

Vliv akcelerace zracího procesu na vybrané skupiny mikroorganismů v přírodním sýru eidamského typu

Petra Válková

Bakalářská práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Petra VÁLKOVÁ
Osobní číslo: T08421
Studijní program: B 2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Chemie a technologie potravin

Téma práce: Vliv akcelerace zrání sýra eidamského typu na vybrané skupiny mikroorganismů

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Popište stručně výrobu přírodních sýrů eidamského typu.
2. Pojednejte o mikrobiologii přírodních sýrů se zaměřením na sýry eidamského typu.
3. Charakterizujte možné metody akcelerace zrání sýrů.

II. Praktická část

1. Realizujte experiment se dvěma teplotami zrání (tradiční teplota a teplota akcelerující zrání).
2. Stanovte počty vybraných skupin mikroorganismů v průběhu zrání.
3. Výsledky zhodnoťte a formulujte závěry.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1]GAJDŮŠEK, Stanislav . Mlékářství II. : Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně . dotisk,2002. V edičním středisku MZLU v Brně : [s.n.], 2002. 170 s.

[2]KADLEC, Pavel . Technologie potravin II.. VŠCHT Praha : [s.n.], 2002. 236 s.

[3]FOX, Patrick F., et al. Fundamentals of cheese science. Gaithersburg, Maryland : [s.n.], 2000. 559 s. ISBN 0-8342-1260-9.

[4]HUI, Y.H. Dairy science and technology handbook, volumes 1-3. [s.l.] : [s.n.], 1993. 1304 s.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Vendula Pachlová**

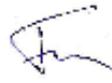
Datum zadání bakalářské práce: **25. února 2011**

Termín odevzdání bakalářské práce: **30. května 2011**

Ve Zlíně dne 21. března 2011


doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan




doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby^{1/};
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byla jsem seznámena s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3^{2/};
- beru na vědomí, že podle § 60^{3/} odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60^{3/} odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdáním této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 26.5.2014

Váňková

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Teoretická část bakalářské práce je zaměřena na výrobu sýru eidamského typu, na biochemické změny během zrání a možné způsoby akcelerace během zrání. Pro praktickou část byl zrealizován zrací pokus eidamské cihly, kdy po 3 dnech zrání v běžném zracím sklepě s teplotou 10 ± 2 °C byla část výroby přemístěna do „zrací komory“, kde po zbytek doby zrání sýry byly při teplotě 16 ± 1 °C. Byl proveden mikrobiální rozbor se zaměřením na mléčné bakterie, koliformní bakterie a celkové počty mezofilních bakterií. U sýra zrajícího při teplotě 16 ± 1 °C byly zaznamenány vyšší počty všech sledovaných mikroorganismů.

Klíčová slova: sýr eidamského typu, akcelerace zrání, mléčné bakterie, koliformní bakterie a celkové počty mezofilních bakterií.

ABSTRACT

The theoretical part of this thesis is focused on the production of Edam cheese type, biochemical changes during ripening and possible ways of acceleration of ripening process. In the practical part of thesis, the experiment with Eidam cheese was carried out. Two ripening temperatures were applied – control samples (at 10 °C) and accelerated samples (at 16 °C). Microbial analysis was focused on lactic acid bacteria, coliform bacteria and total numbers of mesophilic bacteria. The higher amount of microorganisms were recorded during ripening at 16 °C.

Keywords: Edam-type cheese, acceleration of ripening, lactic acid bacteria, coliform bacteria, total numbers of mesophilic bacteria.

Úvodem bych chtěla poděkovat slečně Ing. Vendule Pachlové, panu doc.Ing. Františkovi Buňkovi, Ph.D a paní doc.RNDr. Leoně Buňkové, Ph.D za jejich pomoc při realizaci mé bakalářské práce. Zejména za trpělivost, cenné rady, připomínky a vedení.

OBSAH

| | |
|--|-----------|
| ÚVOD..... | 10 |
| I TEORETICKÁ ČÁST | 12 |
| 1 MLÉKO JAKO SUROVINA PRO VÝROBU SÝRŮ | 13 |
| 2 TECHNOLOGICKÉ OPERACE | 14 |
| 2.1 PASTERACE MLÉKA | 14 |
| 2.2 STANDARDIZACE | 15 |
| 2.3 HOMOGENIZACE | 15 |
| 2.4 PŘÍDAVEK TECHNOLOGICKY DŮLEŽITÝCH PŘÍDATNÝCH LÁTEK | 15 |
| 2.4.1 Přídavek čistých mlékárenských (zákysových) kultur..... | 16 |
| 2.4.2 Nezákysové kultury | 17 |
| 2.4.3 Přídavek sekundárních sýrařských kultur | 17 |
| 2.5 KOAGULACE MLÉKA | 18 |
| 2.6 ZPRACOVÁNÍ SÝŘENINY | 19 |
| 2.7 TVAROVÁNÍ..... | 19 |
| 2.8 SOLENÍ | 20 |
| 2.9 PŘÍPRAVA PŘED ZRÁNÍM..... | 20 |
| 2.10 ZRÁNÍ..... | 20 |
| 3 BIOCHEMIE ZRÁNÍ | 22 |
| 3.1 METABOLISMUS LAKTÓZY | 22 |
| 3.2 PROTEOLÝZA..... | 22 |
| 3.3 LIPOLÝZA | 23 |
| 4 AKCELERACE ZRÁNÍ | 25 |
| 4.1 ZVÝŠENÍ TEPLoty | 26 |
| 4.2 EXOGENNÍ ENZYMY | 26 |
| 4.3 CHEMICKY A FYZIKÁLNĚ MODIFIKOVANÉ KULTURY | 27 |
| 4.4 GENETICKY MODIFIKOVANÉ MIKROORGANISMY | 27 |
| 4.5 DOPLŇKOVÉ KULTURY | 27 |
| 4.6 PŘÍDAVEK VÝLUHŮ ZE SÝRŮ..... | 28 |
| II PRAKTICKÁ ČÁST | 29 |
| 5 CÍL PRÁCE | 30 |
| 6 MATERIÁL A METODY | 31 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 6.1 | VÝROBA EIDAMSKÉ CIHLY..... | 31 |
| 6.2 | ZRACÍ POKUS..... | 31 |
| 6.3 | METODY MIKROBIOLOGICKÉHO STANOVENÍ..... | 32 |
| 6.3.1 | Stanovení celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů..... | 32 |
| 6.3.2 | Stanovení bakterií mléčného kvašení..... | 33 |
| 6.3.3 | Stanovení koliformních bakterií..... | 33 |
| 6.3.4 | Stanovení sporotvorných mikroorganismů..... | 34 |
| 6.3.5 | Stanovení enterokoků..... | 34 |
| 7 | VÝSLEDKY..... | 35 |
| 7.1 | STANOVENÍ CPM..... | 35 |
| 7.2 | STANOVENÍ BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ..... | 37 |
| 7.2.1 | Stanovení mléčných bakterií na kultivační půdu M17..... | 37 |
| 7.2.2 | Stanovení mléčných bakterií na kultivační půdu MRS..... | 38 |
| 7.3 | STANOVENÍ KOLIFORMNÍCH BAKTERIÍ..... | 40 |
| 7.4 | STANOVENÍ SPORULUJÍCÍCH MIKROORGANISMŮ A ENTEROKOKŮ..... | 42 |
| 7.4.1 | Aerobní sporulující mikroorganismy..... | 42 |
| 7.4.2 | Anaerobní sporulující mikroorganismy..... | 44 |
| 7.4.3 | Stanovení enterokoků..... | 46 |
| 8 | DISKUZE..... | 47 |
| 9 | ZÁVĚR..... | 50 |
| | SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY..... | 52 |
| | SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK..... | 54 |
| | SEZNAM OBRÁZKŮ..... | 55 |
| | SEZNAM TABULEK..... | 57 |
| | SEZNAM PŘÍLOH..... | 58 |

ÚVOD

Sýr můžeme definovat jako mléčný výrobek získaný srážením bílkoviny kaseinu z mléka pomocí syřidla nebo jiného vhodného koagulačního činidla (přídavek čistých mlékárenských kultur, které produkují kyselinu mléčnou) s následným prokysáním a oddělením podílu syrovátky. Nejranější dějiny o vzniku prvního sýra pochází z 3. století před naším letopočtem. Výrobu sýrů zásadním způsobem ovlivnily následující faktory, chov zvířat na mléko na rozdíl od dřívějšího lovu. Zjištění, že mléko můžeme za určitých podmínek srážet a objev syřidla.[3]

Jak už vyplívá z definice, sýr je bohatý zdroj bílkovin, zejména jeho důležitost spočívá v obsahu esenciálních aminokyselin. Je vhodným zdrojem vápníku, vitamínů rozpustných v tucích jako je vitamín A, E, D a K. Dále konzumace sýrů je vhodná u jedinců trpících laktózou intolerancí, což je onemocnění, kdy v těle chybí enzym β – galaktosidáza a laktóza je v tlustém střevě rozkládána za tvorby plynu a často doprovázena průjemovými stavy, protože laktóza je rozložena během formování a během prvních dní zrání.[3,23]

Zrání sýrů představuje složitý fyzikálně chemický a biochemický děj, čímž sýr po vysolení získá typickou chuť, vůni konzistenci, což komplexně nazýváme „sýrový buket“. Zrání sýrů probíhá řádově několik dní, týdnů či měsíců. Z ekonomického hlediska dlouhodobé zrání je velmi náročné. Existují snahy dobu zrání zkrátit. Alternativou je akcelerace neboli urychlování zrání, čímž dochází k urychlení zejména rozkladu bílkovin. Rozklad laktózy probíhá během lisování a prvních dní zrání, tudíž není nutné jej urychlovat. A rozklad mléčného tuku u tvrdých a polotvrdých sýrů považován spíše za nežádoucí. Akcelerace zrání lze dosáhnout několika způsoby (zvýšená teplota, přídavek enzymatických přípravků (exogenní enzymy), přídavek chemicky a fyzikálně modifikované kultury, přidavkem geneticky modifikovaných mikroorganismů, přídavek doplňkových kultur, přídavek výluhů ze zralých sýrů). Ovšem akceleraci zrání může docházet k rychlejšímu rozvoji mikroorganismů.[3,5,10]

Bakalářská práce je zaměřena na urychlování zrání pomocí zvýšené teploty. Teoretická část je zaměřena na výrobu sýrů eidamského typu, biochemii a akceleraci zrání. V praktické části byl realizován zrací pokus, kde po 3 dnech zrání při teplotě 10 ± 2 °C byla část šarže přemístěna do „zrací komory“ s teplotou 16 ± 1 °C. Mikrobiální analýza byla zaměřena na

stanovení aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, mléčných bakterií, koliformních bakterií.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 MLÉKO JAKO SUROVINA PRO VÝROBU SÝRŮ

Základní surovinou pro výrobu sýrů je u nás kravské mléko. Je zřejmé, že kvalitní sýr vyrobíme pouze z kvalitní suroviny. Největší nároky jsou kladeny na mikrobiální kvalitu syrového mléka. Což ovlivňuje technologické vlastnosti mléka. Vedle celkových počtů mezofilních mikroorganismů je nadále vhodné sledovat koliformní bakterie, jako možné původce fekálního znečištění, které jsou však během tepelného ošetření inaktivovány. Psychofilní mikroorganismy se pomalu rozmnožují i při teplotách pod 10 °C. Tepelným ošetřením jsou zničeny, ale produkují termorezistentní lipasy a proteasy, které mohou negativně ovlivnit technologické vlastnosti suroviny (např. někteří zástupci rodu *Pseudomonas*). Termorezistentní mikroorganismy mohou přežít tepelné ošetření a opět negativně ovlivňovat surovinu (např. někteří zástupci rodu *Bacillus*). Sporotvorné anaerobní mikroorganismy přežívají ve formě spór i tepelné ošetření a mohou tak způsobit například vady zrajících tvrdých sýrů označované jako „ pozdní duření „ (např. někteří zástupci rodu *Clostridium*).[1,10]

Prvořadý vliv na jakost mléka má zemědělská prvovýroba. Mezi hlavní faktory ovlivňující vlastnosti mléka patří zdravotní stav dojnice, výživa dojnice, hygiena získávání mléka. Mléko musí pocházet od zdravých dojnic, protože například zánět mléčné žlázy může zásadně ovlivnit složení mléka (úbytek kaseinu, laktosy, narušení rovnováhy solí). Nesmí obsahovat inhibiční látky. Výskyt inhibičních látek, produkty lipolytických změn, nedostatek iontů a volných aminokyselin v mléce má negativní vliv na kvasnost (neboli kysací schopnost, představuje rozhodující parametr, zda v mléce dobře porostou přidané čisté mlékárenské kultury), sýřitelnost mléka (ovlivněna obsahem vápníku v mléce, schopnost koagulovat po přidavku syřidla) a také negativně působí na zrání sýrů. Musí mít požadované sensorické vlastnosti (barva, chuť, vůně, konzistence), musí být skladováno při teplotě od 4 - 6 °C. Zásadní význam pro výtěžnost výroby a složení sýra má chemické složení mléka. Na výtěžnost má vliv především obsah kaseinu. Obsah tuku v sušině je dán poměrem tuku a kaseinu. Pro sýřitelnost mléka je důležitý výskyt vápenatých iontů a také genotyp dojnice. [1,10]

2 TECHNOLOGICKÉ OPERACE

2.1 Pasterace mléka

Pasterací se rozumí záhřev mléka či smetany při teplotě do 100 °C při pH mléka (smetany), kdy dochází k usmrcení převážně vegetativních mikroorganismů, za předpokladu minimálních chemických změn suroviny. Pasterací zajistíme zdravotní nezávadnost suroviny a také se zvýší její trvanlivost. Rozlišujeme několik typů pasteračního záhřevu (vysoká pasterace, šetrná pasterace, dlouhodobá pasterace). Pro sýrařskou výrobu se používá převážně šetrná pasterace, což je obvykle ekvivalentní ošetření na 72 °C po dobu 15 s. Tento typ pasterace indikuje inaktivaci alkalické fosfatázy a je zachována aktivita lakoperoxidázy. Nedochozí ke značným chemickým změnám mléka. K denuraci bílkovin dochází pouze z 15%. Mohou přežít některé sporotvorné nebo termorezistentní mikroorganismy.

Tepelné ošetření lze doplnit baktofugací nebo membránovými procesy. V daném případě lze použít jen šetrnou pasteraci, kterou inaktivujeme enzymy a následným použitím baktofugace či membránových procesů zbavíme mléko mikroorganismů.[1,3]

Baktofugace představuje mechanické odstraňování mikroorganismů z mléka za pomoci odstředivé síly. Dochází k odloučení až 90% mikroorganismů. K největší účinnosti dochází při teplotě 60 °C až 75 °C. S vysokým obsahem bakterií do kalového prostoru odchází i malé množství mléka nazývaný baktofugát. Proto se baktofugát steriluje a vrací zpět. Baktofugace představuje šetrnější způsob ošetření mléka a to z důvodu užití nižších teplot. [3,6]

Membránové procesy přinesly revoluci do výroby mléka mléčných výrobků. V praxi se využívají 4 způsoby membránových separací, a to mikrofiltrace, ultrafiltrace, nanofiltrace a reverzní osmóza. Po aplikaci membránových procesů vždy získáme permeát a retentát. Permeát představuje filtrát, kapalinu, která přechází přes membránu. A retentát představuje koncentrát. Mikrofiltrací se oddělují částice s molekulární hmotností větší než 200 000Da. Na membránách dochází k zachycení mikroorganismů a velkých makromolekul či jejich shluků. Mikrofiltrací lze tedy nahradit pasteraci mléka. Jedná se o šetrnější způsob ošetření, kde se užívá nižších teplot, a tudíž dochází k minimalizaci chemických změn mléka. Ultrafiltrace je proces, při kterém dochází k selektivnímu oddělování makromolekul s molekulovou hmotností 1000-200 000Da z rozpouštědla a rozpuštěných látek. Tudíž do-

chází ke koncentraci například bílkovin z mléka či syrovátky. Také se používá ke standardizaci obsahu bílkovin. Nanofiltrace je proces, který koncentruje organické látky a zachytí minerální látky s výjimkou Na^+ a Cl^- lze ji tedy využít k částečné demineralizaci mléka. Reverzní osmóza se uplatňuje při šetrném zahušťování syrovátky, permeátu či retentátu.[3,6,13,20]

2.2 Standardizace

Pro každý druh sýra je charakteristický obsah sušiny, tuku, respektive tuku v sušině. Proto se během tepelného ošetření se provádí standardizace mléka. Obsah tuku a bílkovin v průběhu roku není konstantní, mění se během ročního období, proto se musí jejich poměr zohlednit, aby bylo dosaženo neměnného obsahu t.v.s.

Standardizaci bílkovin lze také provádět pomocí ultrafiltrace, která představuje proces, při kterém dochází k oddělování makromolekul z rozpouštědla a rozpuštěných látek, čímž docílíme koncentrace bílkovin.[1,6,10]

2.3 Homogenizace

Cílem homogenizace je zmenšení velikosti tukových kuliček pod $1 \mu\text{m}$. Tím docílíme minimalizace samovolného vyvstávání mléčného tuku. Tuk musí být v kapalném stavu, proto se homogenizace obvykle provádí při $55 - 80 \text{ }^\circ\text{C}$. Homogenizovat můžeme celou surovinu nebo pouze smetanu.

Homogenizace při výrobě tvrdých a polotvrdých sýrů se neprovádí. Získáme sice rychleji se tvořící sraženinu, ale ta má mnohem jemnější texturu a dochází k menšímu uvolňování syrovátky, což je při výrobě sýrů nežádoucí. Tuk může být mnohem náchylnější k oxidaci. Výjimku tvoří sýry s plísní v těstě, kde probíhá řízená lipolýza.[3,9]

2.4 Přídavek technologicky důležitých přídatných látek

Chlorid vápenatý - tepelné ošetření má vliv na vápník v komplexu kalcium-kaseinát x kalcium fosfát. Přeměna sloučenin vápníku rozpustných na nerozpustné má vliv na zhoršené vlastnosti gelu a případné uvolňování syrovátky. Technologická dávka je 10 - 40 ml nasyceného roztoku na 100 l mléka. Dusičnan draselný – používá se u polotvrdých a tvrdých sýrů k potlačení například koliformních bakterií. Koliformní bakterie jsou plynotvorné mikroor-

ganismy, které vlivem heterofermentativního rozkladu laktosy tvoří H_2 , což bývá označováno jako příčina tzv. skorého duření. Pokud je duření způsobeno sporulujícími bakteriemi, pak hovoříme o pozdním duření. Lysozym – užívá se jako náhrada za dusičnan draselný. Lysozym představuje enzym, který způsobuje rozklad buněčných stěn nežádoucích mikroorganismů, a tudíž potlačuje jejich životaschopnost. Nisin – jedná se o antibiotikum s mikrobicidními vlastnostmi na G^+ bakterie, zejména rod *Clostridium*, který může být potenciálním původcem tzv. pozdního duření. Barviva – přídatek barviv je typický hlavně u tvrdých sýrů. Přídatkem se zajistí intenzivní barva, odstranění sezónnosti v důsledku nedostatečnosti zelené píce. Zelená píce je zdrojem karotenoidů, což jsou žluté až červeno-fialové látky a jsou provitaminem vitamínu A.[1,3,10,15]

2.4.1 Přídatek čistých mlékářenských (zákysových) kultur

Čistá mlékářenská (zákysová) kultura je definovaný počet živých mikroorganismů, které jsou záměrně přidány za účelem zahájení fermentace, případně zajišťují účelné vlastnosti výrobku. Výrobu sýrů nelze uskutečnit bez přídatku zákysových kultur, zákysové kultury sjednocují z mikrobiálního hlediska surovinu. Která při výrobě vykazuje standardní jakost. Základní vlastností zákysových kultur je rozklad laktózy a následná produkce kyseliny mléčné. Kyselina mléčná je nadále rozkládána na celou řadu produktu, které ovlivňují charakteristické vlastnosti sýra. Příkladem může být vznik diacetylu z citrátu. Produkci kyseliny mléčné dochází ke snížení pH. Kyselé prostředí vytváří nepříznivé podmínky pro patogenní mikroorganismy, a tudíž dochází k jejich potlačení. [9,12]

Primární startovací bakterie obvykle dělíme vzhledem k teplotě na mezofilní a termofilní. Mezofilní startovací kultury jsou tvořeny z rodů *Lactococcus* a *Leuconostoc*. Dominantní postavení mají obvykle tzv. kyselinotvorné koky *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Zvané mikroorganismy laktózu zkvašují homofermentativním způsobem a produkují L(+) izomer kyseliny mléčné. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* je citlivější k vnějším faktorům, například neroste při teplotách nad $45^{\circ}C$ nebo při 4% koncentraci NaCl a při opětovném přeočkování se jeho obsah v mezofilních kulturách snižuje. Dále součástí mezofilní kultury jsou tzv. aromatvorné koky, které kromě produkce kyseliny mléčné rozkládají citrát v mléce a vzniká oxid uhličitý a směs čtyřuhlíkatých sloučenin, kde biacetyl je nositelem typického aroma. Typickým zástupcem je *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, který se vyznačuje homofermentativním rozkla-

dem laktózy a dále heterofermentativní zástupci jsou *Leuconostoc lactis* a *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, kteří z laktózy tvoří D(-) izomer kyseliny mléčné, oxid uhličitý a acetát či ethanol. Mezofilní kultury lze rozdělit na nearomatické a aromatické. Nearomatické kultury se uplatňují při výrobě produktů, kde není žádoucí produkce plynu a aromatických látek, příkladem může být sýr holandského typu.

Významnou vlastností rodu *Lactococcus* je homofermentativní rozklad laktózy, některé kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* produkují nisin, což je antibiotikum, které inhibuje G^+ bakterie zejména klostridií. Jsou to G^+ , fakultativně anaerobní koky. Optimální teplota růstu je 30°C. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* dobře roste v prostředí do 4% koncentrace NaCl. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* je citlivější na přítomnost NaCl v prostředí a roste do 2% NaCl.

Rod *Leuconostoc* je fakultativně anaerobní, tvoří G^+ koky, laktózu rozkládá heterofermentativním způsobem. Výslednými produkty jsou kyselina mléčná, ethanol, CO_2 , diacetyl. Optimální teplota růstu je 20 - 30 °C.[5,9,14,15]

2.4.2 Nezákysové kultury

Mikroflóra hraje také svoji roli při zrání sýrů. Jedná se o mikroorganismy z prostředí, jako jsou rod *Lactobacillus*, *Propionebacterium* (u některých sýrů se užívá jako sekundární sýrařská kultura), *Enterococcus*, kvasinky či plísně. Tyto mikroorganismy mohou pozitivně ovlivnit sensorické vlastnosti sýrů. Avšak účinnost kvasinek a plísní je omezená, u většiny sýrů je jejich přítomnost spíše nežádoucí. Jsou nositeli nežádoucích sensorických vlastností. [9,14]

2.4.3 Přídavek sekundárních sýrařských kultur

Při výrobě tvrdých sýrů se jako sekundární kultury uplatňují zejména *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, dále *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*., *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Enterococcus faecalis*.

Laktobacily jsou G^+ , nepohyblivé, fakultativně anaerobní až mikroareofilní tyčinky. Některé druhy jako je například *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* patří mezi obligátně homofermentativní laktobacily, jejímž hlavním produktem rozkladu laktózy je kyselina mléč-

ná. Většinou jsou termofilní, optimální teplota růstu je 30 - 45 °C při pH 5,5-6,2. Naopak jiné rody jako je například *Lactobacillus casei* subsp. *casei* patří mezi fakultativně heterofermentativní laktobacily, které při nedostatku laktózy produkují kyselinu octovou, etanol či kyselinu mravenčí.

Rod *Enterococcus* tvoří G⁺, aerotolerantní koky. Výrazným způsobem fermentují sacharidy, někdy i za ovlivnění sensorických vlastností. *Enterococcus faecalis* je značně proteolitycký druh. Rod *Enterococcus* je značně odolný, dobře snáší teploty v rozmezí 10 - 45 °C a dobře roste i v prostředí s 6,5% NaCl. [4,14,15]

2.5 Koagulace mléka

Srážení kaseinu je podstatou výroby všech sýrů. Jedná se o fyzikálně – chemický děj, kdy mléko (sol) se mění na polotuhý koagulát (gel) a dochází k vyvločkování kaseinu. Srážení kaseinu může probíhat jak kyselou tak sladkou cestou. Pokud mluvíme o kyselém srážení, pak se jedná o koagulaci vlivem náhlé změny pH, kdy pH se blíží isoelektrickému bodu. Kyselé srážení je typické pro výrobu především tvarohů. Sladké srážení probíhá za působení syřidla, kde dochází k následnému probíjování „vápníkovými můstky“ a vznikají útvary, které vypadávají z roztoku. Sladké srážení můžeme rozdělit na primární, sekundární a popřípadě terciální fázi. V primární fázi dochází k destabilizaci původního uspořádání frakcí kaseinu. Syřidlové enzymy rozštěpí κ-frakci kaseinu mezi 105/PHE/ -106 /MET/aminokyselinou, čímž dojde k narušení hydrofilního obalu kaseinové micely. Zbytek po rozštěpení a to 1-105 AMK se nazývá para-κ kasein a 106-169 AMK glykomakropeptid. V primární fázi je důležitá přítomnost enzymů syřidla, teplota do 60 °C a přítomnost Ca²⁺ není nutná. Naopak u sekundární fáze srážení je přítomnost Ca²⁺ nesmírně nutná, protože vlivem oddělení makropeptidu dochází k vlastní koagulaci kaseinových micel, které se pomocí vápníkových můstků začínají spojovat. výsledkem je trojrozměrná struktura, která uvnitř uzavírá syrovátku. Tzv.terciální fáze je charakteristická působením proteolytických enzymů syřidla, které je však nežádoucí. Dochází ke ztrátám rozpustných peptidů a do syrovátky, což se negativně projeví na výtěžnosti a také vznikem hořkých peptidů. Ty se tvoří především z β-kaseinu a α_{s1}-kaseinu. Pokud koncentrace vzniklých peptidů není velká, tak dojde k následnému odbourání enzymy přidaných čistých mlékařských kultur.

Kaseinové frakce jsou od zdravých dojnic vázány do kaseinových micel, což jsou velké koloidní útvary. Základními frakcemi jsou, α -frakce, která se dále dělí na α_{s1} a α_{s2} , β , κ frakci kaseinu. Ostatní frakce jako $\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \lambda$ lze považovat za hydrolyzáty. [1,3,5,10,11]

Jako syřidlové enzymy lze považovat pouze ty, které mají vysokou schopnost štěpit kappa kasein. Syřidlové enzymy podle povahy aktivního centra patří mezi tzv. karboxylové nebo aspartátové proteinázy. Klasické syřidlo je extrakt ze žaludku sajících telat, jehož hlavní složkou je chymosin. Dále syřidla mohou být rostlinného původu, například výtažek z moruše, fíkovníku apod. V současné době se daleko častěji používají mikrobiální syřidla, resp. Syřidla produkovaná geneticky modifikovanými mikroorganismy. Příkladem mohou být druhy jako *Aspergillus niger*, *Escherichia coli*, *Cryphonetria parasitica*, *Rhizomucor miehei* apod. [10]

2.6 Zpracování sýřeniny

Zpracováním sýřeniny získáme sýrašské zrno o požadované velikosti. Tento proces začíná krájením. Následuje drobení, které představuje další zmenšování zrna. Zde se používá větší frekvence sýrašských harf. Kvalita zpracované sýřeniny se posuzuje podle velikosti zrn, množství sýrašského prachu a vzhledu syrovátky. Následným vytužováním se docílí postupné zmenšení sýrašského zrna a také se zvýší jeho tuhost.

U polotvrdých a tvrdých sýrů přichází na řadu další operace zvaná dohřívání, kdy dochází k postupnému zvyšování teploty na teplotu dosoušení, což představuje výdrž (míchání, vytužování) při této teplotě. Cílem je opětovné zmenšení zrna a odvod syrovátky. U sýrů z nízkodohřívané sýřeniny se pro přihřívání užívá teplota v rozmezí 38 - 42 °C. Zvýšení teploty se docílí přidáním technologické vody o teplotě obvykle 60 - 90 °C a při současném odpuštění syrovátky. Poměr odpuštěné vody a syrovátky se nazývá prací poměr. Přídáváním technologické vody docílíme jemnější a méně výrazné chuti, protože se sníží koncentrace všech složek, především však laktózy.[1,2,3]

2.7 Tvarování

Tvarování je proces, kdy sýr dostává daný tvar o odpovídající velikosti a hmotnosti. K tvarování se užívá blokových nebo individuálních tvořítek vyrobených z plastu nebo kovu. Sýry eidamského typu získávají tvar lisováním, což představuje proces, kdy dochází

k odvodu syrovátky za tlaku vyššího, než je atmosferický (hydraulické nebo pneumatické vany). Lisování probíhá ve dvou fázích. V první fázi dochází k předlisování za použití tlaku 0,005 – 0,05 MPa po dobu 25 - 30 min. Poté následuje lisování po dobu 20 – 60 min a tlaku 0,01 – 0,05 MPa.[1,3]

2.8 Solení

Solení má vliv na výslednou chuť sýra, ovlivňuje aktivitu enzymů a kultur při zrání. Sůl také působí částečně konzervačně, ovlivňuje stravitelnost bílkovin. Zpevňuje se povrch sýru, ovlivňuje konzistenci sýru. Sýry eidamského typu mají střední obsah soli. Množství se pohybuje v rozmezí 1,5 % - 3 %. Solení se obvykle provádí v solné lázni. Do solné lázně se sýry vkládají jednotlivě, v kontejnerech či solná lázeň naplavovací, kde sýry jsou unášeny proudem a množství soli v sýru závisí na délce naplavovacího kanálu. Další možností je také dvoutepelné solení, které zajišťuje dostatečné prokysání před zráním. V první tzv. teplé solné lázni sýry prokysávají po dobu jednoho dne a teplotě 16 – 18 °C a koncentraci 18 - 20 %. Ve druhé fázi přichází na řadu tzv. chladná solná lázeň, kde se sýry dosolují při teplotě 10 – 12 °C 1 – 2 dny. Parametry solné lázně musí být průběžně upravovány, protože dochází například k úbytku soli nebo dochází ke zvýšení teploty. Doba solení závisí na velikosti sýra a na parametrech solné lázně. K vyrovnání obsahu NaCl dochází během prvních dnů zrání.[1,3,10]

2.9 Příprava před zráním

Po vysolení musí sýry oschnout z důvodu dobrého přichycení voskových nátěrů, nebo aby se zabránilo růstu plísní, pokud sýry budou zrát v plastových obalech.[3]

2.10 Zrání

Zrání je soubor fyzikálních, chemických a biochemických přeměn, kdy výsledkem je „sýrový buket“. Nejprve dochází k rozkladu laktózy bakteriemi mléčného kvašení za vzniku kyseliny mléčné. K rozkladu laktózy dochází během lisování, solení a poslední zbytky laktózy jsou rozloženy během prvních dnů zrání. Nejintenzivnější rozklad laktózy však nastává během lisování. Vzniklá kyselina mléčná uvolní z kaseinu vápník za vzniku mléčnanu vápenatého. V konečné fázi z kaseinu vzniká monokalciumpokasinát, který bobtná v přítomnosti NaCl. Vzniklá sůl se podílí na slepování sýřeniny a na vzniku homogenní

struktury. Také dochází ke snížení kyselosti sýra a to jednak vazbou kyseliny mléčné, ale také mikrobiologickým rozkladem. Současně probíhá proteolýza – rozklad bílkovin. K rozkladu bílkovin dochází působením proteolytických mikroorganismů čistých kultur, zejména činností jejich enzymů. Nejprve vnikají peptidy o vysoké molekulové hmotnosti a poté peptidy s nízkou molekulovou hmotností, které jsou většinou hořké a typické pro mladé sýry (při delším zrání hořkost zmizí). Následným rozkladem vznikají kratší peptidy, dipeptidy až aminokyseliny. Lipolýza, neboli rozklad tuku probíhá velmi omezeně, u tvrdých a polotvrdých sýrů je považována spíše za nežádoucí. [1,3,10]

Pro zrání sýrů se užívá speciálních prostor zvaných sýrařské sklepy, kde jsou dané vhodné klimatické podmínky, jako teplota nebo vlhkost vzduchu. Zrání sýrů eidamského typu probíhá při teplotě 6 - 12 °C po dobu 5 - 8 týdnů s 80 až 90% vlhkostí. [3,10]

3 BIOCHEMIE ZRÁNÍ

Po vysolení má většina sýrů křídově bílou barvu, mohou být tuhé nebo křehké. Jsou bez chuti a zápachu, s viditelným solným prstencem pod pokožkou. Teprve v průběhu zrání dostává sýr typickou chuť, vůni, vzhled konzistenci lišící se podle typu sýra – tzv. „sýrový buket“. Vše je způsobeno složitými biochemickými přeměnami během zrání. Pro sýry z nízkodohřívané sýřeniny je typická barva smetanová až sýrově žlutá, povrch celistvý, hladký. Konzistence jemná, celistvá. Chuť a vůně příjemně nakyslá, mléčná.

Zrání je složitý enzymatický proces, kdy dochází k rozkladu laktózy (glykolýza), bílkovin (proteolýza) a v některých případech tuků (lipolýza). Lipolýza je žádoucí hlavně u sýrů s plísní v těstě, jako je například sýr Niva. Ale u sýrů z nízkodohřívané sýřeniny se jedná spíše o nežádoucí jev. [2]

3.1 Metabolismus laktózy

Laktóza (mléčný cukr) je disacharid složený z glukózy a galaktózy (4-O- β -D-galaktopyranosyl-D-glukopyranosa). Glukóza se nachází v krvi jako produkt hydrolyzy polysacharidů z krmiv dojnice a odtud se dostává do mléčné žlázy. Izomerací glukózy v mléčné žláze vzniká galaktóza. V kravském mléce je její obsah 4,7 %. [3,8,18]

K rozkladu laktózy dochází působením bakterií mléčného kvašení za vzniku kyseliny mléčné. K rozkladu dochází během formování sýrů. K nejintenzivnějšímu rozkladu laktózy však dochází během lisování. Vzniklá kyselina mléčná odštěpí z kaseinu vápník za vzniku mléčnanu vápenatého. V konečné fázi rozkladu vzniká monokalciumpkaseinát, který v přítomnosti NaCl bobtná. Vápenaté soli kaseinu dávají vznik homogenní struktuře sýrů. Vazbou kyseliny mléčné nebo jejím mikrobiálním rozkladem dochází ke snížení kyselosti sýra. V průběhu 24 hodin je třeba u tvrdých sýrů dosáhnout pH 5,2. [10,17]

3.2 Proteolýza

Bílkoviny jsou proteiny vysokomolekulárního charakteru. Základní stavební jednotkou jsou aminokyseliny, které jsou spojeny peptidovou vazbou. Hlavní řetězec se skládá z opakující se struktury $\text{NH-CHR}_i\text{-CO-NH-CHR}_{(i+1)\text{-CO-}}$. Obsah bílkovin v kravském mléce činí 3,3 %. Obsah bílkovin je dán geneticky, ale do jisté míry lze ovlivnit a to energetickou hodno-

tou krmné dávky. Nižší obsah bílkovin signalizuje nedostatečně energetickou krmnou dávku dojnice[3,7]

Proteolýza neboli rozklad bílkovin je charakteristický biochemický znak u tvrdých a tvrdých sýrů. Jedná se o hydrolytický proces, který probíhá v kyselém prostředí. K rozkladu bílkovin dochází působením proteolytických mikroorganismů resp. působením jejich enzymů čistých kultur. Proteolýzou nejprve vznikají vysokomolekulární peptidy a poté nízkomolekulární peptidy. Některé nízkomolekulární peptidy mohou způsobovat hořkou chuť sýra, což je typické pro mladé sýry. Při delší době zrání však hořká chuť zmizí. Poté vznikají kratší peptidy, dipeptidy až aminokyseliny (například tyrosin a tryptofan u sýra zrající s plísní v těstě). U některých sýrů nastává degradace aminokyselin až na sirovodík či amoniak, které ovlivňují sensorické vlastnosti sýra (například sýr zrající s mazem na povrchu).[1,2,3,10,17]

3.3 Lipolýza

Lipidy jsou nízkomolekulární přírodní látky. Patří k energeticky nejbohatším látkám, při jejich odbourávání se uvolňuje velké množství energie.

Lipidy dělíme na:

- Homolipidy (jednoduché) – obsahují ve své molekule pouze mastnou kyselinu a glycerol
- Heterolipidy (složené) – obsahují ve své molekule jak mastnou kyselinu a glycerol, tak navíc navázaný jiný prvek či složku
- Komplexní lipidy
- Doprovodné látky lipidů

Mléčný tuk obsahuje především TAG, DAG, volné mastné kyseliny a fosfolipidy, estery ketokyselin, cholesterol a jiné látky v nevýznamném množství. Obsah mléčného tuku činí 3,8 %. Obsah tuku závisí na druhu plemene, na ročním období, dále obsah tuku závisí na stadiu laktace a kvalitě mléka.[3,8,18]

Lipolýza je charakteristická pro sýry s plísní v těstě, kde vlivem lipolytické mikroflóry dochází k rozkladu tuků za vzniku typických metylketonů, které dávají charakteristickou vůni a aroma. U sýrů polotvrdých a tvrdých se jedná spíše o nežádoucí jev. Meta-

bolismus mastných kyselin probíhá v několika krocích. Nejprve dochází k uvolňování mastných kyselin lipolytickými mikroorganismy. Mastné kyseliny ovlivňují sensorické vlastnosti sýrů, dalšími reakcemi z nich vznikají aldehydy, ketony či alkoholy. Dalším krokem v metabolismu mastných kyselin nastává oxidace ketokyselin a následná dekarboxylace na metylketony. Produkce metylketonů ovlivňuje celá řada faktorů, příkladem může být teplota, pH. [3,5,10,17,25]

4 AKCELERACE ZRÁNÍ

Zrání sýrů může představovat velmi dlouhodobý proces. Některé sýry zrají jen několik týdnů, ale některé jako je například parmazán či velmi vyztřálý čedar i několik let. Doba zrání souvisí s obsahem vody v sýrech, ale také na typu sýra a velikosti. Čím menší je obsah vody, tím pomalejší bude zrání. Také po ekonomické stránce je dlouhodobé zrání velmi náročné.[5]

Tabulka 1: Klasifikace přírodních sýrů podle konzistence ve vztahu k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra [16]

| Skupina sýrů | Obsah v % |
|--------------|---------------------|
| Extra tvrdý | méně než 47včetně |
| Tvrdý | 47 až 54,9 |
| Polotvrdý | 55 až 61,9 |
| Poloměkký | 62,0 až 68,0 včetně |
| Měkký | více než 68,0 % |

A z těchto důvodů se začíná čím dál častěji přistupovat k urychlování zrání – tzv. akceleraci, platí zde předpoklad, že se nezmění vlastnosti sýra (chuť, textura,...)Rozklad laktózy není nutné urychlovat, protože zbytkové množství laktózy se rozloží v několika prvních dnech během zrání. Akcelerace se převážně týká proteolýzy a to u sýrů tvrdých a polotvrdých.[5]

Akceleraci zrání lze provést 6 způsoby :

1. Zvýšením teploty
2. Přídavkem enzymatických přípravků (exogenní enzymy)
3. Přídavkem chemicky a fyzikálně modifikované kultury
4. Přídavkem geneticky modifikovaných mikroorganismů
5. Přídavkem doplňkových kultur

6. Přídavkem výluhů ze zralých sýrů

4.1 Zvýšení teploty

Dané zrací teploty a doba u různých druhů sýra se značně liší a závisí na požadované technologii. Sýry eidamského typu zrají při teplotě 6 - 12 °C po dobu 5 - 8 týdnů. Při daných parametrech sýr získá požadované vlastnosti (barva, textura, aroma, chuť). Teploty nad 20 °C způsobují, že sýr je měkký a deformuje se. U sýrů zrajících volně může také docházet k odpaření velkého množství vody a vysychání sýra. Je také pravděpodobné, že všechny biochemické reakce neproběhnou stejně a ve stejném rozsahu. Tudiž prostor pro velké rozpětí teplot je poměrně omezený. Doba zrání se může zkrátit až o 50 %. Teplota může být zvýšena v jakékoliv fázi zrání. Sýry vhodné pro urychlení zrání zvýšením teploty by měli mít dobré fyzikálně chemické vlastnosti, Sýry s vysokým pH, nízkým obsahem NaCl a s vysokou vlhkostí jsou nevhodné. Nevýhodou této metody může být poměrně rychlé mikrobiální kažení sýrů a možná nevyrovnaná chuť.[5,16]

4.2 Exogenní enzymy

Enzymy jako takové jsou přímo zodpovědné za zrání sýrů. Zrání by mohlo být urychleno větším přídavkem syřidla, syřením při nižším pH či použitím přídavek práškového syřidla (např. při solení). Ale zvyšování syřidla není vhodná varianta. Nedojde k urychlení zrání a navíc dochází ke vzniku hořké chuti.

Další variantou je například užití plazminu. Plazmin neovlivňuje chuť, urychluje zrání. Ale je příliš drahý pro komerční účely. Plazmin je možné naklonovat ze zástupců rodu *Lactococcus*, který by mohl být použit jako starterová bakterie. Plazmin by se uvolnil během zrání. Také některé druhy rodu *Lactobacillus* mohou být vhodným nositelem, ale rozklad probíhá v omezené míře. Mléko obsahuje 4 krát více plasminogenu než plazminu. Aktivací plasminogenu například urokinásou dochází k urychlování zrání. Nevýhodou této metody jsou vysoké náklady. Výzkumy ukazují, že nákladný plazmin je možné nahradit trypsinem. Účinky trypsinu dosud nebyly ověřeny.[5]

Mezi exogenní enzymy také patří proteinázy bakterie *Bacillus subtilis* s vhodnou kombinací s teplotou nebo s laktóza negativní kulturou. Dosavadní studie ukázaly, že užitím tohoto

enzymu došlo k podstatnému urychlení zrání. Jiné názory se značně liší a navíc dochází k vadám chuti a textury.

Začlenění exogenních proteináz s sebou přináší několik problémů. Většina enzymů jsou rozpustná ve vodě, tudíž odchází do syrovátky. Pokud má být syrovátka nadále využívána, tak případné enzymy musí být inaktivovány. Důraz je kladen na teplotu, která by neměla způsobit denaturaci sérových bílkovin.

V některých případech je vhodné použít exogenní lipázy, zejména u výroby sýrů s plísní. Tím docílíme zlepšení sensorické kvality. [5,16]

4.3 Chemicky a fyzikálně modifikované kultury

Zákysové bakterie jsou zodpovědné za vznik typických sensorických vlastností sýra, a proto je zřejmé využití některých vlastností těchto bakterií pro urychlení zrání. Obecně jsou možné 4 postupy. Například výběr kultur, které rychleji podléhají lýzy, neboli rozkladu buňky. Tím tedy dochází k rychlejší enzymatické činnosti a rychlejšímu průběhu zrání. Ovšem tato metoda vyžaduje další zkoumání. Dále je možný přídavek oslabených zákysových kultur. Použitím oslabených zákysových kultur regulujeme množství kyseliny mléčné, kde nadměrně rychlá produkce je nežádoucí. K oslabení buněk lze použít enzym lysozym, či teplotní šok.[5,16]

4.4 Geneticky modifikované mikroorganismy

Geneticky modifikované mikroorganismy jsou mikroorganismy u níž byl upraven proteolytický systém. Avšak sýr vyrobený pomocí geneticky upravených mikroorganismů měl prázdnou chuť a k výraznému urychlení zrání a rozvoji aroma nedošlo.[5,18]

4.5 Doplnkové kultury

Doplnkové kultury ovlivňují zrání sýrů a tím i vznik typických sensorických vlastností. Příkladem mohou být zástupci rodu *Propionebacterium* nebo *Brevibacterium*. [5]

4.6 Přídavek výluhů ze sýrů

Extrémním případem urychlování zrání je přídavek výluhů ze sýrů. Mladý sýr či tvaroh se z homogenizuje a tato suspenze se přidá při výrobě přírodních sýrů za předpokladu urychlení zrání sýrů. [5,16]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce bylo založit zrací pokus pozorovat vliv akcelerace zrání na vybrané skupiny mikroorganismů v přírodním sýru eidamského typu.

Pro vypracování bakalářské práce bylo důležité řešit následující dílčí úkoly.

- Zpracovat rešerši o výrobě sýru z nízkodohřívané sýřeniny eidamského typu, biochemii zrání a o způsobech akcelerace zrání
- Realizovat zrací pokus a sledovat vliv akcelerace zrání pomocí zvýšené teploty na vybrané skupiny mikroorganismů
- Stanovit celkové počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, mléčné bakterie a koliformní bakterie
- Na základě teoretické části a stanovených výsledků formulovat výsledky

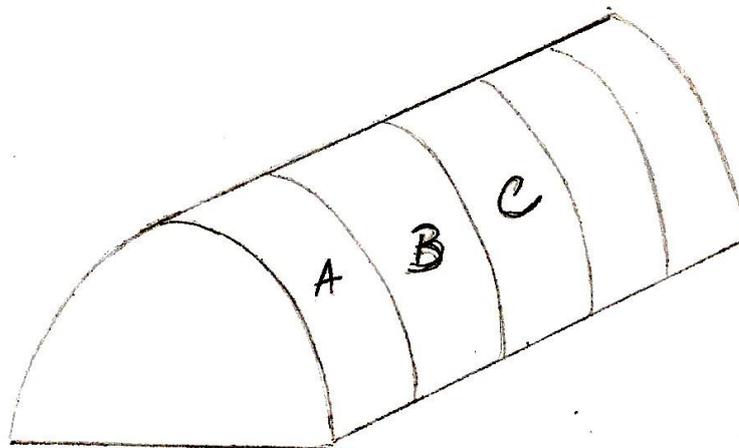
6 MATERIÁL A METODY

6.1 Výroba eidamské cihly

U výrobce byla vyrobena šarže cihel, které byly posléze použity pro zrací pokus. K výrobě eidamské cihly bylo použito plnotučné pasterované mléko, jehož tučnost byla upravena odstředěným pasterovaným mlékem. Po přidavku smetanového zákysu následovala doba prokysávání. Poté byl přidán chlorid vápenatý, dusičnan draselný, barviva a v neposlední řadě syřidlo. Směs se nechala srážet. Následovalo zpracování sýřeniny – krájení, drobení, vytužování, přihřívání, dosoušení. Zrno se poté vypustilo do lisovací vany, kde došlo nejprve k předlisování a poté k vlastnímu lisování, čímž sýr získal tvar. Sýry byly vloženy do solné lázně, poté okapány a rozkrojeny na půlky baleny do cryovaku a uloženy do zracího sklepa při teplotě 10 ± 2 °C.

6.2 Zrací pokus

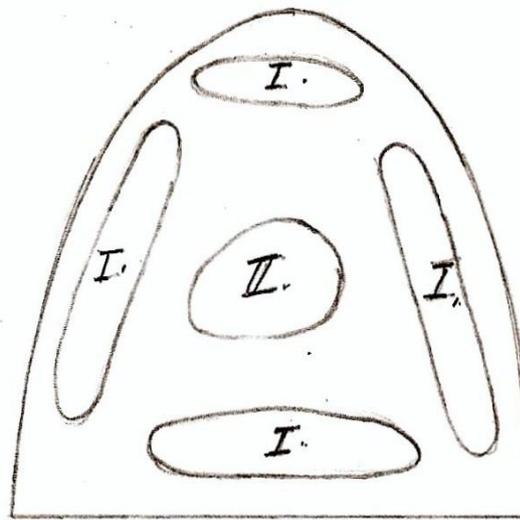
Šarže eidamské cihly byla uskladněna ve zracím sklepě s teplotou 10 ± 2 °C. Po 3 dnech byla část cihel přemístěna do „zrací komory“, kde po zbytek doby zrání sýry tj. 74 dní byly při teplotě 16 ± 1 °C. Při rozboru, byla cihla vždy rozdělena na 5 částí, ale vzorky odebírané pouze z prvních 3 částí a vždy zevnitř plátu, viz. obr.1



Obrázek 1: Znárodnění odebrání plátu

Jednotlivé pláty byly označeny písmeny A,B,C směrem ke středu sýra. Z jednotlivých plátů byly odebrány vždy 2 vzorky. Vzorek označený jako I. byl z okrajových částí sýra a vzorek označený jako II. byl ze středové části, viz. Obr.2.

Sыр zrající při teplotě 16 ± 1 °C byl rozdělen stejným způsobem na 5 částí, avšak jednotlivé pláty byly označeny AA, BB, CC. Okrajové části jsou označeny opět I. a středová část II., viz. obr.2



Obrázek 2: Znázornění odebírání vrstev

6.3 Metody mikrobiologického stanovení

6.3.1 Stanovení celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů

Pro stanovení CPM bylo třeba navážit 2 až 5 g vzorku, který se naředil devítinásobkem fyziologického roztoku. Následovala homogenizace, s kterou jsme získali 0. ředění. Poté se připravilo příslušné desítkové ředění do připravených sterilních zkumavek s 9 ml fyziologického roztoku. Očkování se provádělo roztěrem 0,1 ml na sterilní petriho misku s půdou

PCA. Vždy bylo provedeno dvě až tři desítkové vhodné ředění a očkováno na nejméně dvě petriho misky. Kultivace probíhala při teplotě 30 °C /24 hodin

Kultivační půda PCA je neselektivní medium sloužící ke stanovení celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů. Půda obsahuje trypton, kvasničný extrakt a glukózu. [20]

6.3.2 Stanovení bakterií mléčného kvašení

Pro stanovení bakterií mléčného kvašení bylo třeba navážít 2 až 5 g vzorku, který se naředil devítinásobkem fyziologického roztoku. Následovala homogenizace, s kterou jsme získali 0. ředění. Poté se připravilo příslušné desítkové ředění do připravených sterilních zkumavek s 9 ml fyziologického roztoku. Očkování se provádělo roztěrem 0,1 ml na sterilní PM s půdou M17 a MRS. Vždy bylo provedeno dvě až tři desítkové vhodné ředění a očkováno na nejméně dvě petriho misky. Kultivace na půdě M17 probíhala při teplotě 30 °C /24 hodin a inkubace na půdě MRS probíhala při teplotě 30 °C /48 hodin

Půda M17 je živné médium bohaté na živiny a slouží ke stanovení mléčných koků (strep-tokoky, laktokoky, leukonostoky). [20]

Kultivační půda MRS slouží ke stanovení laktobacilů. Obsahuje pepton, dextrózu a citrat amonný, octan sodný a kyselinu octovou. [20]

6.3.3 Stanovení koliformních bakterií

Pro stanovení koliformních bakterií bylo třeba navážít 2 až 5 g vzorku, který se naředil devítinásobkem fyziologického roztoku. Následovala homogenizace, s kterou jsme získali 0. ředění. Poté se připravilo příslušné desítkové ředění do připravených sterilních zkumavek s 9 ml fyziologického roztoku. Očkování se provádělo roztěrem 0,1 ml na sterilní PM s půdou EA. Vždy bylo provedeno dvě až tři desítkové vhodné ředění a očkováno na nejméně dvě petriho misky. Kultivace probíhala při teplotě 37 °C /24 hodin.

Endův agar obsahuje laktózu, fuschin což je červené bazické barvivo sloužící k potlačení G⁺ bakterií a k důkazu aldehydů, které vznikají jako štěpné produkty laktózy. Půda má na-ružovělou barvu a je nutno ji chránit před působením světla, protože dochází ke štěpení laktózy a dochází ke změně barvy na tmavě červenou.[20]

6.3.4 Stanovení sporotvorných mikroorganismů

Pro stanovení sporotvorných bakterií bylo třeba navážít 2 až 5 g vzorku, který se naředil devítinásobkem fyziologického roztoku. Následovala homogenizace, s kterou jsme získali 0. ředění, které se inaktivovalo ve vodní lázni o teplotě 80 °C po dobu 10 minut. Po ochlazení vzorku se připravilo příslušné desítkové ředění do připravených sterilních zkumavek s 9 ml fyziologického roztoku. Očkování se provádělo přelivem 1 ml vzorku sterilní půdou. Pro stanovení aerobních sporotvorných mikroorganismů se pro kultivaci používala půda PCA, pro stanovení anaerobních sporotvorných mikroorganismů se pro kultivaci používala půda RCA, a také bylo třeba vytvořit anaerobní podmínky pomocí anaerostatu. Vždy bylo provedeno dvě až tři desítkové vhodné ředění a očkováno na nejméně dvě petriho misky. Kultivace probíhala při teplotě 37 °C /48 hodin.

Kultivační půda RCA je živné médium obsahující kasein enzymové hydrolyzáty a hovězí extrakt jako zdroje uhlíku, dusíku, vitamínů a minerálních látek. Kvasnicový extrakt dodává B-komplex vitamínů, které stimulují růst bakterií. Dále dextrózu a chlorid sodný.[22]

6.3.5 Stanovení enterokoků

Pro stanovení sporotvorných bakterií bylo třeba navážít 2 až 5 g vzorku, který se naředil devítinásobkem fyziologického roztoku. Následovala homogenizace, s kterou jsme získali 0. ředění, které se inaktivovalo ve vodní lázni o teplotě 80 °C po dobu 10 minut. Po ochlazení vzorku se připravilo příslušné desítkové ředění do připravených sterilních zkumavek s 9 ml fyziologického roztoku. Očkování se provádělo přelivem 1 ml vzorku sterilní půdou SBA. Vždy bylo provedeno dvě až tři desítkové vhodné ředění a očkováno na nejméně dvě petriho misky. Kultivace probíhala při teplotě 37 °C /48 hodin.

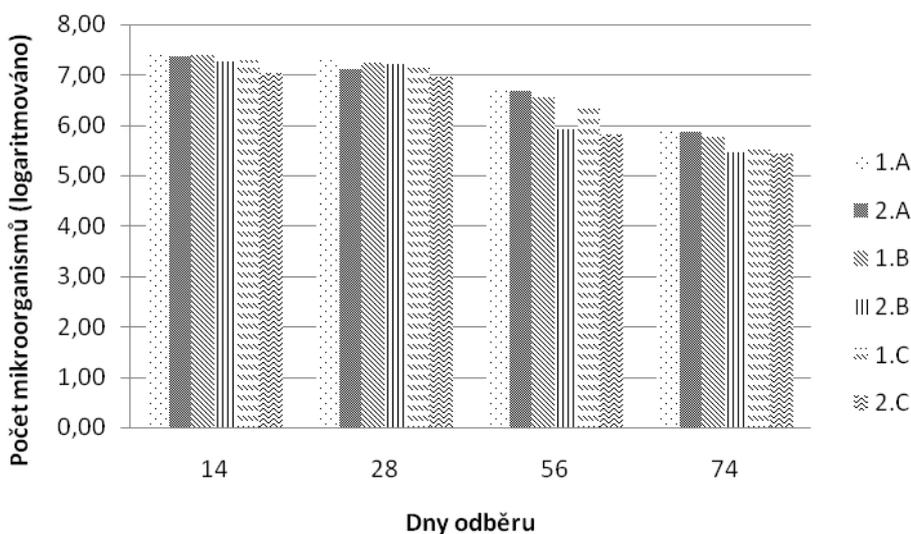
Kultivační půda SBA je selektivní médiem obsahující tryptózu a kvasničný extrakt, které jsou hlavním zdrojem vitamínů, dusíku, minerálních látek či aminokyselin. Dále glukózu, fosforečnan draselný, azid sodný, který tvoří selektivní činidlo a trifenylnitrazolium chlorid. [20]

7 VÝSLEDKY

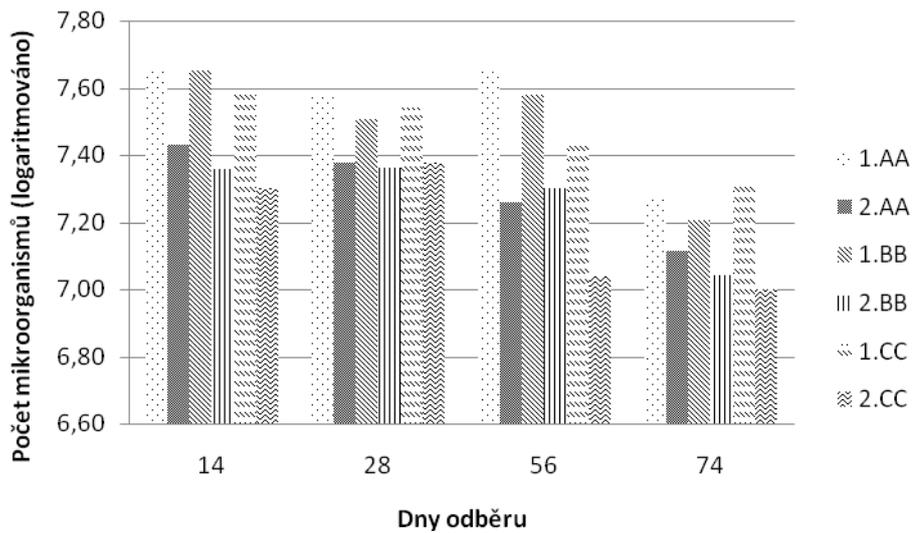
Během 74. denního průběhu zrání byl sledován vliv zvýšené teploty ($16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) na vybrané skupiny mikroorganismů a následně porovnán s počty mikroorganismů v sýru zrajícím při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Analýza byla zaměřena na stanovení celkových počtů mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, stanovení mléčných bakterií a kolidiformních bakterií v jednotlivých plátech a vrstvách (obr. 1. a 2.).

7.1 Stanovení CPM

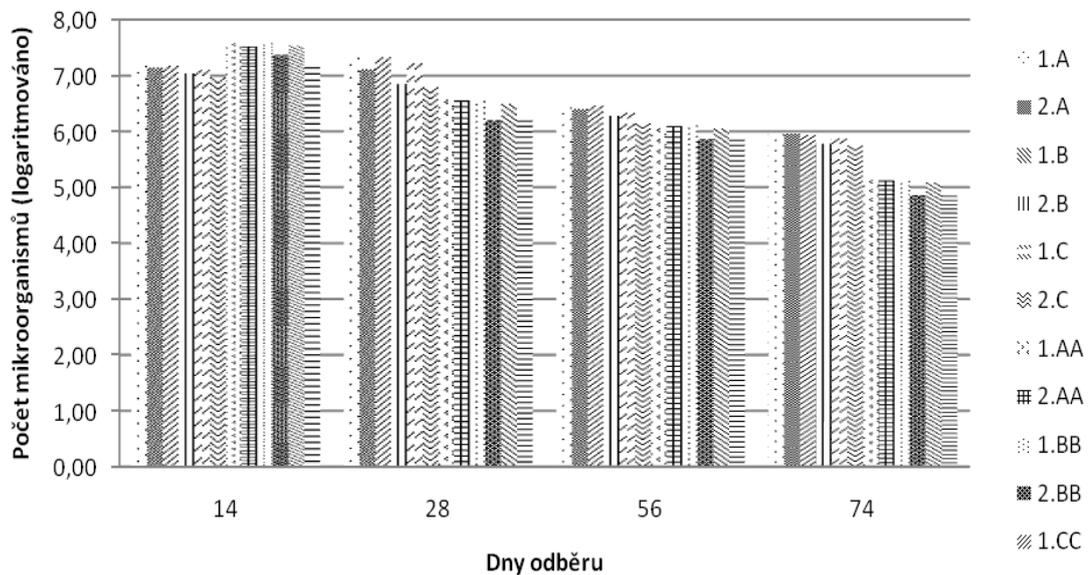
Při stanovení celkových počtů mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů byly prokázány vyšší počty mikroorganismů u sýru zrající ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ve všech plátech i vrstvách, ale pouze v prvních 14. dnech zrání. Během následujících dní zrání však vyšší počty mikroorganismů byly stanoveny u sýru zrající ve zracím sklepe při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ a to ve všech vrstvách i plátech. Počty mikroorganismů v průběhu zrání u obou sýrů mají klesající charakter.



Obrázek 3: Celkové počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů zrajících v sýrech eidamského typu ve zracím sklepe při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$



Obrázek 4: Graf celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů zrajících v sýru eidamského typu ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$

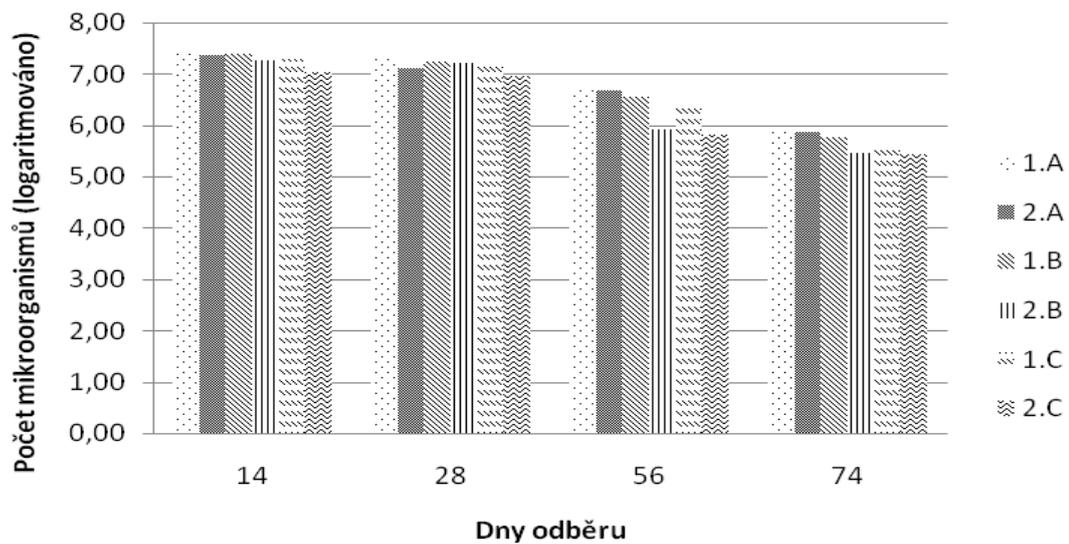


Obrázek 5: Graf porovnávající celkové počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů zrajících v sýru eidamského typu ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ a „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$

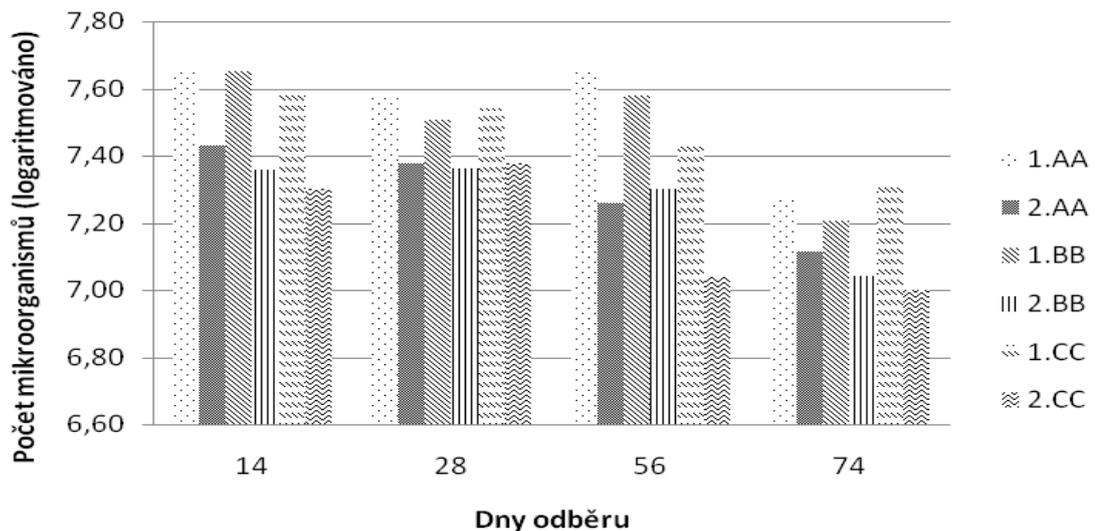
7.2 Stanovení bakterií mléčného kvašení

7.2.1 Stanovení mléčných bakterií na kultivační půdu M17

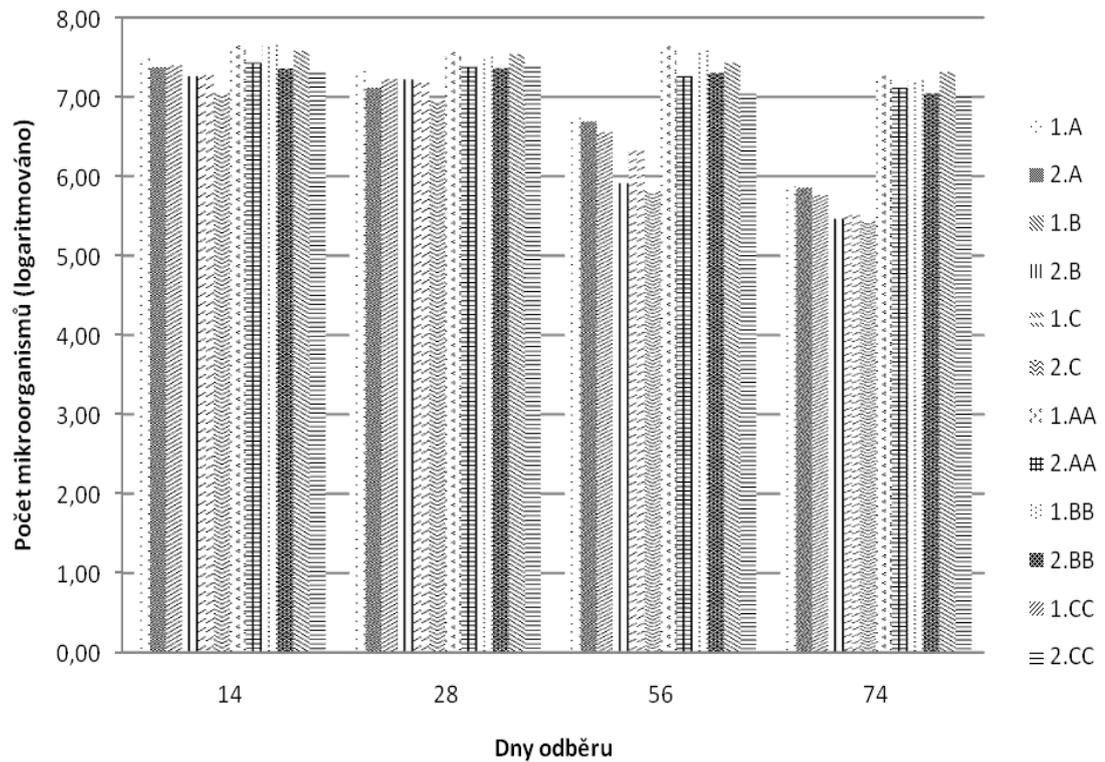
Od počátku zrání jsou počty mikroorganismů u sýra zrajícím ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C v jednotlivých vrstvách a plátech nižší než u sýra zrajícím ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C. V průběhu prvních 28. dní zrání není rozdíl v počtech mikroorganismů nijak markantní. V následujícím 56. a 74. dni jsou však rozdíly poněkud větší. Počty mikroorganismů v průběhu zrání u obou sýrů mají klesající tendenci.



Obrázek 6: Graf stanovení mléčných bakterií zrajících v sýru eidamského typu ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C



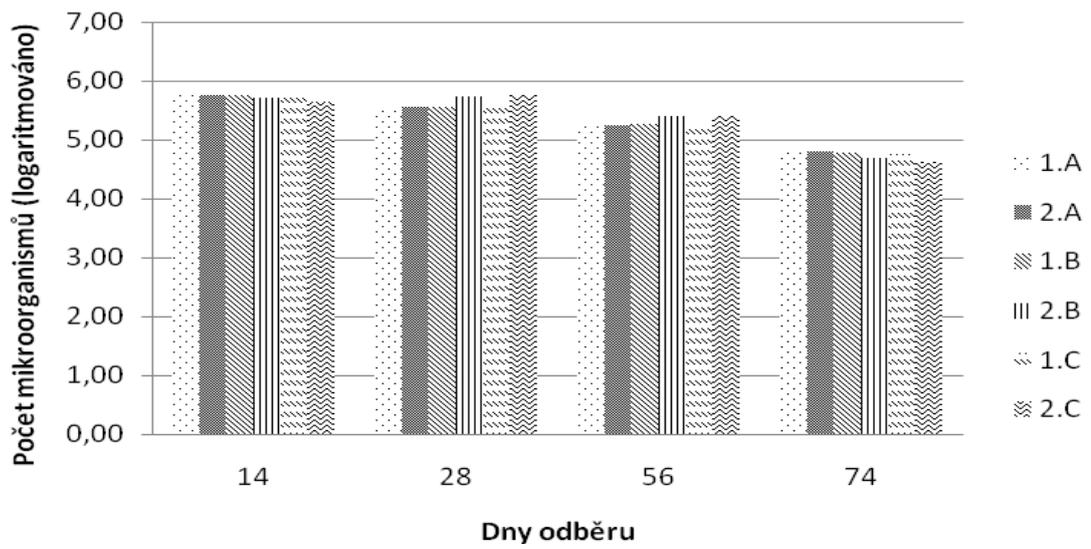
Obrázek 7: Graf stanovení mléčných bakterií v sýru eidamského typu zrajících ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1^\circ\text{C}$



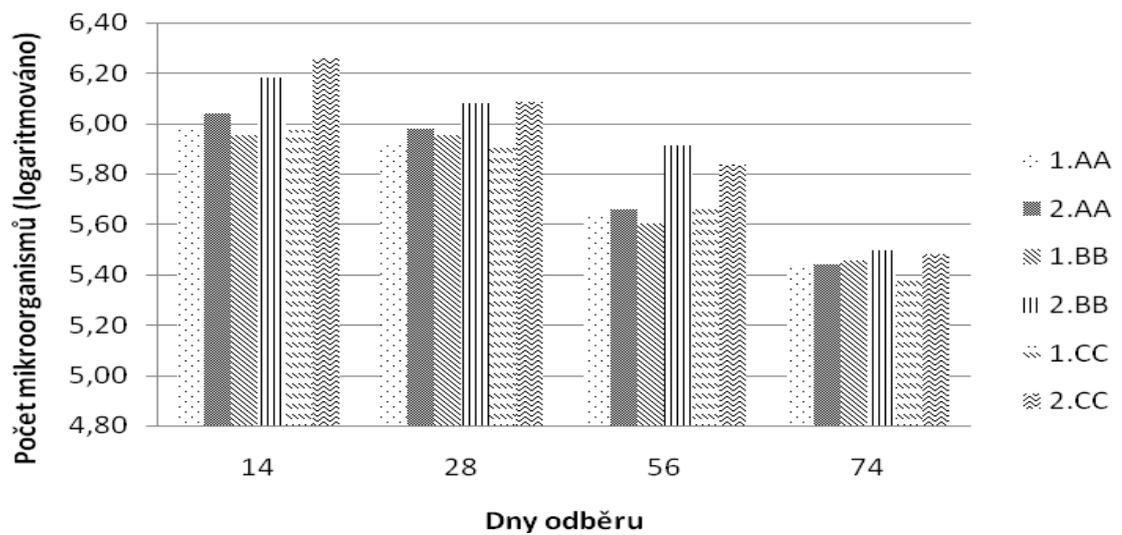
Obrázek 8: Graf porovnávací stanovení mléčných bakterií v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2^\circ\text{C}$ a „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1^\circ\text{C}$

7.2.2 Stanovení mléčných bakterií na kultivační půdě MRS

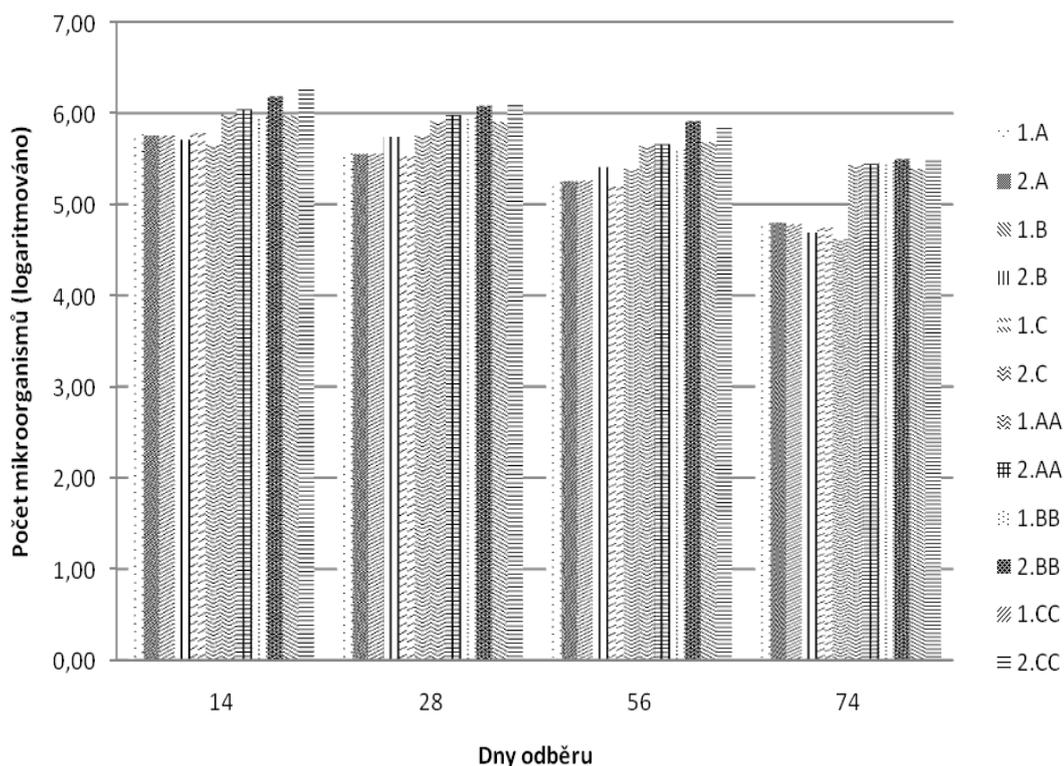
U stanovení mléčných bakterií za použití kultivační půdy MRS jsou počty mikroorganismů větší u sýru zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1^\circ\text{C}$ ve všech vrstvách i plátech než u sýru zrajícího ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2^\circ\text{C}$. U obou sýrů mají počty mikroorganismů v průběhu zrání klesající tendenci.



Obrázek 9: Graf stanovení mléčných bakterií zrajících v sýru eidamského typu ve zracím sklepe při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$



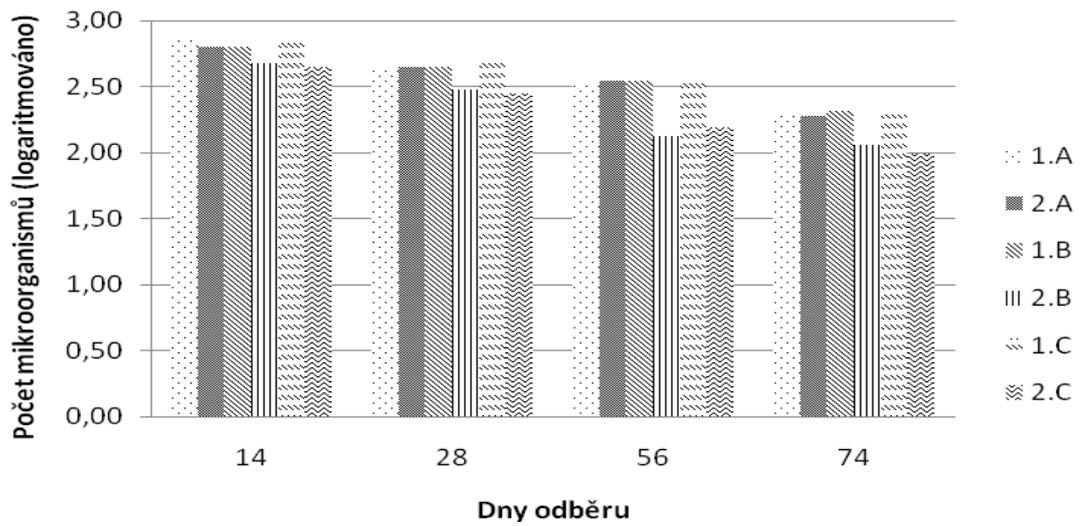
Obrázek 10: Graf stanovení mléčných bakterií v sýru eidamského typu zrajících ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$



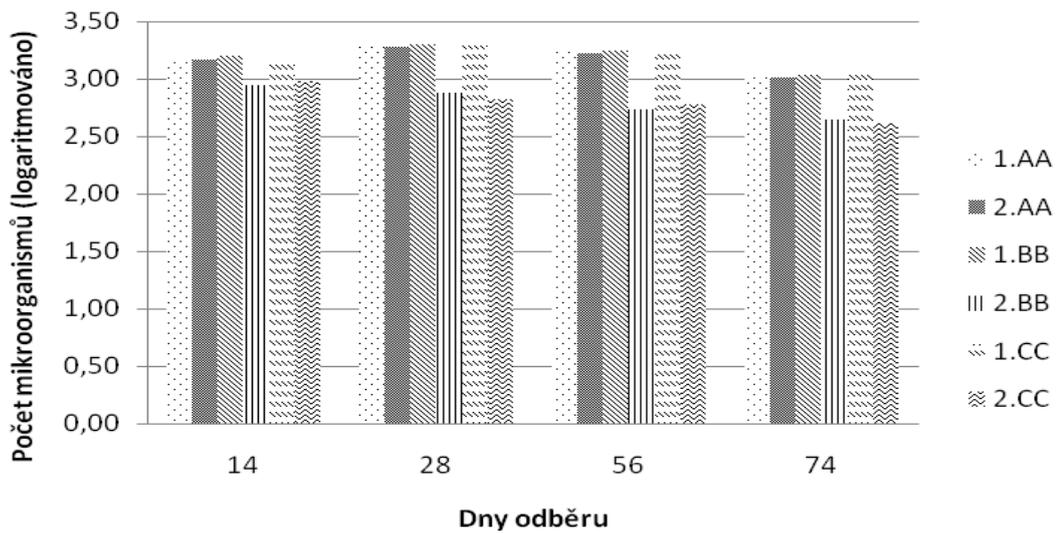
Obrázek 11: Graf porovnávající stanovení mléčných bakterií v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ a „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$

7.3 Stanovení koliformních bakterií

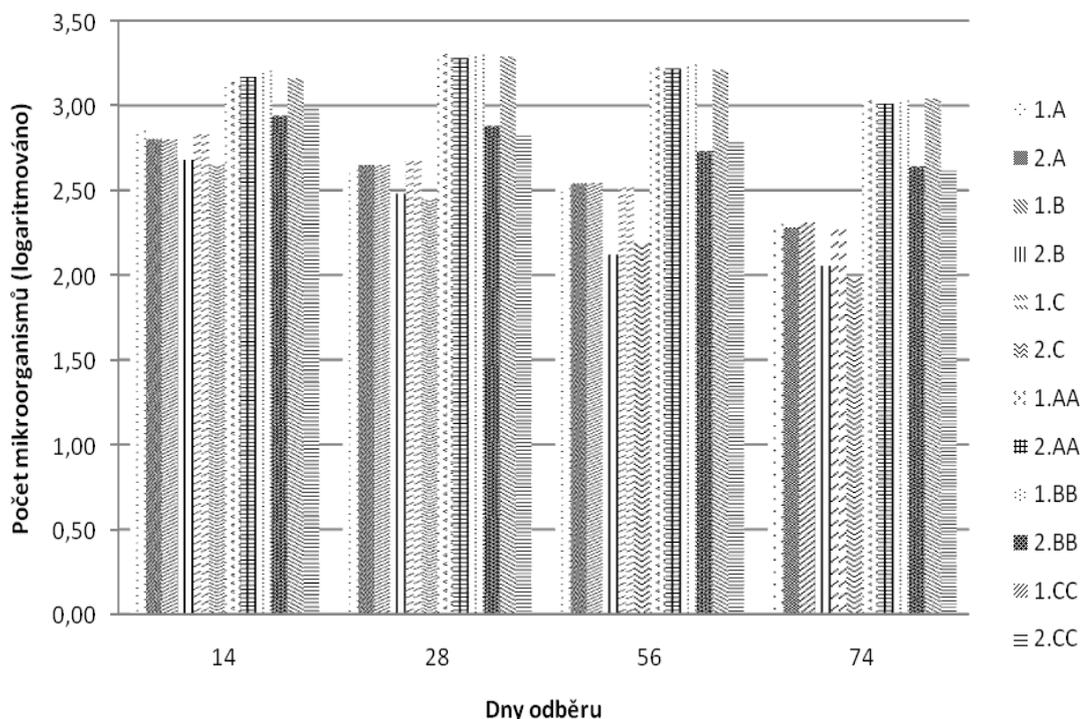
Počty koliformních bakterií jsou u sýra zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ značně vyšší než u sýra zrajícího ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Avšak u sýra zrajícího při vyšší teplotě nastává u vzorku 2BB a 2CC mírný pokles počtu mikroorganismů, což jsou ale stále vyšší hodnoty než u sýra zrajícího ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. U obou sýrů mají počty koliformních mikroorganismů v průběhu zrání klesající tendenci.



Obrázek 12: Graf stanovení koliformních bakterií zrajících v sýru eidamského typu ve zracím sklepe při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$



Obrázek 13: Graf stanovení koliformních bakterií v sýru eidamského typu zrajících ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$



Obrázek 14: Graf porovnávající stanovení koliformních bakterií v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ a „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$

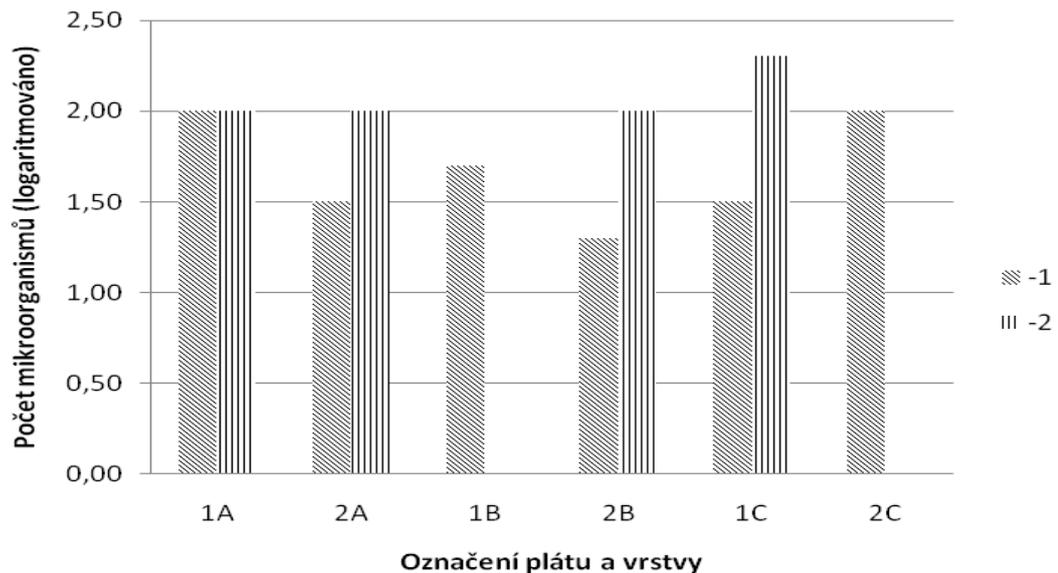
7.4 Stanovení sporulujících mikroorganismů a enterokoků

Během 74. denního zrání se sýr zrající ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ nafoukl, na řezu byla značná oka a dutinky, byl mazlavý a z toho důvodu se 74. den stanovily aerobní a anaerobní sporulující mikroorganismy a enterokoky, abychom vyloučily případné pozdní duření sýrů nebo kontaminaci. Pro porovnání byl rozbor proveden i u sýru zrajícího ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

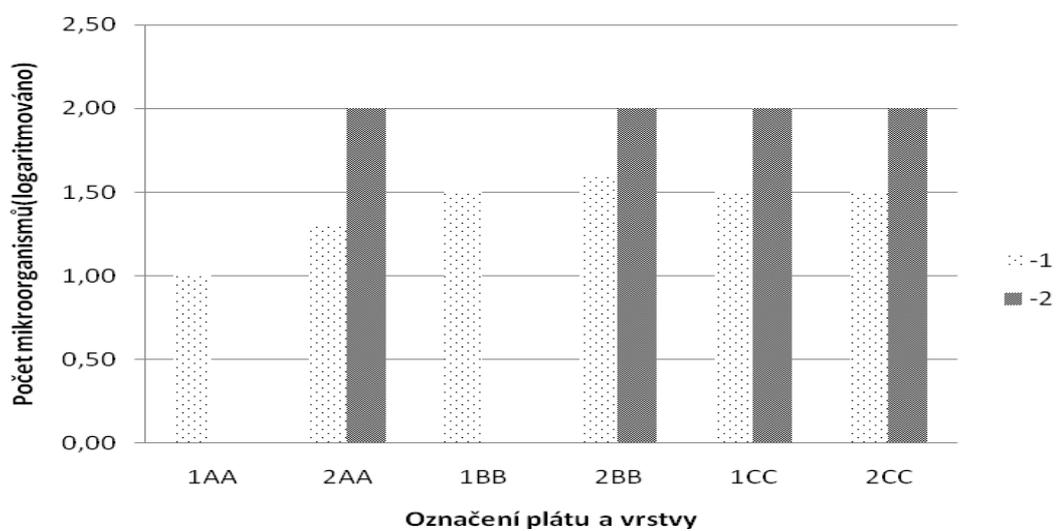
7.4.1 Aerobní sporulující mikroorganismy

Při mikrobiálním rozboru bylo zjištěno, že sýr zrající ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ obsahuje vyšší počty aerobních mikroorganismů než sýr zrající ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. V ředění 10^{-1} je vyšší počet aerobních mikroorganismů ve vzorku

1A,2A,1B a 2C a při ředění 10^{-2} je vyšší počet u 1C. V ředění 10^{-1} je vyšší počet aerobních mikroorganismů u sýra zrajícího při vyšší teplotě pouze u 1BB.



Obrázek 15: Graf stanovení aerobních sporulujících mikroorganismů v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepe při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$



Obrázek 16: Graf stanovení aerobních sporulujících mikroorganismů v sýru eidamského typu zrajících ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$



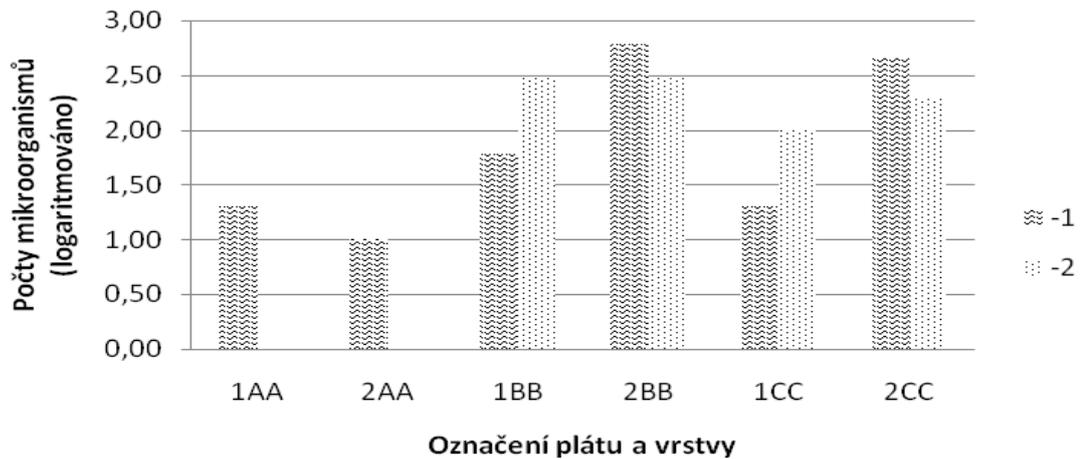
Obrázek 17: Graf porovnávající stanovení aerobních sporulujících mikroorganismů v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ a „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$

7.4.2 Anaerobní sporulující mikroorganismy

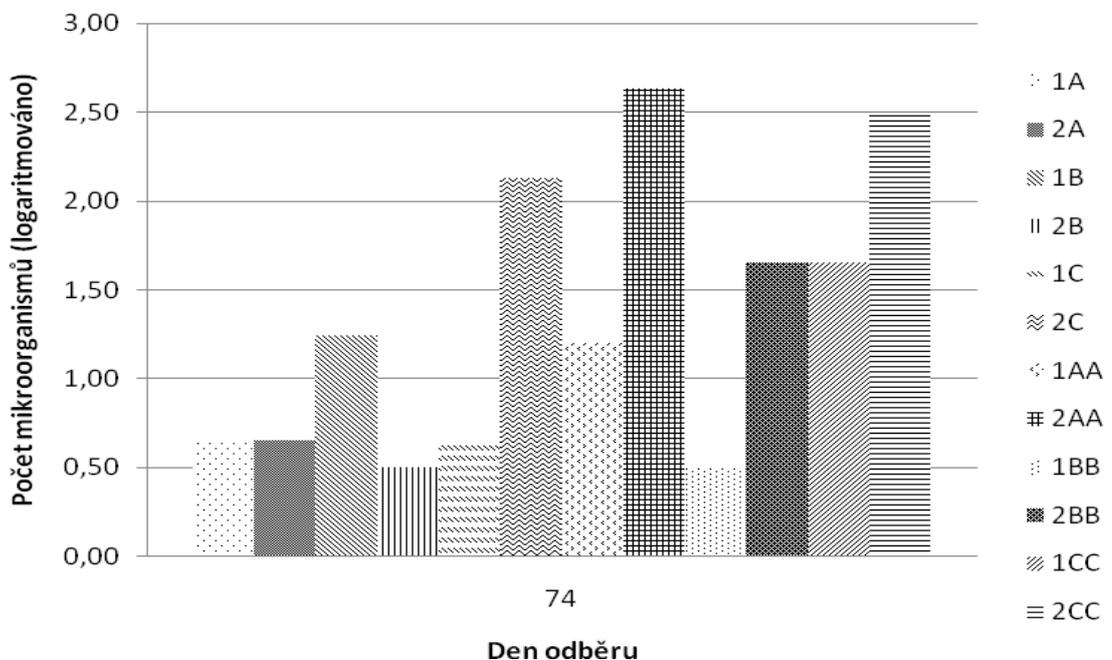
Stanovením anaerobních mikroorganismů bylo zjištěno, že u sýra zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ jsou v ředění 10^{-1} i 10^{-2} vyšší hodnoty u vzorku 1BB, 2BB, 1CC, 2CC. A vyšší hodnota byla také stanovena u sýra zrajícího ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ to v 2A.



Obrázek 18: Graf stanovení anaerobních sporulujících mikroorganismů v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepi při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$



Obrázek 19: Graf stanovení anaerobních sporulujících mikroorganismů v sýru eidamského typu zrajících ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$



Obrázek 20: Graf porovnávající stanovení anaerobních sporulujících mikroorganismů v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepi při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ a „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$

7.4.3 Stanovení enterokoků

Mikrobiální rozbor ukázal, že v sýru zrajícího ve zracím sklepe při teplotě 10 ± 2 °C nebyly stanoveny žádné enterokoky. U sýra zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C byla prokázána přítomnost pouze v 1CC, avšak v 10^{-1} i v 10^{-2} ředění.

8 DISKUZE

Stanovením počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů byly v prvních 14. dnech zjištěny vyšší počty mikroorganismů u sýra zrající ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C a to ve všech vrstvách i plátech. V následujících dnech je však nárůst mikroorganismů pozorován u sýra zrající ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C a opět ve všech vrstvách i plátech.

Při teplotě 16 ± 1 °C mikroorganismy rychleji rostou v porovnání s teplotou 10 ± 2 °C, ale také dochází k rychlejší lýzi buněk, proto dochází v prvních 14. dnech k nárůstu mikroorganismů u vzorku sýra zrajícím ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C a následnému poklesu.

Od počátku zrání jsou počty mléčných bakterií stanovených na živnou půdu M17 vyšší u sýra zrajícího při vyšší teplotě (16 ± 1 °C) v porovnání se sýrem zrajícím ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C a to ve všech vrstvách i plátech. Po prvních 28 dnech zrání rozdíl v počtech mikroorganismů nebyl nijak velký, avšak 56. a 74. den byly rozdíly poněkud větší. Počty mléčných bakterií stanovených pomocí živné půdy MRS byly opět vyšší u sýra zrajícího při vyšší teplotě (16 ± 1 °C) než u sýra zrající ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C ve všech vrstvách i plátech. Porovnáme-li počty mikroorganismů stanovených na živnou půdu M17 a MRS, tak počty mikroorganismů na živné půdě M17 jsou značně vyšší.

Živná půda M17 se většinou používá ke stanovení mléčných koků a půda MRS ke stanovení mléčných tyčinek.[20] Při výrobě sýrů z nízkodohřívané sýřeniny se jako základní (primární) klutura používá tzv. smetanový zákys obsahující zejména koky, dípkoky a řetízky. Bakterie rodu *Lactobacillus* zřejmě pochází z prostředí, jako nezákysová kultura. Bakterie po morfologické stránce tvoří tyčinky. Množství přidané primární kultury je 1 - 2% a obsah nezákysové kultury je v podstatě nižší.[3,14] Z toho vyplývá skutečnost větších počtů mikroorganismů na živné půdě M17.

Počty koliformních bakterií jsou vyšší u sýra zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C ve všech vrstvách i plátech než u sýra zrajícím ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C. Avšak u jednoho vzorku byl pozorován pokles, což jsou ale stále vyšší hodnoty než u sýra zrající při teplotě 10 ± 2 °C.

Koliformní bakterie patří do čeledi *Enterobacteriaceae*. Obsah koliformních bakterií v potravinách slouží jako indikátor dodržení technologických postupů při jejich získání,

zpracování, chlazení a správné hygieny a sanitace. Jsou G^- fakultativně anaerobní nebo aerobní tyčinky. Fermentují laktózu za tvorby plynu, a tudíž mohou být příčinou tzv. skorého duření u tvrdých sýrů. [14,19] Viditelné projevy skorého duření se ani u jednoho ze sledovaných sýrů neprojeví. Kontaminace koliformními bakteriemi může pocházet z prostředí.

V 74. den zrání byly stanoveny také aerobní a anaerobní sporulující mikroorganismy a enterokoky z důvodu nafouknutí sýra zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C. V analyzovaném vzorku sýra byly zřetelné dutinky a trhlinky na řezu, a také byl mazlavý. Z důvodu porovnání výsledků byl mikrobiální rozbor proveden i u sýra zrajícího ve zracím sklepe při teplotě 10 ± 2 °C.

Byly prokázány vyšší počty aerobních sporulujících mikroorganismů u sýra zrajícího ve zracím sklepe při teplotě 10 ± 2 °C a to u čtyř vzorků. U sýra zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C byl prokázán vyšší počet aerobních sporulujících mikroorganismů pouze u dvou vzorků.

Počty anaerobních sporulujících mikroorganismů byly vyšší u sýra zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C a to u čtyř vzorků.

Sporotvorné mikroorganismy mají vysokou rezistenci, jejich spóry přežívají i teplotu 100 °C. Sporotvorné mikroorganismy můžeme rozdělit vzhledem ke vztahu ke kyslíku na aerobní popř. fakultativně anaerobní (příkladem může být rod *Bacillus*) a anaerobní až aertolerantní (příkladem může být rod *Clostridium*). Rod *Bacillus* je G^+ , většinou tvoří delší tyčinky, štěpí bílkoviny a metabolizuje aminokyseliny za tvorby amoniaku. Sacharidy fermentuje s výraznou tvorbou kyselin a plynu. Přítomnost aerobních sporulujících bakterií indikuje primární či sekundární kontaminaci surovin, potravin nebo předmětů, které byly v kontaktu s danou surovinou. Většina je silně proteolytická. Rod *Clostridium* fermentuje sacharidy za tvorby kyseliny máselné, octové, oxidu uhličitého, vodíku. Bílkoviny rozkládá za vzniku hnilobných produktů, jako je sirovodík či amoniak. Jsou producenty velkého množství plynů, a proto jsou častou příčinou tzv. pozdního duření.[14,19]

Mikrobiálním rozbohem se v sýru zrajícím ve zracím sklepe při teplotě 10 ± 2 °C nepotvrdil výskyt enterokoků. Přítomnost byla prokázána u sýru zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C pouze u jednoho vzorku.

Enterokoky jsou G^+ bakterie vyskytující se ve střevním traktu člověka, některých zvířat či hmyzu. Některé kmeny jsou však patogenní. Enterokoky jsou považovány za indikátory fekálního znečištění pitých vod a úrovně sanitace mlékárenských provozů. Intenzivně fermentují sacharidy, což může být příčinou nežádoucích sensorických vlastností potravin. Enterokoky mají také vyšší termorezistenci vůči fyzikálním a chemickým vlivům.[14,19] Přítomnost enterokoků může signalizovat pravděpodobnou kontaminaci z prostředí (enterokoky jsou častou součástí nezákysvých kultur) nebo se může jednat o kontaminaci způsobenou během balení sýrů.[14]

9 ZÁVĚR

V průběhu 74. dní zrání sýru eidamského typu byl sledován vliv zvýšené teploty (16 ± 1 °C) na vybrané skupiny mikroorganismů (mezofilní aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy, mléčné bakterie, koliformní bakterie) a následně porovnán se sýrem, který zrál ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C. Byly zjištěny následující výsledky:

- Byly prokázány vyšší počty celkových počtů mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů u sýru zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C, ale pouze v prvních 14. dnech zrání. Během následujících dní zrání však vyšší počty mikroorganismů byly stanoveny u sýru zrajícího ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C.
- Od počátku zrání jsou počty mléčných bakterií stanovených na živnou půdu M17 u sýra zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C vyšší než u sýra zrajícího ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C.
- Za použití živné půdy MRS jsou počty mléčných mikroorganismů větší u sýra zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C než u sýru zrajícího ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C.
- Počty koliformních bakterií jsou u sýra zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C značně vyšší než u sýru zrajícího ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C. Avšak u sýra zrajícího při vyšší teplotě nastává u dvou vzorků mírný pokles počtu mikroorganismů, což jsou ale stále vyšší hodnoty než u sýra zrajícího ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C.
- Dále bylo zjištěno, že sýr zrající ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C má vyšší počty aerobních sporulujících mikroorganismů u dvou vzorků z šesti v porovnání se vzorkem sýra zrajícího při teplotě 10 ± 2 °C.
- Stanovením anaerobních sporulujících mikroorganismů bylo zjištěno, že u sýra zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C jsou vyšší hodnoty mikroorganismů u pěti vzorků. U jednoho vzorku je však hodnota nižší v porovnání se vzorkem sýra zrajícího při teplotě 10 ± 2 °C.

- Přítomnost enterokoků byla prokázána u sýra zrajícího ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C pouze u jednoho vzorku. Sýr zrající ve zracím sklepe při teplotě 10 ± 2 °C byl na přítomnost enterokoků negativní.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KADLEC, Pavel; MELZOCH, Karel; VOLDRICH, Michal. *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze : Co byste měli vědět o výrobě potravin?*. [s.l.] : KEY Publishing s.r.o, 2010. 536 s.
- [2] ZIMÁK, Emil. *Technologie pro 4.ročník SPŠ*. Praha : SNTL, 1988. 361 s.
- [3] *Cepac* [online]. 2007 [cit. 2011-05-23]. Mlékárenská technologie I., distanční text. Dostupné z WWW: <<http://utb.cepac.cz>>.
- [4] HUI, I.H. *Dairy science and technology handbook, volumes 1-3*. [s.l.] : John Wiley and sons, 1993. 1304 s.
- [5] F., Patrick; O., Timothy. *Foundamentals of cheese science*. [s.l.] : Springer - verlag, 2000. 638 s.
- [6] F., Patrick; L.H, Paul. *Cheese - Chemistry, physic and microbiology (3rd Edition)*. [s.l.] : Elsevier, 2004. 466 s.
- [7] *Ottova encyklopedie A-Ž*. Praha : Ottovo nakaldatelství, 2004. 1144 s.
- [8] HOZA, Ignác; KRAMÁŘOVÁ, Daniela . *Potravinářská biochemie II.* : Fakulta technologická. UTB - Zlín : [s.n.], 2008. 167 s.
- [9] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin II.. VŠCHT - Praha* : [s.n.], 2002. 236 s.
- [10] GAJDŮŠEK, Stanislav. *Mlékařství II.* : Mendlova zemědělská a lesnická univerzita. Brno : [s.n.], 2002. 142 s.
- [11] GAJDŮŠEK, Stanislav. *Laktologie* : Mendlova zemědělská a lesnická univerzita. Brno : [s.n.], 2003. 84 s.
- [12] DĚDEK, Miroslav; BENEŠOVÁ, Luisa . *Mikroorganismy a čisté kultury v průmyslu potravin*. Praha : [s.n.], 1984. 219 s.
- [13] VRANÍK, Emil. *Stroje a zařízení : pro 3.ročník SPŠM*. Praha : SNTL, 1981. 159 s.
- [14] *Potravinářská mikrobiologie I.* : Distanční text. [s.l.] : [s.n.], 2007. 107 s. Dostupné z WWW: <<http://utb.cepac.cz>>.
- [15] M., James. *Moder food microbiology (6th edition)*. [s.l.] : Springer - Verlag, 2000. 767 s.

- [16] P., Noble; H., Elmer. *Foundamentals of dairy chemistry (3rd Edition)* . [s.l.] : Springer - Verlag, 1999. 779 s.
- [17] C., Ramesh ; P., Nagendra . *Dairy Processing and Quality Assurance*. [s.l.] : John Wiley & Sons, 2008. 613 s.
- [18] *Vyhláška č. 77/2003* [online]. 2003 [cit. 2011-05-23]. Ministerstvo zemědělství. Dostupné z WWW: <www.eagri.cz>.
- [19] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila . *Mikrobiologické zkoumání potravin : Vysoká škola chemicko - technologická*. Praha : [s.n.], 1987. 104 s.
- [20] ČERNÍKOVÁ, Michaela; VAŇÁTKOVÁ, Zuzana. *Praktická cvičení z potravinářské mikrobiologie*. UTB-Zlín : [s.n.], 2010. 134 s.
- [21] URDYCHOVÁ, Radka; SLÁDKOVÁ, Pavla. *Mikrobiologická analýza potravin*. Mendlova zemědělská a lesnická universita v Brně : [s.n.], 2007. 218 s.
- [22] *Hi Media* [online]. 2010 [cit. 2011-05-23]. HiMedia Laboratories. Dostupné z WWW: <www.himedia.cz/index.php>.
- [23] MAROUNEK, Milan; BŘEZINA, Pavel; ŠIMŮNEK, Jan. *Fyziologie a hygiena výživy : Vysoká vojenská škola pozemního vojska ve Vyškově*. Vyškov : [s.n.], 2003. 145 s.
- [24] J., Frederick. *Wiley Encyclopedia of Food Science and Technology (2nd Edition) Volumes 1-4*. [s.l.] : John Wiley & Sons, 1999. 2816 s.
- [25] C., Bart. *Improving the Flavour of Cheese*. [s.l.] : Woodhead Publishing, 2009. 620 s.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PCA Plate Count Agar

RCA Reinforced Clostridial Agar.

MRS De Man Rogosa Sharpe Agar

EA .Endův agar

CPM Celkové počty mikroorganismů

SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|--|----|
| Obrázek 1: Znázornění odebrání plátu..... | 31 |
| Obrázek 2: Znázornění odebrání vrstev..... | 32 |
| Obrázek 3: Celkové počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů zrajících v sýrech eidamského typu ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ | 35 |
| Obrázek 4: Graf celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů zrajících v sýru eidamského typu ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ | 36 |
| Obrázek 5: Graf porovnávací celkové počty mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů zrajících v sýru eidamského typu ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ a „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ | 36 |
| Obrázek 6:Graf stanovení mléčných bakterií zrajících v sýru eidamského typu ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ | 37 |
| Obrázek 7: Graf stanovení mléčných bakterií v sýru eidamského typu zrajících ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ | 38 |
| Obrázek 8: Graf porovnávací stanovení mléčných bakterií v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ a „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ | 38 |
| Obrázek 9:Graf stanovení mléčných bakterií zrajících v sýru eidamského typu ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ | 39 |
| Obrázek 10: Graf stanovení mléčných bakterií v sýru eidamského typu zrajících ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ | 39 |
| Obrázek 11: Graf porovnávací stanovení mléčných bakterií v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ a „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ | 40 |
| Obrázek 12:Graf stanovení koliformních bakterií zrajících v sýru eidamského typu ve zracím sklepě při teplotě $10 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ | 41 |
| Obrázek 13: Graf stanovení koliformních bakterií v sýru eidamského typu zrajících ve „zrací komoře“ při teplotě $16 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ | 41 |

| | |
|--|----|
| Obrázek 14: Graf porovnávací stanovení koliformních bakterií v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C a „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C..... | 42 |
| Obrázek 15: Graf stanovení aerobních sporulujících mikroorganismů v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C..... | 43 |
| Obrázek 16: Graf stanovení aerobních sporulujících mikroorganismů v sýru eidamského typu zrajících ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C | 43 |
| Obrázek 17: Graf porovnávací stanovení aerobních sporulujících mikroorganismů v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C a „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C | 44 |
| Obrázek 18: Graf stanovení anaerobních sporulujících mikroorganismů v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C..... | 45 |
| Obrázek 19: Graf stanovení anaerobních sporulujících mikroorganismů v sýru eidamského typu zrajících ve „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C | 45 |
| Obrázek 20: Graf porovnávací stanovení anaerobních sporulujících mikroorganismů v sýru eidamského typu zrajících ve zracím sklepě při teplotě 10 ± 2 °C a „zrací komoře“ při teplotě 16 ± 1 °C | 45 |

SEZNAM TABULEK

| | |
|--|----|
| Tabulka 1: Klasifikace přírodních sýrů podle konzistence ve vztahu k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra [16] | 25 |
|--|----|

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha I: Obecné schéma výroby sýrů z nízkodohřívané sýřeniny

PŘÍLOHA I: SCHÉMA VÝROBY SÝRU EIDAMSKÉHO TYPU [1]

