO 12. 1. 2011*).

Dle NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1020/2008 obsahují požadavky na syrové kravské mléko z hlediska mikrobiologických kritérií pouze hranici pro celkový počet mikroorganismů (CPM), v syrovém mléce dodávaném ke zpracování ($\leq 100\ 000$ kolonií tvořících jednotek (KTJ/ml), v syrovém mléce bezprostředně před tepelným ošetřením ($\leq 300\ 000$ KTJ/ml) a v tepelně ošetřeném mléce používaném pro výrobu mléčných výrobků ($\leq 100\ 000$ KTJ/ml). Doplňkové ukazatele zůstaly od roku 1988 nezměněny dle ČSN 57 0529. Jedná se především o počet psychrotrofních mikroorganismů, termorezistentních mikroorganismů, koliformních bakterií a sporotvorných anaerobních bakterií, jejichž hodnoty udává Tabulka č. 1.

Dříve byly požadavky na syrové mléko méně přísné. Limity pro výběrové mléko, udávané normou ČSN 57 0529 z roku 1988, z hlediska CPM byly $200\ 000$ KTJ/ml. U mlék III. jakostní třídy byl za maximální přípustné množství považován CPM $20\ 000\ 000$ KTJ/ml.

Tabulka č. 1: Mikrobiologické požadavky jakostních tříd mléka

Surovina	Celkový počet mikroorganismů (v ml)	Počet psychrotrofních mikroorganismů (v 1ml)	Počet termorezistentních mikroorganismů (v 1ml)	Koliformní bakterie (v 1ml)	Sporotvorné anaerobní bakterie (v 0,1ml)
Syrové mléko	max. 100 000	50 000	2 000	1 000	test negativní

ZDROJ: (ČERNÁ A MERGL, 1971)

Mikroorganismy v mlékařství mají nejen zdravotní, ale také hygienické a technologické poslání. Mléko a mléčné výrobky jsou vhodným prostředím pro růst mikroorganismů, které svou činností mohou ovlivnit příznivě ale také i nepříznivě kvalitu a biologickou hodnotu výrobku (LUKÁŠOVÁ, 1990). Zdravotní nezávadnost potravin je všeobecně chápána jako nepřítomnost zdraví škodlivých (toxických) látek a choroboplodných (patogenních) mikroorganismů v potravine (JIČÍNSKÁ A HAVLOVÁ, 1995).

2.1.1 Psychrotrofní mikroorganismy

Psychrotrofní mikroorganismy jsou rozšířené v přírodním prostředí (voda, půda, prach, rostliny), mohou se také vyskytovat v syrovém mléce nebo výrobcích z nepasterovaného mléka. Některé z nich jsou patogenní pro lidi, zvířata nebo rostliny (GRIEGER A LUKÁŠOVÁ, 1990). Dle GOUNOTA (1986) je pro ně typická schopnost rozkládat potraviny. Jejich optimální teplota růstu je kolem 22°C, ale mohou být aktivní i při teplotách mezi 0 až 7°C. Z bakterií lze zařadit především rody *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Streptococcus* a *Pseudomonas*. Mimo jiné i některé kvasinky a plísně zahrnující rody *Penicillium*, *Aspergillus*, *Geotrichum* a *Batrytis*, které jsou schopny růst a přežívat v chlazených surovinách ve velkých počtech. Psychrotrofní mikroorganismy mohou způsobovat chuťové změny v potravinách (SPENCER, 2001).

Rod *Pseudomonas* zahrnuje pouze aerobní bakterie bez kvasných vlastností. Řada druhů tvoří barviva žlutých, zelených, modrých nebo červených odstínů, která uvolňují do růstového prostředí. Tím způsobují nežádoucí zabarvení potravin

(např. modrání nebo červenání mléka). Jejich nežádoucí činnost v potravinách probíhá i za poměrně nízkých skladovacích teplot (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Změny spočívají v produkci enzymů, které rozkládají základní složky mléka. Svoji aktivitu si psychrotrofní mikroorganismy uchovávají i po pasterizaci, čímž způsobují nechtěné změny v mléčných produktech a snižují tak jejich kvalitativní hodnotu. Mléko získané za dobrých hygienických podmínek nesmí obsahovat více než 10^4 psychrotrofních mikroorganismů v jednom ml, vyšší počet signalizuje nevyhovující podmínky při získávání mléka (GRIEGER A LUKÁŠOVÁ, 1990).

Mléko je poškozováno hlavně růstem psychrotrofních mikroorganismů, které produkují termorezistentní lipázy a proteázy. Tyto enzymy nemusí být denaturovány během pasterace a způsobují u mléčných výrobků žluklou, nahořklou nebo mýdlovou chuť (TEBALDI ET AL., 2008).

2.1.1.1 Mikrobiální lipázy

Mikrobiální lipázy představují nejdůležitější enzymy, které snižují kvalitu mléka a mléčných výrobků (LUKÁŠKOVÁ, 1990). Lipázy jsou jedinečné, neboť hydrolyzují tuky na mastné kyseliny a glycerol (GHOSH ET AL., 1996). Pro vznik smyslových vad mléka a mléčných výrobků dochází při hodnotách vyšších než 10^6 lipolytických mikroorganismů na ml výrobku. Na těchto vadách se převážně účastní kyselina máselná, neboť je produktem činnosti lipolytických mikroorganismů. (GRIEGER A LUKÁŠOVÁ, 1990).

Mnoho mikroorganismů je známo jako potenciální producenti lipáz, což zahrnuje bakterie, kvasinky a plísně. Nejdůležitějšími plísňovými producenty jsou rody *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Geotrichum*, *Mucor* a *Rhizomucor*. Z dalších producentů jsou to například rody *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* a *Clostridium* (TREICHEL ET AL., 2010). Bylo dokázáno, že k inaktivaci některých lipáz je potřeba teploty až 150°C (KISHONTI, 1975).

2.1.1.2 Mikrobiální proteázy

Většina psychrotrofních mikroorganismů produkuje v mléce vedle lipáz také proteolytické enzymy. Mikrobiální proteázy štěpí všechny mléčné bílkoviny, což má za následek koagulaci mléka. Mezi největší producenty patří rody *Bacillus*, *Aspergillus*, *Flavobacterium* a *Pseudomonas* (GRIEGER A LUKÁŠOVÁ, 1990). Při výrobě kysaných mléčných výrobků a sýrů se vlastnosti proteáz hojně využívají (MALA ET AL., 1998).

2.1.2 Termofilní mikroorganismy

Termofilní mikroorganismy jsou organismy s optimální teplotou růstu mezi 50 a 60°C. Extrémně termofilní organismy mohou růst i při 80°C (GOMES A STEINER, 2004). Rozšíření termofilních mikroorganismů v prostředí je značné, vyskytují se v půdě, prachu a najdeme je i v odpadních vodách. Většina termofilních bakterií důležitých v potravinářství patří do rodů *Bacillus*, *Streptococcus*, *Paenibacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Geobacillus*, *Alicyclobacillus* a *Thermoanaerobacter* (MONROE ET AL., 2005). *Streptococcus thermophilus* se účastní při zrání tvrdých sýrů a společně s *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* je součástí mikroflóry jogurtů. Tyto mikroorganismy se používají k produkci kyseliny mléčné (GRIEGER A LUKÁŠOVÁ, 1990).

2.1.3 Termorezistentní mikroorganismy

Skupina termorezistentních mikroorganismů zahrnuje sporotvorné mikroorganismy např. rodu *Bacillus* i nesporotvorné mikroorganismy schopné přežít teplotní ošetření (HAVLOVÁ A KOL., 1993). Dle ČSN 570 101 se jedná o ošetření při teplotě 85°C po dobu 10 minut.

Počet termorezistentních aerobních mikroorganismů je důležité doplňkové kritérium pro hodnocení syrového mléka. Za termorezistentní aerobní mikroorganismy se považují ty, které přežívají krátkodobý záhřev na vysokou teplotu v tekutém živném médiu (např. mléku) a jsou schopny růst při aerobních podmínkách (ČSN ISO 4833).

2.1.4 Koliformní bakterie

Koliformní bakterie jsou indikátorem hygienické kvality syrového mléka. Jde o skupinu tyčinkovitých bakterií, které mají podobné biochemické vlastnosti, tj. schopnost zkvašovat laktózu za současné výroby kyseliny a plynu. Optimální teplota růstu je 35°C, jsou aerobní i anaerobní (GHONG, 2008). Výskyt koliformních bakterií v mléce a mléčných produktech je důkazem znečištění fekáliemi. V mléce a mléčných produktech jsou zjišťovány tyto druhy mikroorganismů rodu: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Proteus*, *Yersinia*, *Serratia*. Z nichž převládá *Enterobacter* a to syrovém i pasterovaném mléce (GRIEGER A LUKÁŠOVÁ, 1990).

2.2 Bakterie mléčného kysání

Bakterie mléčného kysání (LAB) hrají nepostradatelnou roli v mlékařském průmyslu. Jsou odpovědné za fermentační procesy v mléce, rozkládají laktózu na kyselinu mléčnou, která předává fermentovanému mléku svěží nakyslou chuť, napomáhá srážení a tvorbě textury při výrobě sýrů (SHARPE, 1979). V kysaných produktech se LAB projevuje četnými antimikrobiálními aktivitami. To je způsobeno především produkcí organických kyselin, které snižují pH produktu a tak napomáhají potlačit růst patogenních mikroorganismů a organismů způsobujících kažení potravin (LEROY A DE VUYST, 2007). LAB se dělí na homofermentativní mléčné bakterie, kde hlavním metabolitem je kyselina mléčná, a na heterofermentativní, kde mimo kyseliny mléčné vzniká i velké množství jiných produktů (kyseliny octová, CO₂, etanol) (GRIEGER A LUKÁŠOVÁ, 1990).

LAB zahrnuje řadu průmyslově významných rodů, např. *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* a *Lactobacillus* (MAKAROVÁ A KOL., 2006). Nejvíce prostudovanou bakterií tvořící kyselinu mléčnou je *Lactococcus lactis*, (HUGENHOLTZ ET AL., 2002). Je součástí máslašské kultury používané k zakysání smetany. Některé kmeny *Lactococcus lactis* produkují antibiotikum nisin, který znemožňuje tvorbu řady gram pozitivních bakterií. Toto antibiotikum se používá jako pomocná látka při konzervaci potravin (ŠILHÁNKOVÁ, 2002). Rod *Lactococcus lactis* má dva poddruhy (*lactis* a *cremoris*). Tyto bakterie mohou být použity v jednotlivých kulturách jako startéry, nebo ve směsi s jinými kulturami LAB, jako jsou *Lactobacillus* a *Streptococcus* (TODAR, 2011). *Streptococcus thermophilus* je hlavním startérem používaným při výrobě jogurtů a sýrů. Je schopen růst při 40 až 45°C, neprosplívají mu teploty pod 10°C, pH 9,6 nebo 6,5% NaCl (DOLORME, 2008).

Historický význam má v mlékárenském průmyslu i rod *Leuconostoc*. Tento rod se považuje za bezpečný i přes nízký počet výskytů onemocnění, které bylo způsobeno právě touto bakterií (OGIER ET AL., 2008). Při fermentačním procesu tvoří kromě kyseliny mléčné i ethanol a CO₂. *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris* se uplatňuje jako součást máslašské kultury. Propůjčuje máslu příjemné aroma silnou tvorbou biacetylu (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Mezi LAB patří také rod *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Rod *Lactobacillus* je tvořen gram-pozitivními tyčinkami, které se uplatňují při okyselování syrového mléka a výrobě fermentovaných mléčných výrobků (BERNARDEAU ET AL., 2008). Většina druhů je schopna růst při 45°C. Mezi homofermentativní laktobacily patří druhy *L. delbrueckii*,

L. acidophilus, *L. plantarum*, heterofermentativní jsou druhy *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. buchneri* (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Tabulka č. 2: Zapojení bakterií mléčného kvašení při výrobě fermentovaných mléčných výrobků

Produkt	Hlavní kyselinotvorní producenti	Druhotná mikroflóra
Sýry		
Čedar, Cottage	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	
Modré sýry	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Penicillium roqueforti</i>
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	
Mozzarella, Parmazán, Romano	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	
Sýry švýcarského typu	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>germanii</i>
	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i>	
Fermentované mléko		
Jogurt	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	
Podmáslí	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Leuconostoc</i> sp., <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	
Produkt	Hlavní kyselinotvorní producenti	Druhotná mikroflóra
Zakysaná smetana	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	

ZDROJ: (TODAR, 2011)

2.3 Čisté mlékařské kultury

Jedná se o specifické druhy mezofilních a termofilních bakterií mléčného kysání, které jsou používány ve formě čistých nebo směsných kultur k fermentaci mléka (NECIDOVÁ ET AL., 2002). Přirozená mikroflóra mléka je neefektivní, nekontrolovaná a nepředvídatelná, nebo je zničena tepelným ošetřením mléka. Startovací kultury nabízí konkrétní vlastnosti, předvídatelnou a kontrolovatelnou fermentaci. Jako startovací kulturu lze použít jeden kmen, jeden druh, nebo více druhů LAB (ZIARNO, 2007). Mlékařské kultury se vyrábějí v různých formách a pro různé aplikace. Forma mlékařských kultur může být lyofilizovaná, tekutá ale i mražená. Mlékařské kultury se mohou aplikovat jako matečné, provozní nebo jako kultury pro přímé očkování (WWW.MILCOM-AS.CZ, STAŽENO 10.8.2011). Bylo prokázáno, že rychlost produkce kyseliny ve směsných kulturách (laktobacilů a streptokoků) je vyšší než v monokulturách. *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus* se používají ve směsných kulturách pro svůj symbiotický vztah. Bakterie rodu *Streptococcus* produkují kyselinu mravenčí a CO₂, což podporuje růst bakterií rodu *Lactobacillus* (MILLS ET AL., 2010).

Alternativou mléčného kvašení je přímé okyselování, při kterém se používají čisté kyseliny (např. mléčná, citronová) nebo glukano-delta-lakton (GDL). Dochází tak k rychlejšímu a spolehlivému poklesu pH. Používá se i kombinovaný způsob, v 1. fázi fermentace se použije GDL a v druhé fázi tradiční čisté mlékařské kultury (SUKOVÁ, 2005). Fermentované mléčné výrobky vyrobené touto metodou mají zaměnitelnou chuť i vůni s fermentovanými mléčnými výrobky vyrobenými pomocí tradiční čisté mlékařské kultury (SZIGETI ET AL., 2003).

Budoucnost startovacích kultur se nachází v hlubším porozumění genetického potenciálu mikroorganismů, které povede k vývoji nových kmenů s více žádanými vlastnostmi, např. lepší chutí a texturou, delší trvanlivostí, stabilitou a zdraví podporujícími vlastnostmi „šité na míru“ spotřebitelům (MILLS ET AL., 2010).

2.4 Inhibiční látky

Souhrnně tak lze označit látky mající tlumivý vliv na rozvoj a aktivitu mlékařských kultur a zákysů. Pokud se v mléce vyskytují v subinhibičních koncentracích, pak jsou z hygienického hlediska považovány za chemický kontaminant (HOLEC, 1999).

Cílem zemědělství je poskytovat vysoce kvalitní a bezpečné potraviny. Použití antibiotik k odstranění infekcí v produkci potravin je nedílnou součástí živočišné výroby (ANDREW, 2003). Nálezy reziduí inhibičních látek (RIL) v mléce souvisí s rozšířeným využíváním veterinárních léčiv, s nedodržováním ochranných lhůt, se změnou metabolismu nemocného zvířete, popř. s nedůsledným vylučováním mléka léčených zvířat z dodávky, což vytváří zdravotní riziko pro spotřebitele a technologické problémy ve výrobě (NAVRÁTILOVÁ, 2002). Přítomnost inhibičních látek v mléčné surovině vylučuje její fermentaci a je příčinou zvýšených provozních ztrát (PEŠEK, 1999). V důsledku změny legislativy a zlepšením screeningových metod jsou rezidua veterinárních léčiv přísněji sledována (REYBROECK, 2004). ANDREW (2003) však zmiňuje možnost falešně pozitivních výsledků screeningových testů, které jsou způsobeny např. zvýšeným výskytem somatických buněk, vyšším obsahem mléčného tuku a bílkovin. Inhibiční vliv mohou v mléce způsobit i další látky vyskytující se jako přirozený ochranný systém mléčné žlázy, tj. imunoglobuliny, lysozym, laktoferin. Většina těchto látek pasterací mléka ztrácí svou inhibiční vlastnost (NAVRÁTILOVÁ, 2002).

2.5 Technologické vlastnosti mléka

Jakost mléka je daná nejen chemickým složením a mikrobiologickou a hygienickou kvalitou mléka, ale i komplexem dalších vlastností – smyslových, fyzikálních nebo technologických (Samková et al., 2009)

Z technologických ukazatelů jsou pak nejdůležitější titrační kyselost, aktivní kyselost a kysací schopnost (FOXA MC SWEENEY, 1998).

2.5.1 Kyselost

Kyselost je jedním z nejdůležitějších technologických ukazatelů jakosti mléka a mlékárenských výrobků. Je dána obsahem organických kyselin, hlavně kyseliny mléčné, ale také obsahem a složením minerálních látek a bílkovin (ČERNÁ A MERGL, 1971). Produkce kyselin je projevem rozvoje kontaminujících mikroorganismů v mléce a mlékárenských výrobcích. Kyselost tedy slouží pro rozpoznání zhoršené kvality suroviny. Naopak mléčné kvašení je hlavním procesem technologie výroby fermentovaných mléčných výrobků a sýrů. Kyselost tedy slouží i ke kontrole průběhu fermentace (KADLEC, 2008). Pro zjištění kyselosti se používají metody definiční, a to buď titrační, stanovení pomocí standardních roztoků alkálií, nebo měření tzv. aktivní kyselosti, dané koncentrací vodíkových iontů (ČERNÁ A CVAK, 1986).

2.5.1.1 Titrační kyselost

Titrační kyselost se vyjadřuje ve stupních Soxhlet-Henkela ($^{\circ}\text{SH}$) a hodnotí se spotřebou alkálií na neutralizaci kyselých složek mléka a mlékárenských výrobků. Tato metoda je velmi citlivá na zvýšení obsahu kyseliny mléčné, způsobené mikrobiální činností. Čerstvé neporušené mléko od zdravých a dobře krmených dojnic má titrační kyselost v rozmezí 6,8 až 7,2 $^{\circ}\text{SH}$ (ČERNÁ A MERGL, 1971; GAJDŮŠEK, 2003). Dle ČSN 57 0529 se za standardní hodnoty titrační kyselosti pro normální směsné mléko považuje rozmezí hodnot 6,2 až 7,8 $^{\circ}\text{SH}$.

2.5.1.2 Aktivní kyselost

Aktivní kyselost je dána koncentrací vodíkových iontů a vyjadřuje se jejich záporným logaritmem v hodnotách pH (ČERNÁ A MERGL, 1971; ČERNÁ A CVAK, 1986). Čerstvé mléko má hodnotu pH v rozmezí 6,6 až 6,8. Jeho hodnotu aktivní kyselosti přímo určuje vliv kyselosti na složky mléka, na rozkladu kyselin a solí, konformaci bílkovin a aktivitu enzymů. Metoda je poměrně málo citlivá na tvorbu kyselin mikroorganismy, protože mlék vykazuje výrazné pufrací schopnosti při pH 5,5 (KADLEC, 2008). Pufrací schopnost mléka je dána přítomností pufrů (např. kyseliny fosforečné, citronové, uhličité a mléčných bílkovin). Některé látkové změny v mléce způsobí stav, kdy se na titrační kyselosti ($^{\circ}\text{SH}$) změny již projevují, kdežto aktivní kyselost (pH) zůstává konstantní (DOLEŽAL A KOL., 2000).

Tabulka č. 3: Hodnoty pH některých mléčných výrobků

Hodnoty pH	Surovina/Výrobek
6,5 až 6,7	mléko sladké
6,3 až 6,4	mléko nakyslé
5,4 až 6,2	mléko kyselé
6,8 až 7,1	mléko podezřelé ze zředění vodou, přidavku alkálií, mléko od nemocných dojnic, staré s proteolytickým rozkladem
4,6	izoelektrický bod kaseinu
5,1	smetana k výrobě zakysaného másla
5,2	mezní hodnota při zakysání jogurtů

ZDROJ: ČERNÁ A MERGL, 1971

2.5.2 Kysací schopnost

Kysací schopnost (kvasnost) je schopnost mléka vytvořit vhodné podmínky pro růst žádoucích mikroorganismů, především bakterií mléčného kysání. Závisí na chemickém složení mléka a zejména pak na obsahu minerálních solí (*PEŠEK, 1997*). Dále je kysací schopnost ovlivněna obsahem inhibičních látek (především antibiotik a zbytků čistících a dezinfekčních prostředků), na které jsou čisté mlékařské kultury různě citlivé. Pro kvasnost je nutný nízký celkový počet mikroorganismů, především psychrotrofních, které mohou ještě před tepelným ošetřením mléka vyprodukovat metabolity inhibující růst kulturní mikroflóry (*KADLEC, 2008*).

Následující pasáž „Charakteristika materiálu“ o rozsahu 7 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž „Výsledky a diskuse“ o rozsahu 17 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž „Závěr“ o rozsahu 1 strany je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

Následující pasáž „Summary“ o rozsahu 2 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.

3 Seznam literatury

- 1) ANDREW, S. M.: Antimicrobial residues and residues detection in milk and dairy products. *Microbial food safety in animal agriculture*, 2003, s 397-405.
- 2) BERNARDEAU, M., VERNOUX, J. P., HENRI-DUBERNET, S., GUÉQUEN, M.: Safety assessment of dairy microorganisms. The Lactobacillus genus. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 126 (278-285).
- 3) CAIS-SOKOLIŇSKA, D., PIKUL, J.: Proportion of the microflora of Lactobacillus and Streptococcus genera in yoghurts of different degree of condensation. *Bulletin of the veterinary institute in Pulawy*, 2004, 48, 4, 443-447.
- 4) ČEPIČKA, J., BAREŠ, M., BUBNÍK, Z., a kol.: Obecná potravinářská technologie. 1. vyd.. Praha: VŠCHT, 1995. 246 str. ISBN: 80-7080-239-1.
- 5) ČERNÁ, E., CVAK, Z.: Analytické metody pro mléko a mlékárenské výrobky. Díl I. Chemie. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav potravinářského průmyslu, 1986.
- 6) ČERNÁ, E., MERGL, M.: Laboratorní kontrolní metody v mlékařství. 1. vyd. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1971. s. 264.
- 7) ČSN 57 0529 Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování. 1988.
- 8) ČSN ISO 4833 Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30°C. 1995.
- 9) DOLEŽAL, O., HLÁSNÝ, J., JÍLEK, F., HANUŠ, O.: Mléko, dojení, dojírny. Praha: Agrospoj, 2000. s 241.
- 10) DOLORME, CH.: Safety assessment of dairy microorganisms. Streptococcus thermophilus. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 126 (274-277).

- 11) FORMAN, L.: Mlékárenská technologie. VŠCHT Praha, 1996, 228s. ISBN 80-7080-250-2
- 12) FOX, P., MC'SWEENEY, P.: Dairy chemistry and biochemistry [online, citace 2012-04-12]. New York: Thomson Science, 1998.
- 13) GAJDŮŠEK, S.: Laktologie. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003. s. 78. ISBN 80-7157-657-3.
- 14) GHONG, K.: Coliforms in milk – presence of bad bugs?. Food Safety Focus. 2008 [online, citace 2011-08-01]. Dostupné na www: <http://cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia_PUB/multimedia_pub_fsf_24_01.html>.
- 15) GHOSH, P. K. SAXENA, R. K., GUPTA, R., YADAV, R. P., DAVIDSON, S.: Microbial lipases. Production and applications. Science Progress, 1996, 79 (57-119).
- 16) GOMES, J., STEINER, W.: The biocatalytic potential of extremophiles and extremozymes. Food Technol. Biotechnol., 2004, 42 (223-235).
- 17) GÖRNER, F., VALÍK, L., Aplikovaná mikrobiologie potravin, Bratislava: Malé centrum, 2004, první vydání, ISBN 80-967064-9-7.
- 18) GOUNOT, A. M.: Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms. Birhauser Basel, 1986, 42 (1192-1197).
- 19) GRIEGER, C., LUKÁŠOVÁ, J.: Bakterie mléčného kysání. IN: Hygiena mlieka a mliečnych výrobkov. ED: GRIEGER, C. 1.vyd. Bratislava: Príroda, 1990. 397s. ISBN: 80-07-00253-7.
- 20) GRIEGER, C., LUKÁŠOVÁ, J.: Koliformní mikroorganismy. IN: Hygiena mlieka a mliečnych výrobkov. ED: GRIEGER, C. 1.vyd. Bratislava: Príroda, 1990. 397s. ISBN: 80-07-00253-7.

- 21) GRIEGER , C., LUKÁŠOVÁ, J.: Mikrobiální lipázy. IN: Hygiena mlieka a mliečných výrobkov. ED: GRIEGER, C. 1.vyd. Bratislava: Príroda, 1990. 397s. ISBN: 80-07-00253-7.
- 22) GRIEGER , C., LUKÁŠOVÁ, J.: Mikrobiální proteázy. IN: Hygiena mlieka a mliečných výrobkov. ED: GRIEGER, C. 1.vyd. Bratislava: Príroda, 1990. 397s. ISBN: 80-07-00253-7.
- 23) GRIEGER , C., LUKÁŠOVÁ, J.: Psychrotrofní organismy. IN: Hygiena mlieka a mliečných výrobkov. ED: GRIEGER, C. 1.vyd. Bratislava: Príroda, 1990. 397s. ISBN: 80-07-00253-7.
- 24) GRIEGER , C., LUKÁŠOVÁ, J.: Termofilní mikroorganismy. IN: Hygiena mlieka a mliečných výrobkov. ED: GRIEGER, C. 1.vyd. Bratislava: Príroda, 1990. 397s. ISBN: 80-07-00253-7.
- 25) GRIEGER, C.: Hygiena mlieka a mliečných výrobkov. 1.vyd. Bratislava: Príroda, 1990. 397s. ISBN: 80-07-00253-7.
- 26) HAVLOVÁ, J., HRABOVÁ, H., JIČÍNSKÁ, E.: Mikrobiologické metody v kontrole jakosti mléka a mlékárenských výrobků. 1. vyd. Praha:ÚZPI, 1993. 24 s. ISBN: 80-85120-37-2.
- 27) HOLEC, J.: Cizorodé látky v mléku a v mléčných výrobcích. IN: Hygiena mlieka a mliečných výrobkov. ED: GRIEGER, C. Bratislava: Príroda, 1990, 397 s. ISBN 80-07-00253-7
- 28) HRABĚ, J., BŘEZINA, P., VALÁŠEK P., Technologie výroby potravin živočišného původu. 1. vyd Zlín: UTB – Academia Centrum, 2006, ISBN 80-7318-405-2
- 29) HUGENHOLTZ, J., SYBESMA, W., GROOT, M. N., et al.: Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the production of nutraceuticals. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, 82 (217-235).

- 30) Hygienický balíček, 2005 [online, citace 2011-01-12]. Dostupné na [www:<http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/hygienicky-balicek/>](http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/hygienicky-balicek/)
- 31) HYLMAR, B., Výroba kysaných mléčných výrobků. 1. vyd. Praha: SNTL, 1986, ISBN 04-812-86.
- 32) JIČÍNSKÁ, E., HAVLOVÁ, J.: Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích. 1. vyd. Praha:ÚZPI, 1995. 106 s. ISBN: 80-85120-47-X.
- 33) KADLEC, P.: Technologie potravin II. 1. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. Technologie mléka a mlékárenských výrobků, s. 9-84. ISBN 978-80-7080-510-7.
- 34) KISHONTI, E.: Influence of heat resistant lipases nad proteases in psychrotrophic bacteria on product quality. *Int. Dairy Fed. Ann. Bull*, 1975, 36 (121-124).
- 35) KNĚŽ, MAŠEK, MAXA, TEPLÝ, VEDLICH: Čisté mlékařské kultury a jejich použití v mlékárenském průmyslu. 2. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1960, ISBN 2-367.825-60.
- 36) LEROY, F., DE VUYST, L.: Bacteriocins from lactic acid bacteria: Production, purification and food applications. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2007, 13 (194-199).
- 37) LUKÁŠOVÁ, J.: Hygienicky a technologicky významné skupiny mikroorganismů. IN: Hygiena mlieka a mliečnych výrobkov. ED: GRIEGER, C. 1.vyd. Bratislava: Priroda, 1990. 397s. ISBN: 80-07-00253-7.
- 38) MAKAROVÁ, K., SLESAREV, A., WOLF, Y. et al.: Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *National Academy of Science*, 2006, 103 (1511-15616).
- 39) MALA, B. R., APARNA, M., MOHINI, S., VASANTI, V.: Molecular and biotechnice aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecurar Biology Review*, 1998, 62 (597-635).

- 40) MILLS, S., O'SULLIVAN, O., HILL, C., FITZGERALD, G., ROSS, R. P.: The changing face of dairy starter culture research. From genomics to economics. *International Journal of Dairy Technology*. 2010, 63 (149-170).
- 41) Miniatlás mikroorganizmů [online]. [cit. 20012-14-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.sci.muni.cz/mikrob/Miniatlás/str-t.htm>>
- 42) Mlékárenská technologie I [online] [cit. 2012-02-07] dostupný na www:<http://utb.cepac.cz/Screens/ContentProvider.aspx/QUxiItw-Kwj98AiJRVY56zNjg14wYbs1IIBnLtTrRw1/M0029_mlekarenska_tehnologie/distančni_text/M0029_mlekarenska_tehnologie_distančni_text.pdf>
- 43) Mlékařské kultury [online, citace 2011-08-10]. Dostupné na www: <<http://www.milcom-as.cz/vum-a-laktoflora/produkty-laktoflora/mlekarske-kultury.html>>
- 44) MONROE, J. J., LOESSNER, M. J., GOLDEN, D. A.: Modern food microbiology. NY: Springer, 2005. 790s. ISBN: 0-387-23180-3.
- 45) Nařízení komise (ES) č.1020/2008, kterým se mění přílohy II., III. Nařízení EP a Rady (ES) č.853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, a Nařízení (ES) č.2076/2005, pokud jde o identické označení, syrové mléko a mléčné výrobky, vejce a vaječné produkty a některé produkty rybolovu.
- 46) NAVRÁTILOVÁ, P.: Problematika reziduí inhibičních látek v syrovém kravském mléce. *Veterinářství*, 2002, 52 (478-481).
- 47) NECIDOVÁ, L., CUPÁKOVÁ,Š., JANŠTOVÁ, B., NAVRÁTILOVÁ, P.: Úloha probatik v kysaných mléčných výrobcích. *Veterinářství*, 2002, 52 (66-68).
- 48) OGIER, J. C., CASALTA, E., FARROKH, C., SAIHI, A.: Safety assessment of dairy microorganism. The *Leuconostoc* genus. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 126 (286-290).

- 49) ON 57 0531 Mléko - stanovení počtu somatických buněk. 1988.
- 50) PEROUTKOVÁ, J., PECHAČOVÁ, M., ŠALAKOVÁ, A., KEJMAROVÁ, M.: Růst bakterií mléčného kvašení v mléce fortifikovaném bioaktivními látkami. *Mlékařské listy*, 2011, č. 126, s. 10-14.
- 51) PEŠEK, M.: Hodnocení jakosti, zpracování a zbožíznačství živočišných produktů. Část I. Jakost potravin, potravinových surovin a mléka. 1. vyd. České Budějovice: Zemědělská fakulta Jihočeské Univerzity, 1997. 117 s. ISBN 80-7105-191-8.
- 52) PEŠEK, M.: Ošetřování, hodnocení jakosti a zpracování mléka na farmě. 1. vyd. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, 1999. s. 54.
- 53) PIJANOWSKI, E.: Základy chémie a technológie mliekarenstva, I. díl. Príroda: Bratislava, 1977. 499 s.
- 54) REYBROECK, W.: Role of the farmer in preventing residues of antibiotics in farm milk. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 2004, 386 (8-9).
- 55) SAIKALI, J., PICARD, C., FREITAS, M., HOLT, P.: Fermented milks, probiotic cultures and colon cancer. *Nutrition and Cancer*, 2004, 49 (14-24).
- 56) SALMINEN, S., VON WRIGHT, A., OUWEHAND, A. Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Functional Aspects. 3. vyd., New York, U.S.A. 2004. s. 633. ISBN 0-8247-5332-1.
- 57) SAMKOVÁ, E., SMETANA, P., HLAVÁČEK, J., MRÁZEK, J., ROZSYPAL, R., POSPÍŠIL, M., TRÁVNÍČEK, P.: Faremní zpracování mléka v ekologickém zemědělství. Olomouc: Bioinstitut, 2009. ISBN 978-80-904174-5-8.
- 58) SEDLÁČEK, I., Taxonomie prokaryot. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2007, ISBN 80-210-4207-9.

- 59) SHARPE, M. E.: Lactic acid bacteria in the dairy industry. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 1979, 32 (9).
- 60) SPENCER, J., DE RAGOUT SPENCER, A.: Food mikrobiology protocols. *Biological and Life Sciences*, 2001, 14 (3-10).
- 61) STILES, M., HOLZAPFEL, W. Lactic acid bacteria of foods and their current taxo-nomy. *International Journal of Food Mikrobiology*, 1997, vol. 36, s. 1-29.
- 62) SUKOVÁ, I.: Možnosti výroby jogurtu bez fermentace. *Australian Journal of Dairy Technology*, 2005, 3 (264-266).
- 63) SUKOVÁ, J.: Enterokoky a jejich hodnocení mlékárenské technologii. *Mliekarstvo*, 2003, 2 (42-45).
- 64) SZIGETI, J. et al.: Some possibilities for production of longer-life functional sour dairy products. *Tejgazdasog*. 2003, 63 (190-210).
- 65) ŠEBELA, F.: Mlékařství. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1964.
- 66) ŠILHÁNKOVÁ, L.: Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. 3. vyd. Praha: Academia, 2002. 363 s. ISBN: 80-200-1024-6.
- 67) ŠTĚTINA, J.: Vlastnosti mléka a jeho základní ošetření. In: Technologie potravin II. ED: Kadlec a kol. 1. vyd., Praha: VŠCHT, 2002. 236 s. ISBN 80-7080-510-2.
- 68) TAMINE., A. Y., ROBINSON, R. K.: Yoghurt Science and Technology. 2. vyd. Woodhead Publishing, 1999. s. 619. ISBN 1-85573-399-4.
- 69) TEBALDI, M. V. R. et al.: Isolation of coliforms, staphylococci and enterococci in raw milk from communitarian expansit refrigeration tanks. Identification, lipolytic and proteolytic action. *Science Technologiade Alimentos*, 2008, 28 (753-760).

- 70) TEPLÝ, M., GOTTWALD, K., ČERMÍNOVÁ, N., HYLMAR, B., PETERKOVÁ, L., URNEROVÁ, M.: Čisté mlékařské kultury, Výroba, kontrola, použití. Praha: SNTL, 1984. ISBN 04-806-84.
- 71) THARMARAJ, N., SHAH, N. P.: Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Propionibacteria*. *Journal of Dairy Science*, 2003, 86 (2288-2296).
- 72) TODAR, K.: Fermentation of foods by lactic acid bacteria. 2011 [online, citace 2011-08-01].
Dostupné na www: <http://textbookofbacteriology.net/lactics_3.html>
- 73) TREICHEL, H., DE OLIVEIRA, D., MAZUTTI, A. M., DI LUCCIO, M., OLIVEIRA, J. V.: Microbial lipases production. *Food Bioprocess Technol.*, 2010, 3 (182-196).
- 74) Vědecký výbor pro potraviny 2004, 1-29. [online, citace 2011-08-01].
Dostupné na www <http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/dokumenty/studie/micro_2003_2_deklas.pdf>
- 75) ZIARNO, M.: Charakterystyka komercyjnych kultur starterowych stosowanych w przemyśle mleczarskim. *Medycyna Weterynaryjna*. 2007, 63 (909-913).
- 76) ZIMÁK, E.: Technologie pro 3. ročník SPŠ mlékárenské. 1. vyd. PRAHA: SNTL, 1982. 184 s.

Následující pasáž „Přílohy“ o rozsahu 7 stran je vypuštěna z důvodu budoucí publikace těchto dat v odborné literatuře a je obsažena pouze v archivovaném originále diplomové práce uloženém na Zemědělské fakultě JU.