

# Vliv technologie výroby na mikrobiologickou jakost chleba

Helena Valentová

---

Bakalářská práce  
2019

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2018/2019

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Helena Valentová**

Osobní číslo: **T15085**

Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Vliv technologie výroby na mikrobiologickou jakost chleba**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Suroviny pro výroba chleba.
2. Technologie výroby chleba.
3. Chléb v lidské výživě.
4. Mikrobiologická laboratoř HACCP.

### II. Praktická část

1. Vybrané druhy mikrobiologických porovnávání.
2. Kyselost a pH vybraných druhů chleba.
3. Zpracování naměřených dat.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] Pekařská technologie. Praha: Odborné nakladatelství a vydavatelství Pekař a cukrář, 2013. Knižnice Pekaře a cukráře. ISBN 978-80-903913-7-6.

[2] ŠEDIVÝ, Petr a Jaroslav ALBRECHT. Pekařská technologie. Praha: Odborné nakladatelství a vydavatelství Pekař a cukrář, 2014. Knižnice Pekaře a cukráře. ISBN 978-80-905481-0-7.

[3] SPRENGER, Richard A. Hygiena potravin pro středně pokročilé: písemný materiál určený ke školení a jako příručka pro mistry a střední management. 4th ed. Doncaster: Highfield, 2003. ISBN 1-904544-19-3.

[4] KOMPRDA, Tomáš. Obecná hygiena potravin. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2004. ISBN 978-80- 7157-757-7.

[5] Obiloviny v lidské výživě. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, 2015-. Publikace České technologické platformy pro potraviny. ISBN 978-80-88019-16-9.

[6] Databáze Web of Science.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Pavel Pleva, PhD.**

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce: **2. února 2019**

Termín odevzdání bakalářské práce: **15. května 2019**

Ve Zlíně dne 2. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*

doc. Ing. Jiří Miček, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: .....

Obor: .....

## 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 <sup>1)</sup>;
- 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;
- byl/a jsem seznámen/a 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 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> 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 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít 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, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně .....

.....

---

<sup>1)</sup> 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.

<sup>2)</sup> 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).

<sup>3)</sup> 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**

Tato bakalářská práce se zabývá porovnáním mikrobiologických parametrů po dobu sedmi dnů po upečení u dvou pšenično-žitných chlebů vyrobených různou technologií. Vzorek A je chléb vyrobený tradiční metodou s použitím tří-stupňového žitného kvasu a vzorek B je vyroben moderní metodou s použitím koncentrovaného tekutého kvasu. Výsledky prokázaly, že u chleba vyrobeného tradiční technologií se plísně objevily až pátý den po upečení, zatímco u vzorku B vyrobeného moderní metodou byly plísně zjištěny už třetí den. Při měření pH a titrační kyselosti se prokázalo, že díky bakteriím mléčného kvašení z tradičního kvasu je vzorek A kyselejší než vzorek B, kde se tyto bakterie při výrobě nepoužívají. Závěrem lze říci, že díky nižšímu pH je chléb vyrobený tradiční metodou po mikrobiologické stránce stabilnější, než chléb vyrobený bez tradičního kvasu.

Klíčová slova: chléb, mikroorganismy, bakterie mléčného kvašení, kvas

## **ABSTRACT**

This bachelor thesis deals with the comparison of microbiological parameters for seven days after baking in two wheat-rye breads produced by different technology. Sample A is a bread made by the traditional method using a three-step rye ferment and Sample B is made by a modern method using concentrated liquid ferment. The results showed that in the traditional technology bread, moulds appeared only on the fifth day after baking, while on sample B produced by the modern method, moulds were detected on the third day. When measuring pH and titration acidity, it has been shown that due to lactic acid bacteria from traditional ferment, sample A is more acidic than sample B where these bacteria are not used in production. In conclusion, the lower pH makes the traditional method of microbiological bread more stable than bread made without traditional leaven.

Keywords: bread, microorganisms, lactic acid bacteria, leaven

Tímto bych ráda poděkovala vedoucímu své bakalářské práce panu Ing. Pavlu Plevovi, Ph.D. za jeho ochotu, odborné vedení práce a cenné rady při jejím zpracování.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

<b>ÚVOD .....</b>	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>11</b>
<b>1 PŠENIČNO-ŽITNÝ CHLÉB.....</b>	<b>12</b>
1.1 SLOŽENÍ.....	12
1.1.1 Chlebové mouky.....	13
1.1.2 Voda.....	16
1.1.3 Jedlá sůl s jódem.....	16
1.1.4 Droždí .....	17
1.1.5 Koncentrovaný tekutý kvas.....	17
1.2 JAKOST CHLEBA .....	17
1.2.1 Technologické vady chleba.....	18
1.2.2 Trvanlivost chleba .....	20
1.3 BALENÍ, OZNAČOVÁNÍ A VÝŽIVOVÉ ÚDAJE .....	20
<b>2 MIKROBIOLOGICKÁ BEZPEČNOST .....</b>	<b>23</b>
2.1 ALIMENTÁRNÍ NÁKAZY A JEJICH PREVENCE.....	24
2.2 HACCP A SPRÁVNÁ VÝROBNÍ A HYGIENICKÁ PRAXE.....	24
2.2.1 Systém DDD .....	25
2.2.2 HACCP .....	25
2.3 MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE .....	27
2.3.1 Kvasinky .....	27
2.3.2 Plísně (mikromycety).....	27
2.3.3 Bakterie .....	28
<b>3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ MIKROORGANISMY .....</b>	<b>30</b>
3.1 KONCENTRACE VODÍKOVÝCH IONTŮ- PH .....	31
3.2 SLOŽENÍ POTRAVINY .....	32
3.3 TEPLOTA PROSTŘEDÍ .....	32
3.4 VODNÍ AKTIVITA ( $A_w$ ).....	33
3.5 RELATIVNÍ VLHKOST PROSTŘEDÍ.....	34
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>35</b>
<b>4 CÍL PRÁCE.....</b>	<b>36</b>
<b>5 MATERIÁL A METODIKA .....</b>	<b>37</b>
5.1 METODY VÝROBY PŠENIČNO-ŽITNÉHO CHLEBA .....	37
5.1.1 Postup výroby tří-stupňového žitného kvasu .....	37
5.1.2 Postup výroby koncentrovaného tekutého kvasu .....	39
5.1.3 Technologický postup výroby chleba .....	39
5.2 POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....	40
5.3 METODIKA.....	41
5.3.1 Postup při přípravě pūd.....	41



5.3.2	Postup při desítkovém ředění .....	41
5.3.3	Postup při inokulaci a kultivaci .....	41
5.3.4	Postup při měření pH a titrační kyselosti .....	42
<b>6</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUSE.....</b>	<b>43</b>
6.1	MIKROBIOLOGICKÁ ANALÝZA VÝROBNÍCH SUROVIN .....	43
6.2	MIKROBIOLOGICKÁ ANALÝZA CHLEBA.....	45
6.3	ANALÝZA PH A TITRAČNÍ KYSELOST .....	47
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>49</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>50</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>56</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK .....</b>	<b>57</b>

## ÚVOD

Chléb patří převážně v českých domácnostech mezi základní potraviny každodenní spotřeby. Má univerzální použití, a to jak ke snídani, k obědu i večeři, tak na sladko, či se solí. Ovšem neníchléb jakochléb. V dnešní době se stále více upouští od tradiční tří-stupňové metody výroby chleba. Při této metodě výroby s použitím tradičního kvasu s bakteriemi mléčného kvašení se používají pouze základní suroviny jako voda, žitná a pšeničná mouka a koření. Tato technologie je časově náročnější, což dnešní uspěchané moderní době nevyhovuje.

Moderní technologie výroby chleba zahrnuje krok, při kterém jsou do chlebového těsta kyseliny „uměle“ dodány, tudíž se výroba zkrátí o čas potřebný k pomnožení mikroorganismů a produkci dostatečného množství kyselin.

V této bakalářské práci budou porovnávány oba výše uvedené druhy pšenično-žitného chleba po mikrobiologické stránce. Navíc budou mikrobiologicky analyzovány také veškeré výrobní suroviny.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 PŠENIČNO-ŽITNÝ CHLÉB

Pšenično-žitný chléb, který je dle komoditní vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 333/1997 Sb. vze znění pozdějších předpisů specifikován jako pekařský výrobek, v jehož těstě musí být podíl pšeničných mlýnských výrobků nejméně 50 % a žitných mlýnských výrobků vyšší než 10 % z celkové hmotnosti mlýnských výrobků [1].

Chléb se prolíná celou lidskou kulturou jako prastará, nepostradatelná, legendami opředená potravinu. Vyskytuje se od nejstarších písemností přes pohádky, rčení, písně, přísloví a pořekadla [2]. Také patří mezi základní potraviny ve výživě člověka, a to již po tisíciletí. Většina historiků se shoduje na tom, že první chléb z kynutého těsta byl upečen již před více než 6000 lety, a to ve starém Egyptě. Chlebové placky z nekynutého těsta jsou však ještě mnohem starší [3].

Výroba chleba za použití kvasu je známá ze všech koutů světa. Jedním příkladem je tzv. chléb injera z Etiopie, který je vyroben zamícháním tefové mouky s vodou a naočkován přídatkem starého kvásku a zanechán v lahvi při 18-21°C 2-4 dny, přičemž pH klesne z 6,7 na 4,0. Při fermentaci tefového a žitného kvasu se bakterie *Lactobacillus plantarum* vyskytují ve vysokých počtech [4].

### 1.1 Složení

Suroviny nejen pro výrobu chleba, ale obecně pro potravinářské výrobky, se musí nakupovat od schválených výrobců a dle jejich specifikací je tvořeno složení. Z toho důvodu nelze často měnit dodavatele, jelikož složení jednotlivých surovin se může lišit a nesouhlasilo by se složením na etiketě či obalu. Měnit dodavatele je možné pouze za předpokladu, že se složení nakupované suroviny promítne do složení výrobku. Ovšem tento krok je finančně náročný, jelikož se musí nechat vyrobit nové obaly či etikety [5].

Jelikož správné vedení většiny vitálních žitných kvasů, je časově velice náročné a vyžaduje i potřebnou odbornost personálu, použití zakyselujících přípravků v kombinaci s pekařským droždím tyto nevýhody řeší a výrobu chleba dosti zjednoduší a urychlí. Jedná se o koncentrovaný tekutý kvas s fermentačně vyrobenými kyselinami mléčnou a octovou, kdy je dávkování 1 - 6 % na celkové množství mouky nebo 5 - 7 % na použitou žitnou mouku [6, 7]. Díky těmto krokům se mění sensorické vlastnosti chleba oproti chlebu vyrobenému z 3. stupňového kvasu. Tato technologie výroby zaručuje standardní a jakostní produkt ve vztahu k preferencím spotřebitele [7].

Důležitou součástí složení chleba vyrobeného tří-stupňovou metodou vedení kvasu jsou bakterie mléčného kvašení, které díky produkci kyseliny mléčné a octové snižují pH a tím dochází k inhibici nežádoucí mikroflóry a prodlužuje se jeho trvanlivost. Kromě vlivu na pH dávají bakterie mléčného kvašení spolu s kvasinkami chlebu i typické aroma a mají vliv při kynutí [4]. Do chleba vyrobeného s použitím koncentrovaného tekutého kvasu, jsou kyseliny mléčná a octová technologicky přidány [5].

Mezi bakterie mléčného kvašení patří převážně bakterie rodu *Lactobacillus*, které potřebují jako zdroj energie a uhlíku sacharidy, tudíž je jejich metabolismus fermentativní. Kromě sacharidů, potřebují pro svůj růst i další látky jako aminokyseliny, mastné kyseliny či vitamíny. Laktobacily obecně patří mezi fakultativně anaerobní mikroorganismy. Typickým znakem pro tyto bakterie je jejich schopnost přežít při nízkém pH [8]. Mezi zástupce tohoto rodu patří především *Lactobacillus sanfranciscensis*, který se nachází pouze v kvasech a produkuje vysoké množství kyseliny mléčné a octové a tím okyseluje chlebové těsto. Dalším zástupcem je *Lactobacillus reuteri*, který má například vysokou antimikrobiální funkci [9].

### 1.1.1 Chlebové mouky

Při výrobě chlebových těst se v České republice používají především pšeničné a žitné mouky. Mouka má v chlebu primární zastoupení, tudíž je třeba dbát na její kvalitu, kterou upravují ČSN řady 461100 [9].

Pro zlepšení pekařských vlastností mouk se využívá v množství 10-100 mg/kg kyselina askorbová [10]. Kyselina askorbová nese označení E300 a spadá do skupiny antioxidantů, což jsou látky, které prodlužují trvanlivost potravin a chrání je proti zkáze způsobené oxidací vzdušným kyslíkem [11].

Pšeničná mouka v porovnání s moukou žitnou má zastoupení hlavních složek v jiném poměru, jak ukazuje Tabulka 1 (Tab. 1).

Tab. 1. Základní procentuální zastoupení nejdůležitějších složek v sušině mouky [5].

Složka	Pšeničná mouka (%)	Žitná mouka (%)
Škrob	75,0 – 79,0	69,0-81,0
Bílkoviny	10,0-12,0	8,0-10,0
Tuky	1,1-1,9	0,7-1,4
Zkvasitelné cukry	2,0-5,0	5,0-8,0
Vláknina (celulóza)	0,1-1,0	0,1-0,9
Slizy	2,5-3,4	3,5-5,2
Popeloviny	0,4-1,7	0,5-1,7

Pšeničná mouka má méně zkvasitelných cukrů a také enzymů. Žitný škrob naopak lépe bobtná, má více amylopektinu a méně amylozy, která způsobuje tvrdnutí chleba, díky zpětné retrogradaci. Co se týká sacharidů, tak žitná mouka má více zkvasitelných cukrů. Tyto cukry už není třeba do těsta dodávat.

Dále se tyto mouky liší i enzymovou aktivitou, která u žitné mouky bývá zpravidla vyšší. Do pšeničných těst je naopak nutné enzymy dodávat [12]. Enzymy jsou makromolekulární proteinové biokatalyzátory. Aktivita enzymů závisí na teplotě a kyselosti. V pekařské technologii jsou nejvýznamnější enzymy amylolytické a proteolytické [13].

Z amylolytických enzymů je nejdůležitější amyláza, kterou dělíme na  $\alpha$ -amylázu, která umožňuje štěpené škrobu na dextriny a  $\beta$ -amylázu odštěpující poslední dvě molekuly ze škrobu nebo dextrinů za vzniku maltózy. Pokud je v těstě nadbytek amylázy, dochází k roztékavosti pšeničných těst a u žitných mouk tvoří mazlavou střídu. Její malé množství je žádané, protože rozkladem škrobu na maltózu se urychluje zrání těst a kvasů [13, 14].

Proteolytické enzymy neboli proteázy jsou schopny rozštěpit bílkoviny mouky až na aminokyseliny. Pro pekařské účely má význam proteináza, která štěpí lepek pro strojové zpracování těsta. Ovšem její značné množství v mouce je v inaktivní formě, která je aktivována např. přídavkem droždí [15].

Pšenice je celosvětově nejvýznamnější obilovinou, která zajišťuje výživu populace [15]. Ve mlýnech se každý rok semele kolem 1,2 milionů tun potravinářské pšenice a vyrábí se z ní například chlebová mouka T1050, která je dodávána do pekáren na výrobu chleba [5].

Nejvíce zastoupenou látkou v pšeničné mouce je škrob, který se skládá z amylozy a amylopektinu. Hydrolýza škrobu je důležitý proces probíhající vlivem enzymů amyláz, které vyvolávají jeho hydrolýzu. Hydrolýzou polysacharidů  $\alpha$ -amylasou vznikají rozpustné škroby,  $\beta$ -amylasa je enzym zcukřující. Dále jsou zastoupeny pšeničné bílkoviny, které jako jediné vytváří s vodou pružný gel tzv. lepek, který určuje jakost pečiva [16, 17].

Hlavními složkami lepku jsou bílkoviny gliadin a glutenin. Kritériem pekařské jakosti mouky se v praxi stanovuje a posuzuje pružnost, tažnost a bobtnavost lepku. Denaturace lepku začíná již při teplotě 60 °C. Při záhřevu na 70 °C se sníží rozpustnost všech lepkových frakcí. Lepek vytváří konstituci těsta tím, že vytváří trojrozměrnou síť peptidických řetězců, které jsou propojeny především disulfidickými můstky mezi jednotlivými vazbami aminokyselin [16, 17].

K výrobě chleba se používá žitná hladká tmavá chlebová mouka T930 [5]. Žito obsahuje kromě nerozpustné vlákniny i rozpustnou vlákninu, která je tvořena arabinoxylany, které ovlivňují výživovou hodnotu potraviny, technologickou kvalitu a vykazují pozitivní zdravotní účinky po konzumaci pekařských výrobků s žitnou moukou, jako jsou např. ovlivnění viskozity střevního obsahu, snížení zvýšené hladiny glukózy v krvi [16]. Dále konzumace potravin s vysokým obsahem nerozpustné žitné vlákniny může pomoci ženám vyhnout se např. žlučovým kamenům [18].

Slizy žitné mouky tvoří při vyšších koncentracích nepružný gel. V této formě se vyskytují v těstě a ovlivňují zásadním způsobem reologické vlastnosti žitného chlebového těsta [12]. Tyto slizy jsou označovány jako pentosany a jsou to vysokomolekulární polysacharidy smíšeného typu [16].

Na rozdíl od pšeničné mouky, kde se albuminy a globuliny vyskytují v nepatrném množství a nemají praktický význam, v mouce žitné naopak tvoří asi polovinu všech bílkovin. V těstě se rozpouštějí na koloidní roztoky, takže žitné těsto je ve srovnání s pšeničným méně pružné a tažné. Lepkové bílkoviny se v žitné mouce vyskytují méně než v pšeničné, a nemohou vytvořit v těstě souvislou zbobtnanou síťovinu jako pšeničný lepek, protože ihned po zadělání těsta vzniká komplex bílkovin se slizy [19].

### 1.1.2 Voda

V potravinářském průmyslu jsou kladeny vysoké požadavky na kvalitu vody, a to především z mikrobiologického hlediska [10]. Pitná voda musí mít takové fyzikálně-chemické vlastnosti, které nepředstavují ohrožení veřejného zdraví. Pitná a teplá voda nesmí obsahovat mikroorganismy, parazity a látky jakéhokoliv druhu v počtu nebo koncentraci, které by mohly ohrozit veřejné zdraví [20].

Hlavní funkcí vody v pekařské výrobě je to, že spojuje suroviny a vytváří spolu s moukou těsto, dále je používána do kvasů a k výrobě páry při pečení. U pitné vody přidávané do těst sledujeme např. tvrdost vody, která má také vliv na vlastnosti těsta. Tvrdá voda brzdí činnost enzymů a zpomaluje kvašení. Naopak měkká voda kvašení urychluje a těsta jsou poté lepkaější. Také kyselejší voda způsobuje, že jsou těsta více roztékavá, upečená střída je málo pružná s nestejnými póry a výrobek je celkově nižší a nevybarvený. Opakem je voda zásaditější, kdy je rovnoměrnější pórovitost a lepší zbarvení kůrky [5].

Z mikrobiologického pohledu souvisí voda v potravinách s odolností vůči mikroorganismům. Vázaná voda je pro mikroorganismy méně dostupná než voda volná. Mírou této dostupnosti je aktivita vody označená jako  $a_w$ , která se pohybuje v rozmezí od 0-1. Potraviny s nízkou vodní aktivitou ( $a_w < 0,60$ ) mají málo dostupné vody a většina mikroorganismů zde není schopna rozmnožování. Potraviny s hodnotami  $a_w > 90$  (např. chléb s hodnotou 0,97) mají vodu dostupnější nejen pro plísně a kvasinky, ale také pro bakterie [21, 5].

### 1.1.3 Jedlá sůl s jódem

Minimálně z 97 % se jedná o chlorid sodný v sušině, který je obohacen o jód (jodid draselný 25mg/kg± 10mg/kg). V potravinách je sůl nepostradatelná, ovšem při její konzumaci by se neměl překračovat doporučený denní příjem veškeré jedlé soli, který je maximálně 6-8g [13]. Ovšem průměrná denní spotřeba v České republice se pohybuje okolo 15 g na osobu a den. Při nadměrné konzumaci soli hrozí zvýšené riziko např. srdečního selhání, vysokého krevního tlaku či problémy se zadržováním vody v těle [22].

Sůl jako taková se běžně nepřidává do těsta ani kvasných postupů, ale používá se tzv. pravý roztok neboli solanka. Toto použití také souvisí s tím, že sůl nesmí přijít do kontaktu s droždím, jelikož vysoký osmotický tlak kvasinky ztekucuje a inaktivuje. Při dávkování soli do těsta je nutné dodržet recepturu a myslet na to, že čím vyšší dávka soli, tím se zvyšuje osmotický tlak a prodlužuje doba kynutí [13].



### 1.1.4 Droždí

Droždím se rozumí kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* Hansen získané biotechnologickým postupem množení čistých kvasinkových kultur vypěstovaných na cukerných substrátech obohacených živinami, stimulatory a pomocnými látkami [23]. Jedná se o jednobuněčné eukaryotní organismy spadající do říše hub (*Fungi*). Jejich název je odvozen od schopnosti štěpit sacharidy [24]. Právě tyto kvasinky plní nezastupitelnou roli při pečení chleba. Jsou totiž výjimečné tím, že dokáží přeměňovat přirozené cukry přítomné v mouce na alkohol, který se při pečení odpaří a na oxid uhličitý. A právě tvorba oxidu uhličitého dodává pečivu objem [25]. Droždí se používá buď čerstvé lisované, které má krátkou dobu trvanlivosti nebo sušené s podstatně delší trvanlivostí [15].

Kulturní kvasinky obsažené v droždí mají 2x delší generační dobu (4 hodiny) než kvasinky (divoké) které najdeme v chlebových kvasech, přesto mají daleko větší fermentační schopnost [5].

Kvašení může probíhat jak v aerobních tak v anaerobních podmínkách, ovšem při nízkých koncentracích kyslíku kvasinky vytváří více etanolu a oxidu uhličitého. Jedná se tedy o enzymatický rozklad sacharidů za vzniku etanolu, oxidu uhličitého a energie dle rovnice



Kromě výše uvedených produktů vznikají v menší míře i další složky jako aldehydy, ketony, alkoholy a jiné karboxylové sloučeniny, které významně přispívají k rozvoji vůně a chuti [13].

### 1.1.5 Koncentrovaný tekutý kvas

Jedná se o koncentrovaný tekutý kvas s fermentačně vyrobenými kyselinami mléčnou a octovou, kdy je dávkování 1 - 6 % na celkové množství mouky nebo 5 - 7 % na použitou žitnou mouku [6, 7]. Díky těmto krokům se mění sensorické vlastnosti chleba. Tato technologie výroby zaručuje standardní a jakostní produkt ve vztahu k preferencím spotřebitele [7].

## 1.2 Jakost chleba

Senzorická analýza je analytická metoda, při které se využívá pouze lidských smyslů a patří mezi základní kontrolní metody k posouzení kvality potravin. Do sensorické analýzy

spadá hodnocení chuti, vzhledu, barvy, vůně a textury. Tyto vjemy dokáží být hodnoceny pouze lidskými smysly, ovšem i přesto se v dnešní době řada pracovišť snaží zavést do senzorycké analýzy i instrumentální metody. Ty sice vynikají rychlostí či možnostmi hodnocení většího počtu vzorků a tím nižšími náklady ovšem změří se pořád pouze fyzikální či chemické ukazatele, naopak senzoryckou analýzou se měří počítky, vyhodnocené centrální nervovou soustavou člověka [26].

Senzoryckou analýzu provádějí proškolení hodnotitelé. Jako jeden z hlavních parametrů se posuzuje chuť. Rozeznávají se 4 základní chutě a to kyselá, slaná, sladká a hořká. Každá chuť je rozeznatelná jinou částí jazyka: na špičce je sladká chuť, po bocích kyselá a slaná a u kořene jazyka je vnímána hořká chuť. Dále se hodnotí např. vůně, textura, vzhled chleba, kyselost a poměr kyseliny mléčné a octové. Poměr mezi kyselinami se porovnává s hodnotami tradičně vedeného vitálního třístupňového kvasu či jiného typu [27].

Potraviny se hodnotí za podmínek stanovených v normě ČSN EN ISO 8586 a dalších normách, které definují například způsob přípravy a podávání vzorku hodnotitelům, metodiky posuzování či vybavení místnosti [28]. Požadavky na jakost pekařských výrobků jsou dle komoditní vyhlášky ministerstva zemědělství č. 333/1997 Sb. které jsou uvedeny níže v Tabulce 2 (Tab. 2) [1].

Tab. 2. Příloha č. 9 k Vyhlášce č.333/1997 Sb. [1].

Sledovaný parametr	Hodnocení sledovaného parametru
Vzhled a tvar	pravidelně formovaný klenutý
Kůrka, povrch	čistá zlatohnědé barvy, bez zřetelně obnažených střídky
Střídka	dobře propečená, pórovitá, pružná, stejnorodá
Vůně a chuť	chlebová příjemná

### 1.2.1 Technologické vady chleba

Vady chleba mohou vzniknout z více důvodů. Těmi nejzásadnějšími může být:

- ✓ použití nekvalitních surovin

- ✓ odchýlení se od technologického postupu ve výrobě
- ✓ nesprávná funkce technologického zařízení (např. pečení) [7, 3]

Dále se vady mohou dělit podle:

✓ Vzhledu, tvaru a objemu

- Vysoký objem chleba je způsoben především příliš tuhým nebo příliš zakyseleným těstem. Také může být chyba ve vysoké teplotě v peci nebo nebyl chléb dostatečně nakynut [7, 28]
- Nízký chléb svědčí o tom, že bylo nejspíše vymícháno příliš volné těsto, nebo došlo k překynutí. Chyba může být i v nízké teplotě při pečení [7, 28]

✓ Kůrky

- Spálené puchýře a odfouklá kůrka. V tomto případě je potřeba si lépe hlídat kvas, neboť tato vada je často způsobena přezrálým kvasem, a s tím spojená i příliš kyselá a pro chléb netypická chuť a vůně.
- Trhliny po bočních stranách kůrky mohou být způsobeny např. při odsazování chlebových těstových kusů na pečnou plochu pece příliš blízko k sobě
- Trhliny na boční straně kůrky jsou způsobeny příliš teplým těstem či zaválením mouky do těsta. Je i možnost, že byla příliš nízká vlhkost v kynárně.
- Obnažená střídka se projeví především, když jsou chlebové těstové kusy odsazovány do pece nebo na plechy před kynutím příliš blízko od sebe
- Spálená svrchní kůrka má asi nejpravděpodobnější vznik dlouhou dobou pečení, ale může k tomu napomoci např. i příliš vysoký podíl kvasu v těstě
- Spálená spodní kůrka je způsobena příliš vysokou spodní teplotou v peci
- Příliš silná kůrka vznikne, pokud se nechají těstové kusy oschnout nebo se chléb peče dlouho při nízké teplotě
- Příliš slabá kůrka je zapříčiněna krátkou dobou pečení při vysoké teplotě
- Znečištění kůrky je následkem nedostatečné čistoty [7, 28]

✓ Střídy

- Malá pórovitost je způsobena tuhým těstem s krátkou dobou zrání těsta
- Nepřiměřená pórovitost vznikne, pokud je příliš teplé a volné těsto
- Odtržená střída od svrchní kůrky znamená nejspíše příliš vysoko enzymatickou aktivitu či nízké zakyselení těsta, opakem je vertikální trhlina

- Vlhký kruh uprostřed je způsobeno tuhým těstem a krátkým zráním těsta
  - Vlhký kruh pod nebo nad kůrkou vznikne, když je nízké zakyselení těsta
  - Nedostatečná elasticita je nedostatečné odtažení páry z pečeného prostoru
  - Netypická barva a pórovitost je při použití nechlebové mouky [7, 28]
- ✓ Chuti a vůně
- Nevýrazná chuť může být mj. způsobena nedostatečným prokvašením
  - Výrazně slaná až nahořklá chuť je způsobena větším přídatkem jedlé soli
  - Kyselá až hořká chuť může být způsobena zpracováním přezrálého kvasu
  - Nevýrazná vůně může být při nízkém zakyselení a krátké době zrání těsta
  - Kvasnicová vůně je znát, pokud je v těstě hodně droždí či dlouhá doba zrání
  - Ovocná a octová vůně je způsobena chybným vedením kvasu
  - Zatuchlá či cizí vůně je důsledkem použití nekvalitní mouky a surovin
  - Přearomatizovaná vůně je při vysoké dávce chlebového koření [7, 28]

### 1.2.2 Trvanlivost chleba

Trvanlivost chleba je vcelku nízká, jelikož má relativně vysokou vlhkost, a je tudíž náchylný k růstu plísní. Nebalený chléb stárne rychleji, jelikož i rychleji vysychá. V případě baleného chleba není vysychání tak rychlé a intenzivní. Chléb je balený do sáčků, které mají atesty na zdravotní nezávadnost [7].

Čerstvý chléb se projevuje křupavou kůrkou, která ovšem po určité době změkne, jelikož vlhkost ze střídy jde směrem ven a snaží se vyrovnat v celém výrobku. Také se po několika hodinách ztrácí typické aroma, jelikož u čerstvého výrobku jsou těkavé vonné látky především v kůrce a poté zčásti přecházejí do střídy a z části do vzduchu [29].

### 1.3 Balení, označování a výživové údaje

Pro balení se mohou používat pouze takové obaly, které potravinu chrání před jejím znehodnocením a znemožňují záměnu nebo změnu obsahu v zabaleném výrobku. Dále musí obaly odpovídat požadavkům na předměty a materiály určené ke styku s potravinami [30].

Před procesem balení je třeba nechat chléb vychládnout. Doporučuje se, aby teplota výrobku byla shodná s okolní teplotou, aby se chléb v obalu nezapařil, což by byla senzorická závada, ale také vhodné prostředí pro množení mikroorganismů [7].

Chléb je potravinou, která je uváděna na trh na území České republiky, tudíž je povinnost uvádět povinné informace o potravinách stanovené v právních předpisech v českém jazyce [30]. Uvádění těchto povinných informací ukládá Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 1169/2011. Tyto informace nesmějí být zavádějící či skryty za jiným textem nebo vyobrazením a musejí být jasné a spotřebitelům snadno srozumitelné. Povinná velikost písma je minimálně 1,2 mm (u etikety větší než 80 cm<sup>2</sup>) a 0,9 mm (u etikety menší než 80 cm<sup>2</sup>). Tato velikost je brána podle malého písmene x [31]. Seznam povinných informací na Obalu potravin je uveden v Tabulce 3 (Tab.3).

Tab. 3. Seznam povinných informací uváděných na obalu potravin [31].

<b>Povinně uváděné informace na obalech potravin</b>
Název potravin a zařazení do zákonné skupiny
Seznam složek
Alergeny
Množství určitých složek nebo skupin složek
Čisté množství potravin
Datum minimální trvanlivosti
Zvláštní podmínky uchování nebo podmínky použití
Jméno nebo obchodní název a adresu provozovatele potravinářského podniku, pod jehož jménem nebo obchodním názvem je potravinu uváděna na trh
Země původu nebo místo provenience
Výživové údaje

Názvem a zařazením do zákonné skupiny je chléb kmínový krájený, chléb pšenično-žitný.

Seznam složek na obalu je uváděn sestupně, tzn. od surovin, kterých je ve výrobku nejvíce po suroviny s nejmenším zastoupením. Složky tvořící méně než 2 % v konečném výrobku mohou být uvedeny v různém pořadí za ostatními složkami. Také je zakázáno používat ve složení potravin zkratky (např. pšen. mouka) [31].

Alergeny jsou látky bílkovinné povahy, které způsobují u přecitlivělých jedinců nepřiměřenou reakci imunitního systému. Tato reakce může skončit i smrtí. Alergie mohou vyvolat v podstatě všechny potraviny. V Evropě ovšem bylo stanoveno 14 základních potravinových alergenů, které jsou uvedeny v Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 1169/2011. Představují většinu potravinových rizik a z tohoto důvodu podléhají legislativnímu označování. V chlebu se můžeme setkat pouze s jednou skupinou alergenů a to obilovinami obsahující lepek a výrobky z nich (pšeničná mouka, žitná mouka a pšeničný škrob) [32]. Dobrovolné je upozornit na riziko nezáměrné kontaminace potraviny alergenní složkou a umožnit tak osobám s alergií nebo nesnášenlivostí informovaný výběr potravin a předcházení nežádoucím reakcím na potravinu (např. může obsahovat stopy mléka) [33]. Dále je vždy uváděno množství složky, pokud je dotčená složka nebo skupina složek uvedena v názvu potraviny. Např. když se chléb jmenuje Chléb kmínový krájený, musí být ve složení uveden kmín s procentuálním zastoupením [31].

Další povinností je uvádět čisté množství potraviny neboli hmotnost a ta činí 550 g, jak je uvedeno na obalu chleba.

Datum minimální trvanlivosti (DMT) je datem vymezujícím minimální dobu, po kterou si potravina při dodržování skladovacích podmínek zachovává své specifické vlastnosti a splňuje požadavky na zdravotní nezávadnost [34].

Mezi zvláštní podmínky uchování nebo podmínky použití spadá uvedení věty na obal chleba: „Skladujte při nekolísavé teplotě“. Také je povinné uvést na obal jméno nebo obchodní název a adresu provozovatele potravinářského podniku, pod jehož jménem nebo obchodním názvem je potravina uváděna na trh. Dále zemi původu nebo místo provenience, kde je uvedeno v tomto případě: Vyrobeno v České republice.

A nakonec výživové údaje, kde mezi základních 7 povinných údajů patří: energetická hodnota, tuky + z nich nasycené mastné kyseliny, sacharidy + z nich cukry, bílkoviny a sůl. Dobrovolně se může ještě uvést např. informace o množství vlákniny [31].

## 2 MIKROBIOLOGICKÁ BEZPEČNOST

Pojem „bezpečnost potravin“ jako překlad anglického „food safety“ v současné době nahrazuje dříve používaný termín „zdravotní nezávadnost potravin“ [32].

V zájmu ochrany spotřebitele musí všechny potravinové výrobky splňovat předpisy týkající se bezpečnosti potravin a případných nežádoucích dopadů na zdraví spotřebitele [35]. Podle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002 se za bezpečnou potravinu považuje ta, která není zdraví škodlivá a je vhodná k lidské spotřebě [36].

Pro nezávislá vědecká stanoviska, vědeckou a technickou podporu pro činnost Evropské unie ve všech oblastech, které mají přímý vliv na bezpečnost potravin a krmiv, byl založen úřad pro bezpečnost potravin (European Food Safety Authority EFSA) [37].

Úkolem EFSA je zajišťovat unijním institucím a členským státům co nejlepší vědecká stanoviska pro přípravu legislativy. Úřad podporuje a koordinuje vývoj metodik hodnocení rizika, sbírá a analyzuje data atd. [37]. Dále v úzké spolupráci s národními autoritami a dalšími zúčastněnými organizacemi a tělesy poskytuje objektivní a nezávislé vědecky podložené poradenství a jasná sdělení založená na nejaktuálnějších vědeckých poznatcích a informacích o existujících a nových rizicích [38].

Od doby kdy Česká republika vstoupila do Evropské unie je taktéž členem systému Rapid Alert Systém for Food and Feed RASFF. Jedná se o systém rychlého varování při přímém či nepřímém riziku pro lidské zdraví, pocházejícího z potravin nebo krmiva. Dalšími orgány, které v České republice dozorují bezpečnost potravin, jsou Ministerstvo zemědělství, Státní zemědělská a potravinářská inspekce a další [22].

Politika bezpečnosti potravin pracuje s principem tzv. analýzy nebezpečí.

V analýze nebezpečí musí být zahrnuta všechna nebezpečí ohrožující bezpečnost potravin, jejichž výskyt lze ve vztahu k dané potravině nebo skupině potravin v rozumné míře předpokládat (fyzikální, chemická, mikrobiologická kontaminace).

Analýza nebezpečí musí zohledňovat vlastnosti potravin, použité výrobní technologie a postupy a stav prostorů a zařízení potravinářského podniku [34].

## 2.1 Alimentární nákazy a jejich prevence

Dělí se do tří skupin a to na alimentární infekce, které jsou způsobeny mikroorganismy vyskytujícími se v požitých potravinách nebo ve vodě [39]. Tyto mikroorganismy se po požití rozmnoží a vyvolají onemocnění, které se většinou projeví v rozmezí 1 až 36 hodin po konzumaci kontaminované potravy. Příznaky většinou trvají od 1 do 7 dnů [42]. Jde především o akutní průjemová onemocnění bakteriálního a virového původu, kterým lze ale částečně předejít správnou a dostatečnou hygienou [39].

Další skupinou jsou alimentární toxoinfekce které jsou způsobené uvolněnými endotoxiny z bakterií působící na střevní sliznici [39].

Poslední skupinou jsou alimentární intoxikace, které jsou způsobeny potravinami, ve kterých se pomnožily bakterie a vlivem jejich metabolické aktivity se nahromadily jejich toxické produkty [39].

Kontaminace potravy může být způsobena dvěma způsoby, a to buď primární kontaminací, kdy se mikroorganismy vyskytují přímo v surovině, nebo sekundární kontaminací která vzniká přenesením choroboplodných zárodků na potravinu během zpracování či skladování a distribuce. Otrava po požití chleba může být způsobena např. plísněmi [22]. Nejlepší prevencí před kontaminací je dodržování systému HACCP a dodržení správné hygienické praxe s důrazem na mikrobiologická rizika [39].

## 2.2 HACCP a správná výrobní a hygienická praxe

Hygienou potravin se rozumí opatření a podmínky nezbytné pro omezování nebezpečí a pro zajištění vhodnosti potravy k lidské spotřebě s přihlédnutím k jejímu určenému použití [40].

Jedním z nejdůležitějších kritérií je provádění pravidelného úklidu, který se dělí na úklid denní, velký a generální. Pro úklid pracoviště se používají pouze schválené dezinfekční prostředky určené pro PP (potravinářské podniky). Je třeba dodržet jejich ředění, místo použití, teplotu a dobu působení [41].

Kromě dodržování čistoty výrobních prostor a zařízení je velice důležité dbát na osobní hygienu zaměstnanců a zajistit, aby každý zaměstnanec, který přichází do styku s potravinami, dodržoval řádně osobní hygienu a nebyl zdrojem kontaminace potravin, jelikož lidské tělo díky své teplotě 37 °C je ideálním místem pro růst MO. Všichni zaměstnanci musí



nosit přidělené ochranné pracovní oblečení. Co se týká kouření cigaret, není dovoleno v areálu PP kouřit. Pokud by nebyl pracovník manipulující s potravinami v dobrém zdravotním stavu, má povinnost tuto skutečnost ohlásit svému nadřízenému. Dále je povinností pracovníků dodržet zákaz vnášení jídla a osobních věcí do výrobních prostor. O výše uvedených požadavcích jsou všichni zaměstnanci řádně proškoleni, což musí stvrdit svým podpisem. V neposlední řadě se musí dodržovat i čistota výrobních prostor a zařízení, pracovních nástrojů, pomůcek atd. [42].

### 2.2.1 Systém DDD

Jedná se o systém dezinfekce, dezinfekce a deratizace (DDD). Jde o veškeré činnosti, které zajišťují v potravinářském provozu nepřítomnost škůdců a dalších organismů, které by mohly ohrozit bezpečnost potravin. Spolu s čištěním (odstranění nežádoucích látek) spadá pod sanitaci [34].

### 2.2.2 HACCP

Jedná se o systém, který identifikuje, hodnotí a ovládá nebezpečí, která jsou významná pro bezpečnost potravin. Zkratka pochází z anglického (Hazard Analysis Critical Control Point) a v českém překladu znamená Analýza nebezpečí a kontrolní kritické body (někdy je anglický výraz „control“ překládán jako „ochranný“ [45, 43].

Dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004 o hygieně potravin musí mít tento systém zavedený všechny potravinářské podniky.

V tomto systematickém postupu se posuzuje každý krok výrobního procesu, kdy se sledují a identifikují rizika, které by případně mohly ovlivnit bezpečnost (zdravotní nezávadnost) produktu [40]. S tímto souvisí právě identifikace všech rizik, kterým musí být předcházeno nebo která musí být vyloučena či omezena na přijatelnou úroveň [44].

Cílem HACCP je udržet pod kontrolou kontaminaci potravin jak mikroorganismy, tak chemickými látkami či fyzikálními kontaminanty tak, aby byla výroba bezpečná [44].

Systém HACCP bývá zaváděn pomocí sedmi kroků, které na sebe logicky navazují:

- analýza nebezpečí;
- identifikace kritických kontrolních bodů (CCP);
- zavedení kritérií pro zvládnutí situace na CCP;

- monitoring zavedených kritérií;
- stanovení nápravných opatření;
- verifikace správné funkce systému HACCP;
- dokumentace [45].

Aplikace sedmi principů je pouze jednou ze čtyř fází tvorby a realizace plánu HACCP:

- fáze 1: příprava a plánování;
- fáze 2: aplikace sedmi zásad systému HACCP;
- fáze 3: realizace přípravného plánu HACCP v praxi;
- fáze 4: trvalé udržování systému [45].

Pro chléb je nastavený pouze jeden kritický kontrolní bod (CCP). CCP je definovaný krok procesu, ve kterém je možno aplikovat kontrolu a je nezbytný k zabránění nebo eliminaci rizika v bezpečnosti potravin nebo k jeho redukcí na přijatelnou úroveň [34]. V Tabulce 4 (Tab. 4) je ukázka nastaveného kritického kontrolního bodu pro chléb.

Tab. 4 Kritický kontrolní bod (CCP1) u výroby chleba (upraveno dle zdroje [45])

<b>CCP1 TEPELNÉ OPRACOVÁNÍ</b>			
druh nebezpečí	biologické	chemické	fyzikální
popis nebezpečí	mikroorganismy	vznik nechtěných sloučenin	sklo, kovy
zdroj nebezpečí	nedostatečná tepelná úprava	odchýlení se od technologického postupu výroby	nekázeň zaměstnanců a nedodržení správné výrobní praxe
pravděpodobnost v.	2	2	2
následky pro k.	3	3	3
trvání nemoci	2	3	2
vyhodnocení nebezpečí	7	8	7
preventivní opatření	kontrola výrobního zařízení a sledovat teplotu a čas pečení	opět proškolit zaměstnance o systému HACCP	opět proškolit zaměstnance o systému HACCP

Kritéria pro hodnocení nebezpečí: pravděpodobnost výskytu nebezpečí – malá 1, velká 2; následky pro konzumenta – bez lékařského ošetření 1, s ošetřením 2, hospitalizace 3; trvání nemoci – hodiny a dny 1, týdny a měsíce 2, roky či trvalé následky 3, smrt 4; vyhodnocení nebezpečí – mírné 3-4, průměrné 5-6, závažné 7-9.

### 2.3 Mikrobiální kontaminace

Mikrobiologická kvalita potravin je legislativně ošetřena v Nařízení Komise (ES) 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny, v platném znění. Tento předpis uvádí pro kategorii Potraviny určené k přímé spotřebě pro kojence a potraviny určené k přímé spotřebě pro zvláštní léčebné účely, kam patří chléb, že za běžných podmínek se nevyžaduje pravidelné provádění vyšetření podle příslušného mikrobiologického kritéria, kterým je zde stanovení nepřítomnosti patogenu *Listeria monocytogenes* ve 25 g výrobku dle stanovení v rámci EN/ISO 11290-1 [46].

#### 2.3.1 Kvasinky

Mezi kvasinky přirozeně se vyskytující v chlebu řadíme kvasinky rodu *Saccharomyces cerevisiae* (mají elipsoidní tvar), které jsou jak z droždí, tak z tří-stupňového kvasu, ve kterém jsou dále i kulovité kvasinky *Saccharomyces minor* a *Candida milleri*, ovšem jejich technologický vliv není příliš významný [7].

Většina rodů kvasinek se rozmnožuje vegetativně pučením, kdy vznikající dceřiná buňka (pupen) je kanálkem spojená s buňkou mateřskou [57]. Rod *Saccharomyces* se vyznačuje mnohostranným (multilaterálním) pučením, při kterém vytváří mycelium a pseudomycelium. Pohlavně se množí pomocí askospor [21, 47].

Protože se kvasinky rozmnožují výrazně pomaleji než bakterie, uplatňují se především při kažení potravin, ve kterých jsou pro bakterie nepříznivé růstové podmínky.

Většinou kvasinky rostou za aerobních podmínek (při etanolovém kvašení za anaerobních podmínek). Rostou v poměrně širokém rozmezí pH od 3 do 11 a v rozmezí teplot od -2 °C až po 48 °C. Minimální aktivita vody je 0,91-0,88 [21]

#### 2.3.2 Plísňe (mikromycety)

Jako plísňe označujeme mikroskopické vláknité eukaryotní mikroorganismy náležící mezi houby (*Fungi*) [47]. Vyskytují se ve formě rychle rostoucího mycelia, které je schopno během 2 až 3 dnů pokrýt povrch potravin. Mycelium se skládá z více či méně větvených vláken (hyf) [47]. Čím více je chléb působením zejména kyseliny mléčné a octové (mají výrazné antimikrobiální účinky) kyselejší, tím vyšší je jeho odolnost proti plesnivění. Tato odolnost se ztrácí, pokud je chléb zakyselen pomocí zakyselujících přípravků na bázi kyseliny citronové, která tyto antimikrobiální účinky nemá [48].

Plesnivění patří mezi nejčastější mikrobiální vady, i přesto, že všechny pekařské výrobky jsou tepelně zpracované. Teplota a doba při pečení chleba by měla prakticky úplně zničit všechny zárodky plísní i jejich spory [7]. Plesnivění chleba spadá především do sekundární kontaminace, kdy se plísně ze vzduchu dostanou přes narušenou kůrku dovnitř chleba, kde jsou příznivější podmínky. Chléb se kontaminuje nejen ze vzduchu při chladnutí, ale i z obalů nebo prostřednictvím pracovníka, který s ním po upečení manipuluje [7]. Proto ze všech pekařských výrobků, podléhá plesnivění nejnáze krájený balený chléb. Zatímco dobře vypečená kůrka chleba za běžných podmínek skladování většinou neplesniví (nebo až po delší době), je naopak střídka napadána často, už třetí den skladování [48].

Mezi hlavní rody mikromycet vyskytujících se na chlebu patří rod *Aspergillus*. Tyto plísně mají optované mycelium, které může být bezbarvé, žluté, modré či černé. Konidiofor je na konci rozšířený a vytváří tzv. vezikulu, na kterou přisedají fialidy z nichž jsou odškrcovány jednotlivé konidie [43]. Dalším důležitým rodem je rod *Penicillium*, který zahrnuje asi 220 druhů. Vyskytuje se ve formě septovaného mycelia, konidiofory jsou na koncích větvené v podobě metuly, na kterou přisedají fialidy z nichž se odškrcují dlouhé řetízky zelenošedých až modrých konidií [43].

### 2.3.3 Bakterie

Bakterie vyskytující se jako kontaminace chleba se řadí zejména ke grampozitivním sporulujícím tyčinkám rodu *Bacillus*. Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* nedovolují výrazné pomnožení jiných mikroorganismů, ovšem nežádoucí mikroflórou v mouce mohou být např. bakterie *Bacillus subtilis*, které za vhodných podmínek mohou znehodnotit hotový výrobek tzv. nitkovitostí (hnilobou) chleba. Další druhy rodu *Bacillus*, které byly nalezeny na chlebu, avšak nezpůsobují nitkovitost, mohou být např. *Bacillus cereus* [63].

*Bacillus cereus* způsobuje kažení chleba převážně v letních měsících. Zpočátku je znehodnocení chleba vnímáno jako nepříjemný zápach podobný melounům s následným zbarvením a lepkavou strukturou. Jeho se do výrobku dostanou ze surovin a některé mohou přežít i vysoké teploty při pečení [48].

Koliformní bakterie se řadí mezi gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky z čeledi *Enterobacteriaceae*. V potravinářské mikrobiologii slouží jako indikátorové mikroorganismy sekundární kontaminace potravin a vody a správné sanitace technologického nářadí.

Patří sem *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* a zástupci rodu *Klebsiella* a *Citrobacter* [8].

Mikrobiologický parametr Celkový počet mikroorganismů (CPM) stanovuje všechny aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy (bakterie, kvasinky a plísně) tvořící počítatelné kolonie narostlé na univerzální půdě za 48 hodin. Tato skupina se nejvíce přibližuje absolutnímu celkovému počtu a nejlépe vystihuje stupeň mikrobiálního znečištění daného výrobku [49].

### 3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ MIKROORGANISMY

Pokud mají mikroorganismy příznivé podmínky, dokážou se velkou rychlostí množit a růst. Růstem mikroorganismů není myšleno jejich zvětšování ve velikosti, ale zvětšování v jejich počtu v 1 ml [7].

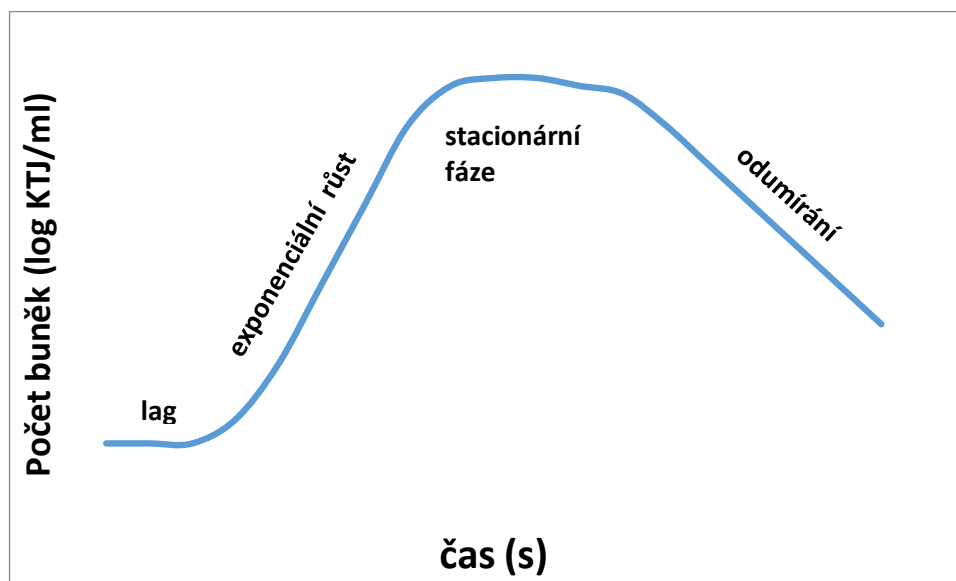
Faktory ovlivňující mikroorganismy v potravinách dělíme na vnitřní a vnější.

Vnitřní faktory jsou popisovány jako fyzikálně chemické vlastnosti potravin a řadí se sem složení potravin, pH, vodní aktivita, redoxní potenciál, textura a obsah přirozených antimikrobiálních látek [50].

Vnější faktory představují podmínky, za kterých jsou potraviny uchovávány a skladovány, což jsou teplota prostředí, relativní vlhkost vzduchu, složení atmosféry a čas [50]. Zde platí, že čím delší je doba působení daných faktorů na mikroorganismy, tím výraznější je jejich účinek [21, 51]. Typickým příkladem je účinek vyšší teploty na inaktivaci mikroorganismů v potravinách. Čím delší je doba působení vysoké teploty, tím je vyšší množství inaktivovaných bakterií [21].

K dalším faktorům ovlivňujícím mikroorganismy v potravinách se řadí tlak, záření, ultrazvuk, mechanické vlivy, působení cizorodých antibakteriálních látek, desinfekční prostředky, přístup světla apod. Pokud jsou potraviny baleny v řízené atmosféře plynů, je u potravin ochranný účinek. Podobným případem je i vakuové balení, kdy jsou potraviny v obalech nepropustných pro kyslík a tím se inhibuje růst aerobních mikroorganismů [21, 51].

Množení mikroorganismů závisí na níže uvedených faktorech. Na Obrázku 1 (Obr. 1) je zobrazeno schéma růstové křivky, ze které je zřejmé jak se s časem mění počet buněk [47].



Obr. 1. Růstová křivka bakterií (upraveno dle [47]).

Růstová křivka má následující fáze: lag (fáze prodlevy): bakterie se adaptují na nové médium; exponenciální fáze: prakticky neomezený růst; stacionární fáze: počty bakterií se nezvyšují, rychlost růstu a odumírání je v rovnováze; fáze odumírání [45].

### 3.1 Koncentrace vodíkových iontů- pH

Růst mikroorganismů a jejich biochemická aktivita jsou ovlivněny hodnotou pH. Každý mikrobiální druh se může rozmnožovat pouze v určitém rozmezí pH. Pro optimální růst většiny bakterií a kvasinek je rozmezí poměrně malé, ovšem plísně mají rozmezí podstatně větší, jak ukazuje Tabulka 5 (Tab. 5) [7, 50].

Tab. 5. Minimální, optimální a maximální pH pro růst některých MO [7].

Mikroorganismus	minimální pH	optimální pH	maximální pH
<i>Bacillus subtilis</i>	4,5	6,0-7,5	8,5
<i>Lactobacillus</i> sp.	3,8-4,4*)	5,4-6,4	7,2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3,0-3,8*)	4,2-5,0	7,3-7,5*)
<i>Aspergillus niger</i>	1,2	3,0-8,0	11,0

\*) Hodnoty u různých kmenů se vzájemně liší v uvedeném rozmezí

Bakterie mléčného kvašení, které sami produkují kyseliny, snášejí nízké hodnoty pH, ovšem pokud je v prostředí nahromaděné příliš velké množství kyselin, pozastavuje se růst i těch-

to mikroorganismů. Extrémní hodnoty pH mohou na mikroorganismy působit jak pozastavením jejich množení, tak usmrcením [43].

Jak už bylo výše zmíněno, hodnota pH má vliv na rozmnožování bakterií, rychlost růstu, vitalitu, intenzitu a charakter metabolismu a ovlivňuje permeabilitu cytoplasmatické membrány. Minimální hodnota pH pro většinu bakterií podílejících se na kažení potravin je 4,4 - 4,6. Také je známo, že pH nižší než 4 zabraňuje klíčení spor [21].

### 3.2 Složení potravin

Mikroorganismy potřebují pro svůj růst řadu látek jako vodu, zdroj energie a dusíku, minerální látky, vitamíny a další růstové faktory [43]. Obecně platí, že potraviny, které obsahují více nízkomolekulárních látek a větší množství vody se kází rychleji. Důvodem je skutečnost, že nízkomolekulární látky mohou mikroorganismy metabolizovat přímo bez předchozího štěpení. Bílkoviny a vysokomolekulární sacharidy (škrob) musí být nejprve rozštěpeny na nízkomolekulární a až poté metabolizovány [21, 51]. Jako zdroj energie uklizují mikroorganismy v potravinách cukry, alkoholy a aminokyseliny. Jako zdroj dusíku pro heterotrofní mikroorganismy slouží aminokyseliny. Mnohé mikroorganismy mohou využívat také složitější dusíkaté látky jako nukleotidy, peptidy i proteiny. Ke svému růstu potřebují mikroorganismy také v malém množství vitaminy skupiny B. Gramnegativní bakterie a plísně jsou schopny syntézy většiny potřebných látek na rozdíl od grampozitivních bakterií [21, 43].

### 3.3 Teplota prostředí

Teplota je jedním z hlavních faktorů vnějšího prostředí, který ovlivňuje rychlost rozmnožování a přežívání bakterií [21].

Jak uvádí Tabulka 6 (Tab. 6) jsou mikroorganismy rozděleny podle jejich vztahu k teplotě.

Dále lze definovat prostředí mikroorganismů a jejich hraniční body následovně:

- minimální teplota: je nejnižší teplota, při které se daný druh rozmnožuje ještě zjištěnou rychlostí;
- optimální teplota: je teplota, při níž se MO rozmnožují nejvyšší rychlostí;
- maximální teplota: je to nejvyšší teplota, při níž jsou mikroorganismy ještě schopny rozmnožování;



- letální teplota: neboli smrtící teplota, je nejnižší teplota, při které je organismus usmrčen během určité doby [45].

Tab. 6. Rozdělení mikroorganismů podle vztahu k teplotě [45].

Dělení MO	Teplota [°C]		
	minimální	optimální	maximální
Psychrofilní	-5	12-15	20
Mezofilní	5	30-45	50
Termofilní	40	55-75	60-90

Stanovení správné skladovací teploty má velký vliv na kvalitu potravin. Optimální skladovací teploty z hlediska množení mikroorganismů jsou chladírenské teploty a nižší, to ovšem není ideální pro všechny druhy potravin. Je jasné, že pokud bude chléb skladován na přímém slunci či ve velmi teplé místnosti, budou se mikroorganismy množit mnohem rychleji, než kdyby byl skladován v temnu a chladnu [43].

### 3.4 Vodní aktivita ( $a_w$ )

Mikroorganismy potřebují pro látkovou přeměnu dostatečné množství vody, která tvoří 75 – 90 % jejich těla. Jelikož nedisociované molekuly vody mohou volně procházet přes cytoplazmatickou membránu, musí být voda volně a v dostatečném množství přítomna i v okolí buněk. Pokud tomu tak není, buňka ztrácí svou vnitřní vodu, čímž dochází ke zpomalení metabolismu či jeho zastavení a může to vést k odumírání [43]. Odolnost k nízké hodnotě  $a_w$  je největší u plísní, menší je u kvasinek a ještě menší u grampozitivních bakterií a nejmenší je u gramnegativních bakterií. Většina bakterií způsobující kažení potravin neroste pod hranicí  $a_w = 0,91$ , na rozdíl od plísní, které se mohou často množit i pod hranicí  $a_w = 80$ . Většina mikroorganismů není schopna růstu při  $a_w$  pod 0,60 [21].

Vodní aktivita označuje míru využitelnosti vody v potravině pro mikroorganismy. Její hodnota se počítá jako parciální tlak vodních par nad kapalinou k parciálnímu tlaku vodních par nad destilovanou vodou za stejných podmínek ( $a_w$  čisté vody = 1,  $a_w$  chleba 1-0,95) [41, 48, 51]. Úměrně se stoupajícím obsahem látek vážících vodu v prostředí jako jsou např. sůl, sacharidy nebo bílkoviny, klesá parciální tlak vodní páry nad příslušnou potravinou [43].

### 3.5 Relativní vlhkost prostředí

Relativní vlhkost prostředí lze definovat jako podíl aktuálního tlaku vodních par obsažených v prostředí ku maximálnímu možnému tlaku vodních par za dané teploty. Je důležitá jak z pohledu vodní aktivity potravin, tak množení mikroorganismů na jejich povrchu [43]. Pokud je relativní vlhkost vysoká, ovlivňuje i aktivitu vody potraviny. Platí zásada, že čím vyšší je teplota, tím nižší by měla být relativní vlhkost prostředí a naopak, aby se údržnost potravin zvýšila [21, 51].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 4 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo porovnat dva vzorky pšenično-žitného chleba po mikrobiologické stránce. Oba vzorky byly od jednoho výrobce, ale každý byl vyroben jinou technologií výroby A) tradiční technologie s vedeným třístupňovým žitným kvasem a B) moderní technologie s tekutým koncentrovaným (stabilizovaným) kvasem. Kromě porovnávání samotných vzorků byly analyzovány i suroviny použité k výrobě vzorků chlebů a na závěr bylo měřené pH a titrační kyselost.

Cíle práce byly rozdělen následovně: popsat technologickou výrobu pšenično-žitného chleba; provést mikrobiologickou analýzu; změřit pH a titrační kyselost; zpracovat a zhodnotit výsledky.

## 5 MATERIÁL A METODIKA

Pro účely této bakalářské práce byly analyzovány 2 vzorky chleba (od každého vzorku 3 kusy ze stejné šarže) od jednoho výrobce, ovšem každý vzorek byl vyroben na jiné pekárně. Podmínky výroby byly stejné, ale byla použita jiná technologie výroby.

Vzorek A je chléb upečený ze tří-stupňového žitného kvasu.

Vzorek B je chléb upečený za použití koncentrovaného tekutého kvasu

Jako další vzorky se analyzovaly i samotné suroviny, které byly použity k výrobě daných šarží chleba, jako voda, žitná a pšeničná mouka, kvas, droždí, kmín, pšeničný škrob a zlepšující přípravek. Zlepšující přípravek není uveden ve složení, jelikož obsahuje pouze suroviny, které už jsou ve složení výrobku zastoupeny plus vitamín C, který plní funkci jako látka zlepšující mouku, ale nemusí se uvádět do složení potraviny. Sůl z mikrobiologického hlediska není vhodným místem pro růst a život mikroorganismů, tudíž je zde riziko kontaminace vyloučeno.

### 5.1 Metody výroby pšenično-žitného chleba

Existuje řada technologií výroby chleba, buď s použitím vitálních či nevitálních kvasů. Cílem této práce bylo porovnat dvě z těchto metod, kdy každý chléb je vyroben jinou technologií.

#### 5.1.1 Postup výroby tří-stupňového žitného kvasu

Tento kvas rozhoduje o nezaměnitelné chuti výsledného výrobku a tvoří v těstě chleba zpravidla 50-60 % hmotnosti. Nepřipravuje se najednou, nýbrž v několika krocích. Princip metody spočívá v tom, že ke kvasu z minulé výroby, v němž je pomnožena kulturní mikroflóra, se postupně v časových intervalech a za ideálních podmínek přidává žitná mouka s vodou, aby se tato ušlechtilá mikroflóra udržela a potřebně rozmnožila. Kromě kvasu z minulé výroby by se dal použít i nátěstek, což je vyžralý kvas zahuštěný 0,5 násobkem žitné mouky nebo drobenka která je taktéž vyžralý kvas, ale zahuštěný 1,5 násobkem žitné mouky. Rozdíl by byl pouze v tom, že pokud v našem případě používáme kvas z minulé doby, není možné udělat ve výrobním procesu pauzu a chléb se musí péct každý den, pokud bychom použili nátěstek, jeho použitelnost je přibližně 1 den a u drobenky 3 až 5 dnů (uvedené hodnoty jsou brány, při skladování v chladu) [12].

Ušlechtilou mikroflórou jsou myšleny především bakterie mléčného kvašení. Ty dělíme na homofermentativní (zkvašují glukózu a produkují pouze kyselinu mléčnou, která dodává chlebu typické chlebové aroma) a heterofermentativní (kromě kyseliny mléčné produkují i kyselinu octovou) [52].

Je velice důležité, aby převažoval homofermentativní průběh kvašení, jelikož optimální poměr mezi kyselinami by měl činit 80-85 % kyselina mléčná a 15-20 % kyselina octová, jelikož kyselina octová je silně aromatická a zpomaluje kynutí, ovšem její přítomnost je důležitá z důvodu lepší trvanlivosti [7, 12, 53].

**První stupeň vedení kvasu:** v této fázi jde především o pomnožení kvasinek, tudíž nejedná se o nic jiného než že se k části vyzrálého kvasu, který jsme si odebraly z předešlé výroby, přidá určitý poměr žitné mouky s vodou a nechá se při teplotě v rozmezí 23-25 °C přibližně 4-6 hodin. Doporučená výtěžnost (V) je v tomto kroku  $V=230-250$ . Ukončení tohoto kroku smyslově zkušený pracovník posoudí, ovšem průkazná je titrační kyselost, která musí být v rozmezí 85-100 mmol/kg. Díky této kyselosti máme jistotu, že se nemnoží i nežádoucí mikroorganismy [7, 12, 53].

**Druhý stupeň vedení kvasu:** je nutné opět přidat vyvážený poměr žitné mouky a vody. Podmínky v tomto stupni jako jsou tužší konzistence  $V=190-210$ , poněkud vyšší teplota 26-28 °C a doba zrání 4-5 hodin, vyhovují převážně bakteriím mléčného kvašení, protože mají kratší generační dobu než kvasinky. Zralost v tomto stupni by měla splňovat hodnoty titrační kyselosti okolo 110-130 mmol/kg [7, 12, 53].

**Třetí stupeň vedení kvasu:** doporučená počáteční teplota kvasu je 25-27 °C, ovšem během procesu zrání v tomto stupni se samovolně zvyšuje o 3-4 °C, ale u plně vyzrálého kvasu by teplota neměla přesáhnout 30 °C. Po opětovné přidání žitné mouky a vody, se může veškerá mikroflóra, která je již v plně aktivní fázi, rovnoměrně rozmnožovat a prokvášet substrát. Doba zrání je v tomto stupni okolo 3 hodin. Zralost kvasu se kontroluje nejen sensoricky, ale i titračně, zde by neměly hodnoty přesáhnout 90-100 mmol/kg. Z vyzrálého kvasu použijeme 2/3 do těsta a 1/3 k výrobě opakovaného kvasu. Počet opakování není teoreticky omezen [7, 12, 53].

**Vady kvasu při nedodržení podmínek:**

- ostrá vůně je způsobena starými kvasy nebo kvasy, u kterých byly konečné stupně vedeny při vysoké teplotě a hustotě;

- nevýrazná chuť je důsledkem nevyzrálých kvasů nebo kvasů vedených při nízké teplotě a hustotě;
- cizí pachy jsou většinou zapříčiněny vadnou nebo zatuchlou moukou;
- tmavošedá barva s oschlým povrchem je příčinou průvanu nebo špatného základu;
- načervenalá barva je způsobena starým kvasem nebo přidavkem pšeničné mouky do kvasu;
- slabý vývin CO<sub>2</sub> je chybou příliš studeného nebo teplého vedení či slabé mikrobiální kultury v základu;
- hrudkovitý povrch a volná voda je důsledek málo vyšlehaného kvasu [13].

### 5.1.2 Postup výroby koncentrovaného tekutého kvasu

Jedná se o koncentrovaný tekutý kvas s fermentačně vyrobenými kyselinami mléčnou a octovou, kdy je dávkování 1 - 6 % na celkové množství mouky nebo 5 - 7 % na použitou žitnou mouku [6, 7].

### 5.1.3 Technologický postup výroby chleba

Technologický postup výroby chleba je určen recepturou.

Chlebové těsto se vyrobí u metody tří-tupňového kvasu z preferentů: nejdříve se smísí vyzrálý kvas s vodou, pšeničnou moukou, žitnou moukou a v průběhu mísení solí, kmínem a malým množstvím droždí. Přídavek droždí sice není nutností, jak je zmíněno výše, ale v recepturním složení našeho porovnávaného chleba je malé množství droždí použito, jelikož chléb bez jeho přídavku nevykazoval tak dobré jakostní parametry. Toto vše jsou již individuální problémy, které řeší každá pekárna sama, jelikož má různé podmínky jako například pece atd. [12].

U koncentrovaného tekutého kvasu smísením všech komponent: pšeničné a žitné mouky, vody solí, droždí, stabilizovaného žitného kvasu a kmínu a vedení těsta na záraz.

Následuje velice důležitý proces hnětení v hnětacích strojích. Vlivem hnětače dochází k provzdušnění a zapracování vzdušného kyslíku. Díky vodě v těstě dochází k bobtnání bílkovin, hydrataci škrobů a pentozanů. Doba hnětení je stejně jako ostatní procesy pevně daná a nesmí se její doba překročit, z důvodu ztráty pružnosti a pevnosti. Pokud by bylo těsto nedokonale vyhnětené, nedokázalo by udržet vznikající plyny a finální výrobek by byl příliš nízký [12, 13].

Dále těsto 15-30 minut zraje, aby mohl škrob, pentozany a bílkoviny dostatečně zbobtnat a vysokomolekulární látky se mohly odbourat na nižší degradační produkty. Při zrání těsta se také množí kvasné mikroorganismy a produkují metabolity, jako organické kyseliny, etanol či oxid uhličitý [12, 13].

Po zrání přijde na řadu dělení chlebových těst o požadované hmotnosti. V našem případě se jedná o chleby výsledné hmotnosti 1200g, tudíž chlebová navážka musí být o něco vyšší, z důvodu ztrát pečením (tzv. výpek) a následné ztráty vysycháním které po upečení v následujících hodinách probíhá [12, 13].

Před osazováním do ošatek se těstové kusy skulují v pásovém skulovacím stroji (tzv. skulovači), na který kontinuálně navazuje vyvalovací stroj, který vyvaluje kusy do tvaru vecky.

Nyní se těstové kusy osazují do ošatek, které jsou vysypané pšeničným škrobem, aby nedocházelo k přilepení těsta k ošatkám (z tohoto důvodu, je pšeničný škrob uveden ve složení výrobku) a následné kynutí v kontinuální kynárně [12, 13].

Od smíchání surovin až po tento krok probíhalo vše kontinuálně za pomoci strojů bez lidského faktoru. Nyní se přechází k sázení těstových kusů na pás pece, které probíhá ručně.

Následně se chléb peče v průběžné peci, tzn. že, těstový kus na jednom konci vjede na pásu do pece a po celou dobu pečení pecí projíždí. Při pečení dochází k dotvoření kůrky (vzniká její aroma) a střídy chleba (její aroma vzniká činností kvasinek v těstě), včetně zvýšení stravitelnosti [10]. Průběžné pece mají tu výhodu, že umožňují seřízení teplotní křivky v jednotlivých zónách a správné zapáření. Na závěr je na konci pece chléb postříkán jemným rozstříkem vody pro výsledný lesk a vyjede z pece na pás, ze kterého jen obsluha linky odebere a narovná do přepravek [12, 13].

## 5.2 Pomůcky a přístroje

Sterilní Petriho misky, sterilní pipety, destilovaná voda, tlumivý peptonový roztok, inkubátor 25°C a 30°C, kahan, plynová bomba, termostat RS130 (Labo, Česká republika), termostat (Labo, Česká republika), termostat BT 120 (Memmert, Německo), váha k přípravě pūd (Chirana, Česká republika), váha k vážení vzorků (Kern EW, Švýcarsko), sušárna (Premed, Polsko), sterilizátor (Lab-Met, Česká republika), sterilizátor pomůcek (Stericell, Česká republika), autokláv k likvidaci odpadu AUT 26/II (Lab-Met, Česká republika), vařič k rozváření pūd (ETA, Česká republika), homogenizátor AES (Pharmix, Česká republika), germicidní zářič k vysvícení laboratoře, pH metr (Greisinger electronic, Německo).



Pro stanovení koliformních bakterií byla použita dehydratovaná půda VRBA (Violet Red Bile Lactose Agar, HiMedia, Indie). Pro stanovení CPM byla použita dehydratovaná půda PCA (Plate Count Agar, HiMedia, Indie). Pro stanovení kvasinek byla použita dehydratovaná půda YGCA (Yeast Glucose Chloramphenicol Agar, HiMedia, Indie).

### 5.3 Metodika

#### 5.3.1 Postup při přípravě půd

Postup při přípravě půd do kádinky se navážilo potřebné množství dehydratované půdy a zalilo se destilovanou vodou. Po rozmíchání se nechala půda 15 minut nabobtnat a poté se změřilo pH půdy. Hodnota pH se měřila proto, aby byla půda vhodná pro mikroorganismy, které na ní mají vyrůst. Pro ovlivnění pH se přidá buď 1M hydroxid sodný nebo 1M kyselina chlorovodíková.

Optimální pH pro půdu

VRBA  $7,4 \pm 0,2$

PCA  $7,0 \pm 0,2$

YGCA  $6,6 \pm 0,2$

#### 5.3.2 Postup při desítkovém ředění

Nejprve bylo provedeno první ředění, kdy se navážilo 10g vzorku do sterilního sáčku spolu s 90 ml tlumivého peptonového roztoku. Tato směs se dala na 2 minuty do homogenizátoru. Po dvou minutách se nechala směs alespoň 10 minut sedimentovat a poté byl ze sáčku odpipetován 1 ml roztoku do připravené a popsané zkumavky, ke kterému se přidalo 9 ml tlumivého peptonového roztoku a tím vzniklo druhé ředění. Stejným způsobem bylo provedeno i třetí ředění z druhého ředění.

#### 5.3.3 Postup při inokulaci a kultivaci

Nejprve byly nachystány a popsány jednotlivé plotny, do kterých se napipetovalo předepsané množství vzorku.

Koliformní bakterie: 0,2 ml

Kvasinky a plísňe: 1 ml

Celkový počet mikroorganismů: 1 ml

U všech vzorků jak chlebů, tak surovin se očkování provádělo přelivem

Kultivace je za podmínek

CPM 30°C po dobu 72 hodin

Koliformní bakterie 30°C po dobu 48 hodin

Kvasinky a plísně: 25°C po dobu 72 hodin

#### 5.3.4 Postup při měření pH a titrační kyselosti

Nejprve se rozmixovalo 10 g vzorku střídy se 100 ml destilované vody. Následně se provedla kalibrace pH metru. Nejprve na 7 pH, poté na 4 pH a změřilo se pH vzorku. Dále se zvážený roztok NaOH se přidával ke vzorku až do hodnoty 8,5 pH. Nakonec se zvažil zbylý roztok NaOH a výsledná spotřeba se rovnala kyselosti.

V Tabulce 7 (Tab. 7) jsou uvedeny normy pro vyhodnocení jednotlivých analýz.

Tab. 7. Normy k vyhodnocení jednotlivých analýz.

<b>Mikroorganismy</b>	<b>Použitá metoda k vyhodnocení</b>
Celkový počet mikroorganismů	ČSN ISO 4833-1 [54]
Koliformní bakterie	ČSN ISO 4832 [55]
Kvasinky	ČSN ISO 21527 [56]
Plísně	ČSN ISO 21527 [56]

## 6 VÝSLEDKY A DISKUSE

### 6.1 Mikrobiologická analýza výrobních surovin

Na počátku experimentu byla provedena mikrobiologická analýza vstupních surovin potřebných k výrobě daných vzorků chleba A a B. Vzorek A byl vyroben za použití třístupňového žitného kvasu, a vzorek B byl vyroben s použitím koncentrovaného tekutého kvasu. Kromě kvasu byly analyzovány i další suroviny. Výsledky mikrobiologického rozboru (koliformní bakterie, kvasinky a plísně) surovin jsou uvedeny v Tabulce 8 (Tab.8).

Tab. 8. Mikrobiologická analýza výrobních surovin.

VZOREK A				VZOREK B			
vzorek	koli- formní bakterie [KTJ/g]	kvasin- ky[KT J/g]	plísně [KTJ/g]	vzorek	koliform- ní bakte- rie [KTJ/g]	kvasin- ky[KT J/g]	plísně [KTJ/g]
žitná mouka	$1,2 \cdot 10^3$	0	$5,0 \cdot 10^2$	žitná mouka	$1,3 \cdot 10^3$	0	0
pšenič- ná mouka	$1,8 \cdot 10^3$	0	$3,6 \cdot 10^2$	pšeničná mouka	$1,4 \cdot 10^3$	0	0
kmín	$1,9 \cdot 10^3$	0	45	kmín	$1,9 \cdot 10^3$	0	0
kvas	0	$>10^6$	0	koncent- rovaný kvas	0	0	0
zlepšu- jící pří- pravek	$7,0 \cdot 10^2$	0	$1,8 \cdot 10^2$	zlepšující přípravek	$3,4 \cdot 10^2$	0	$2,7 \cdot 10^2$
droždí	$1,4 \cdot 10^2$	$>10^6$	0	droždí	91	$>10^6$	0

Prvními hodnocenými surovinami byly žitné a pšeničné mouky, u kterých byla prokázána přítomnost koliformních bakterií stejně jako u všech ostatních surovin kromě kvasů. Koliformní bakterie patří do čeledi *Enterobacteriaceae* a jedná se o gramnegativní, laktóza pozitivní, fermentující tyčinky. Jsou indikátorovou skupinou, která upozorňuje na patogení mikroorganismy [57]. Koliformní bakterie by se neměly ve výrobku vyskytovat, ovšem musíme brát v potaz, že v průběhu výroby je jejich růst potlačen, jelikož dochází k okyselení těsta kvasy a také se jedná o mikroorganismy, které jsou citlivé na vysoké teploty a následné pečení nepřežívají [58].

Kromě koliformních bakterií byl prokázán u žitné i pšeničné mouky také výskyt plísní, a to pouze pro vzorek A, kdy důvodů může být celá řada a to například už od samotného sklízení obilí na poli, kde jsou mikroorganismy přítomny hlavně z půdy, vzduchu a dešťové vody. Následuje sklizeň, kdy může dojít ke kontaminaci ze strojů či při nesprávném uskladnění zrn. Nakonec může dojít ke kontaminaci mouky u samotného výrobce mouky, a dále při přepravě mouky k pekaři, až po samotnou manipulaci s moukou při výrobě chleba. U obilky jsou MO na jejich povrchu a po rozemletí se zvětší povrch a dojde k nárůstu mikroorganismů [58].

Další analyzovanou surovinou byl kmín, který kromě koliformních bakterií u obou vzorků, obsahoval také ve vzorku A malé množství plísní a to přesněji 45 KTJ/g. Následně byly analyzovány kvasy. Vzorek A neobsahoval žádné koliformní bakterie z důvodu kyselého prostředí, jak je popsáno výše. Plísně nebyly u kvasu vzorku A také prokázány, ovšem pro kvasinky byla odborně odhadnuta hodnota  $>10^6$  KTJ/g která odpovídá zjištění v odborné literatuře [57, 58].

Vzorek koncentrovaného tekutého kvasu neobsahoval žádné z prokazovaných mikroorganismů. Ve zlepšujících přípravných obou vzorků byly kromě koliformních bakterií přítomny i plísně. Posledními surovinami byly vzorky droždí, které obsahovaly kromě koliformních bakterií samozřejmě kvasinky a jejich hodnota byla opět odborně odhadnuta na  $>10^6$  KTJ/g a tudíž odpovídá hodnotám v odborné literatuře [57, 58].

U rozboru surovin se prokázalo, že opravdu na rozdíl od koncentrovaného tekutého kvasu, ve kterém jsou pouze fermentačně vyrobené kyseliny mléčná a octová, je tří-stupňový kvas opravdu „živý“ neboli vitální a to díky bakteriím mléčného kvašení (BMK) a kvasinkám. Kultury v kvasu jsou přirozeně se vyskytující mikroflóra ze vzduchu, vody a hlavně obilovin [59].

Mezi BMK vyskytující se nejvíce v kvasu patří: *Lactobacillus sanfranciscensis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus*, a *Lactobacillus plantarum*. Tyto BMK do těsta produkují kyselinu mléčnou a octovou pro zlepšení chuti a dodají i spoustu zdravotních benefitů jako snížení glykemického indexu a rychlosti štěpení škrobu. Kromě štěpení škrobů u kvašení vznikají i protězy na štěpení proteinu. Např. *Lactobacillus plantarum* je nezbytný pro technologické požadavky chleba, protože ve vodě rozpuštěné proteiny žitné mouky neformují gluten [4].

Kvasinky rodu *Saccharomyces cerevisiae* se přidávají do obou typů chleba. Ve vzorku A jsou v mnohem menším zastoupení, a to pouze pro zlepšení výsledného objemu. Na druhou stranu u vzorku B plní hlavní kypřicí funkci tím, že provzdušňují těsto oxidem uhličitým (tzv. aerace) a těsto se díky tomu lépe upeče. Střída je měkčí, stravitelnější a chutnější [59].

## 6.2 Mikrobiologická analýza chleba

Chléb byl technologicky vyroben a upečen. Poté byla provedena mikrobiologická analýza. Proces pečení by měl být dostatečný k tomu, aby redukoval vlhkost uprostřed bochníku. Množení mikroorganismů se předchází i tím, žechléb by měl být rychle zchlazen a neměl by být zabalen, dokud vnitřní teplota bochníku nebude nižší než 33 °C aby se zabránilo kondenzaci par a následnému množení mikroorganismů [57].

Chléb má převážně díky růstu plísní krátkou dobu trvanlivosti. Střída má vodní aktivitu okolo 0,94-0,95 i přestože kůrka má vodní aktivitu menší než 0,70. Ve dvouleté studii německého zabaleného rozporcovaného chleba z žita, pšenice nebo jejich směsí bylo 437 vzorků skladováno při teplotě 25°C a 70% relativní vlhkosti po dobu 7 dní, kdy byl sledován růst mikroorganismů. Více než 65 % vzorků ukázalo viditelný nárůst plísní. Dominantní byla plíseň *Penicillium roqueforti* a další zástupci rodů *Penicillium* a *Aspergillus* [57].

Mikrobiologický rozbor obou vzorků chleba je uveden v Tabulce 9 (Tab. 9). Při vlastním porovnávání vzorků A a B bylo jednoznačné, že ani u jednoho vzorku po dobu 7 dnů nebyl žádný výskyt koliformních bakterií. Co se týká celkového počtu mikroorganismů, je u obou vzorků vidět, jak postupně hodnota od prvního dne narůstá, ale až okolo třetího až čtvrtého dne jde vidět rapidnější nárůst. Je to dáno růstovou křivkou kdy se ze začátku bakterie postupně množí, ale svého růstového optima dosahují až okolo čtvrtého dne, jak jde

vidět v Tabulce 9 (Tab. 9). Kvasinky a plísně u vzorku A začínají růst až pátý den na rozdíl od vzorku kdy je nárůst zřetelný již třetí den. Toto zjištění má spojitost s hodnotou pH která je u vzorku A znatelně nižší než u vzorku B jak ukazuje Tabulka 10 (Tab. 10).

Dle Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 v platném znění se pravidelné provádění vyšetření podle příslušného kritéria za běžných podmínek u chleba nevyžaduje.

Velkou výhodou u vzorku A je obsah bakterií mléčného kvašení, které obsahují enzym fytázu a mohou štěpit kyselinu fytovou a její soli fytáty. Během potravinářského zpracování a přípravy, převážně při namáčení, sladování, klíčení, fermentaci a výrobě chleba, jsou fytázy rostlinného nebo mikrobiálního původu široce používány pro snížení obsahu fytátů v potravinách, aby se zlepšila biologická dostupnost minerálů a stopových prvků [60].

Bylo prokázáno, že antinutriční látky jako kyselina fytová a její soli fytáty jsou redukovány během fermentační doby [4]. Kyselina fytová se vyskytuje především v luštěninách, olejninách a cereáliích. Tvoří nerozpustné komplexy s minerálními látkami, čímž snižuje jejich biologickou využitelnost [62]. Enzymy, které rozkládají fytáty, se vyskytují v mikroorganismech, rostlinách a živočiších. Rostlinné fytázy se vyskytují zejména v semenech, a tudíž i v obilných zrnech. Jejich hydrolytická aktivita je závislá na druhu obilniny. Nejvyšší aktivita fytáz byla popsána v žitě, nižší potom v pšenici, ovsu a kukuřici. Fytázy začnou hydrolyzovat, až když nastanou optimální podmínky, zejména jde o vlhkost. Při zpracování potravin, zejména při namáčení, klíčení, sladování, kvašení a výrobě pečiva se přídavky rostlinných nebo mikrobiálních fytáz používají ke snížení obsahu fytátů v potravinách s cílem zlepšit biologickou dostupnost minerálů a stopových prvků [55].

Tab. 9. Mikrobiologická analýza chlebů A a B.

VZOREK A				VZOREK B			
den	koliform- ní bakte- rie [KTJ/g]	CPM[KTJ/ g]	kvasin- ky a plísně [KTJ/g]	den	koliform- ní bakte- rie [KTJ/g]	CPM[KTJ/ g]	kvasin- ky a plísně [KTJ/g]
1.	0	45	0	1.	0	91	0
2.	0	76	0	2.	0	$1,2 \cdot 10^2$	0
3.	0	$1,2 \cdot 10^2$	0	3.	0	$2,1 \cdot 10^2$	30
4.	0	$5,6 \cdot 10^2$	0	4.	0	$7,3 \cdot 10^2$	60
5.	0	$7,5 \cdot 10^2$	$4,1 \cdot 10^2$	5.	0	$1,0 \cdot 10^3$	$9,2 \cdot 10^2$
6.	0	$1,1 \cdot 10^3$	$5,5 \cdot 10^2$	6.	0	$1,6 \cdot 10^3$	$2,0 \cdot 10^3$
7.	0	$1,5 \cdot 10^3$	$7,3 \cdot 10^2$	7.	0	$2,2 \cdot 10^3$	$2,4 \cdot 10^3$

### 6.3 Analýza pH a titrační kyselost

Tabulka 10 (Tab. 10) uvádí naměřené hodnoty pH a titrační kyselost obou testovaných vzorků chleba A a B po dobu 7 dnů. Měřením se potvrdilo, že vzorek A vyrobený tradičním způsobem s tří-stupňovým kvasem je kyselejší než vzorek B vyrobený moderní metodou se koncentrovaným kvasem. Je to dáno obsahem bakterií mléčného kvašení u vzorku A. V závislosti na pH je u vzorku A i nižší titrační kyselost. S postupem času pH i kyselost klesá, ovšem u vzorku A více viditelně. Podle Su, Xueqian má například přidavek organických kyselin významný vliv na snižování pH, tím se zvyšuje aktivita kvasinek a snižuje se SH a obsah sacharidů. Tím se zvýší trvanlivost, zvýší se aktivita amylázy alepší se antimikrobní vlastnosti chleba [64].

Tab. 10. Hodnoty pH a titrační kyselost pro oba vzorky chleba během 7 dnů.

VZOREK A			VZOREK B		
Den	Hodnota pH	Titrační kyselost (SH)	Den	Hodnota pH	Titrační kyselost (SH)
1.	4,75	6,45	1.	5,08	8,29
2.	4,63	6,27	2.	5,08	8,29
3.	4,51	6,11	3.	5,05	8,25
4.	4,43	6,01	4.	4,99	8,16
5.	4,35	5,86	5.	4,94	8,09
6.	4,29	5,75	6.	4,91	8,00
7.	4,27	5,72	7.	4,87	7,92



## ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se věnovala mikrobiologickému srovnání dvou pšenično-žitných chlebů, kdy každý chléb byl vyroben jinou technologií výroby. Pro výrobu vzorku A byla použita metoda s tří-stupňovým vedením žitného kvasu a pro vzorek B byl použit koncentrovaný tekutý kvas s fermentačně vyrobenými kyselinami mléčnou a octovou bez obsahu bakterií mléčného kvašení.

U rozboru surovin pro výrobu se prokázalo, že i přestože jsou přítomny koliformní bakterie, v hotových výrobcích se tyto bakterie vyskytovaly. Je to dáno tím, že chléb je upečený výrobek a všechny koliformní bakterie ze surovin byly inaktivované. A ke křížové kontaminaci ze strany personálu nedošlo.

Dle výsledků samotných vzorků chleba je zřejmé, že po mikrobiologické stránce je trvanlivější vzorek A, díky bakteriím mléčného kvašení, které mimo jiné zabraňují plesnivění. Bakterie mléčného kvašení dodávají chlebu jeho typické aroma a díky produkci kyseliny mléčné a octové přirozeně zakyselují chléb a tím vytváří méně příznivé prostředí pro množení mikroorganismů. Vzorek B začal plesnivět již třetí den od upečení na rozdíl od vzorku A, kde byly plísně znatelné až pátý den. Při porovnání celkových počtů mikroorganismů je také zřetelné, že vzorek A má od prvního dne nižší počty bakterií než vzorek B.

Při analýze pH a titrační kyselosti je prokazatelně vidět, že vzorek A je kyselejší a jeho pH s časem mnohem více klesá než u vzorku B. Chléb A se tedy méně kazí díky své kyselosti a má výraznější chlebové aroma.

Závěrem z bakalářské práce vyplývá, že po mikrobiologické stránce je chléb s tří-stupňovým žitným kvasem kvalitnější a trvanlivější než vzorek s koncentrovaným kvasem.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] *Vyhláška č. 333/1997 Sb.* [online]. 1997. [cit. 2019-01-03]. Dostupné na internete: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-333>
- [2] HANÁKOVÁ, Petra a Petr HRABINA. 2015. *Příběh chleba: tradiční hospodaření a příprava chleba*. Zlín: Muzeum jihovýchodní Moravy ve Zlíně. ISBN 978-80-87130-33-9.
- [3] 2015. *Státní zemědělská a potravinářská inspekce* [online]. [cit. 2019-02-12]. Dostupné na internete: <http://www.szpi.gov.cz/clanek/chleb-jeho-druhy-a-hlavni-vady.aspx>
- [4] SALMINEN, Seppo, Atte von WRIGHT a Arthur OUWEHAND. *Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects*. 3rd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker, c2004. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 139. ISBN 0-8247-5332-1.
- [5] KOLEKTIV AUTORŮ. 2013. *Pekařská technologie*. Praha: Odborné nakladatelství a vydavatelství Pekař a cukrář. Knižnice Pekaře a cukráře. ISBN 978-80-903913-7-6.
- [6] *Kvasy a zakyselující přípravky* [online]. [cit. 2019-02-03]. Dostupné na internete: <http://www.ireks-enzyma.cz/Kvasy-a-zakyseluj-c--p--pravky.htm>
- [7] ŠEDIVÝ, Petr a Jaroslav ALBRECHT. 2014. *Pekařská technologie*. Praha: Odborné nakladatelství a vydavatelství Pekař a cukrář. Knižnice Pekaře a cukráře. ISBN 978-80-905481-0-7.
- [8] BURDYCHOVÁ, Radka a Pavla SLÁDKOVÁ. 2007. *Mikrobiologická analýza potravin*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 978-80-7375-116-4.
- [9] BUREŠOVÁ, Iva. 2014. *Výroba potravin rostlinného původu: návody do cvičení I*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. ISBN 978-80-7454-331-9.
- [10] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. 2009. *Chemie potravin*. Rozšířené a přepracované 3. vyd. Tábor: OSSIS. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [11] BABIČKA, Luboš. 2012. *Přidatné látky v potravinách: publikace České technologické platformy pro potraviny*. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny. ISBN 978-80-905096-3-4
- [12] HRABĚ, Jan, František BUŇKA a Ignác HOZA. 2007. *Technologie výroby potravin rostlinného původu: pro kombinované studium*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. ISBN 978-80-7318-520-6.

- [13] PŘÍHODA, Josef, Pavla HUMPOLÍKOVÁ a Dana NOVOTNÁ. 2003. *Základy pekárenské technologie*. Praha: Pekař a cukrář. ISBN 80-902922-1-6
- [14] BABIČKA, Luboš. 2016. *Nutričně významné látky v potravinách*. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny. Publikace České technologické platformy pro potraviny. ISBN 978-80-88019-15-2.
- [15] TAUFEROVÁ, Alexandra. 2014. *Technologie a hygiena potravin rostlinného původu I., II.* Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ISBN 978-80-7305-692-6.
- [16] SLUKOVÁ, Marcela, Pavel SKŘIVAN a Marie HRUŠKOVÁ. 2017. *Cereální chemie a technologie: zpracování obilovin - mlýnská a těstářská výroba*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. ISBN 978-80-7592-000-3.
- [17] KILL, R. C. a K. TURNBULL. 2001. *Pasta and semolina technology*. Malden, MA: Blackwell Science. ISBN 0632053496.
- [18] Tsai CJ, Leitzmann MF, Willett WC a Giovannucci EL. 2004. Long-term intake of dietary fiber and decreased risk of cholecystectomy in women. *American journal gastroenterology*. Elsevier science inc, 360 park ave south, new york, ny 10010-1710 usa.; 1364-1370. DOI: 10.1111 / j.1572-0241.2004.30153.x.
- [19] *Plant Foods for Human Nutrition*. Berlin: Springer. ISSN 1573-9104.
- [20] *Vyhláška č.252/2004 Sb: Vyhláška, kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné*. In: Dostupné na internete: [www: https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-252](http://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-252)
- [21] BURSOVÁ, Šárka, Lenka NECIDOVÁ a Marta DUŠKOVÁ. 2014. *Mikrobiologie potravin a mikrobiologické laboratorní metody*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ISBN 978-80-7305-741-1
- [22] HRNČÍŘOVÁ, Dana a Jolana RAMBOUSKOVÁ. 2015. *Výživa a zdraví*. III. vydání. Praha: Ministerstvo zemědělství, Odbor bezpečnosti potravin. ISBN 978-80-7434-220-2.
- [23] *Vyhláška č.248/2018 Sb.: Vyhláška o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí*. In: . Dostupné na internete: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2018-248#cast7>
- [24] *European Food Research and Technology*. Berlin: Springer-Verlag. ISSN 1438-2377.
- [25] *Droždí* [online]. [cit. 2019-02-02]. Dostupné na internete: <http://lesaffre.cz/drozdi/>

- [26] HUI, Y. H. 2006. *Handbook of food science, technology, and engineering*. Boca Raton: Taylor & Francis. Food science and technology (Taylor & Francis), 148. ISBN 08493-9848-7.
- [27] BUŇKA, František, Jan HRABĚ a Bohumír VOSPĚL. 2010. *Senzorická analýza potravin I*. Vyd. 2. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. ISBN 978-80-7318-887-0.
- [28] INGR, Ivo, Jan POKORNÝ a Helena VALENTOVÁ. 2007. *Senzorická analýza potravin*. Vyd. 2., nezměn. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 978-80-7375-032-9.
- [29] MÜLLEROVÁ, Monika a Jan SKOUPIL. 1988. *Technologie pro 4.ročník střední průmyslové školy studijního oboru zpracování mouky*. Praha: SNTL- nakladatelství technické literatury.
- [30] *Zákon č. 110/1997 Sb.: Zákon o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů*. 1997. In: . Dostupné na internete: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-110>
- [31] *Nariženi evropského parlamentu a rady (eu) č. 1169/2011: o poskytování informací o potravinách spotřebitelům*. 2011. In: . Dostupné na internete: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1551536593514&uri=CELEX:32011R1169>
- [32] TREMLOVÁ, Bohuslava a Zdeňka JAVŮRKOVÁ. 2014. *Řízení kvality a bezpečnosti potravin*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. ISBN 978-80-7305-684-1.
- [33] Ochrana spotřebitelů před alergenními potravinami. 2016. *Státní zemědělská a potravinářská inspekce*[online]. [cit. 2019-03-14]. Dostupné na internete: <http://www.szpi.gov.cz/clanek/ochrana-spotrebitelu-pred-alergennimi-potravinami-oznacovani-alergennich-slozek.aspx>
- [34] Všeobecné požadavky na systém analýzy nebezpečí a stanovení kritických kontrolních bodů (HACCP). *Resortní portál ministerstva zemědělství* [online]. [cit. 2019-03-05]. Dostupné na internete: [http://eagri.cz/public/web/file/106403/\\_2010\\_2.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/106403/_2010_2.pdf)
- [35] VALENTA, Ondřej a Petr HLADÍK. 2011. *Budoucnost kvality a bezpečnosti potravin v Česku*. Praha: Sociologické nakladatelství. ISBN 978-80-7419-056-8.

- [36] *Nariadení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002*. 2002. In: . Dostupné na internete: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?qid=1551905422305&uri=CELEX:32002R0178>
- [37] DAŤKOVÁ, Petra. [2016]. *Spolupráce s Evropským úřadem pro bezpečnost potravin*. Praha: Ministerstvo zemědělství. ISBN 978-80-7434-331-5.
- [38] EFSA. *Informační centrum bezpečnosti potravin* [online]. [cit. 2019-03-05]. Dostupné na internete: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/kategorie/efsa.aspx>
- [39] Státní zdravotní ústav. *Alimentární onemocnění: infekce a otravy z potravin* [online]. : 1-28 [cit. 2019-05-10]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/alimentarni-onemocneni-infekce-a-otravy-z-potravin>
- [40] *Nariadení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004 ze dne 29. dubna 2004 o hygieně potravin*. 2004. In: . Dostupné na internete: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?qid=1551955136417&uri=CELEX:32004R0852>
- [41] FORSYTHE, S. J. 2000. *The microbiology of safe food*. Malden, MA: Blackwell Science. ISBN 0632054875.
- [42] SPRENGER, Richard A. 2003. *The food hygiene handbook*. 16th ed. Doncaster: Highfield. ISBN 1904544185.
- [43] VLKOVÁ, Eva, Vojtěch RADA a Jiří KILLER. 2009. *Potravinářská mikrobiologie*. 2. vyd. V Praze: Česká zemědělská univerzita. ISBN 978-80-213-1988-2.
- [44] KOMÁR, Aleš. 2008. *Technologie, zbožiznalství a hygiena potravin*. Brno: Univerzita obrany. ISBN 978-80-7231-279-5.
- [45] KOMPRDA, Tomáš. 2004. *Obecná hygiena potravin*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 80-7157-757-x.
- [46] *Nariadení komise (ES) č. 2073/2005: o mikrobiologických kritériích pro potraviny*. 2005. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:02005R2073-20130701&from=ET>
- [47] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. 1995. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 2. vyd., ve VP 1. vyd. Praha: Victoria Publishing. ISBN 80-85605-71-6.
- [48] TICHÁ, Jarmila. 1988. *Mikroorganismy: a jiní škůdci v mlýnskopekárenském průmyslu a ochrana proti nim*. Praha: SNTL- nakladatelství technické literatury.

- [49] CAPPUCCINO, James G. a Natalie SHERMAN. c2008. *Microbiology: a laboratory manual*. 8th ed. San Francisco: Pearson/Benjamin Cummings. ISBN 0-321-48820-2.
- [50] BUNEŠOVÁ, Věra. 2017. *Fundamentals of microbiology: for students of the Faculty of Agrobiolgy, Food and Natural Resources, Czech University of Life Science Prague*. Prague: Czech University of Life Science. ISBN 978-80-213-2757-3.
- [51] RAY, Bibek. 2000. *Fundamental food microbiology*. Second edition. Boca Raton: CRC Press. ISBN 0-8493-0045-2.
- [52] BATT, Carl A. a Mary Lou TORTORELLO, eds. 2014. *Encyclopedia of food microbiology*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier. ISBN 978-0-12-384730-0.
- [53] MÜLLEROVÁ, Monika a František CHROUST. 1993. *Pečeme moderně v malých i větších pekárnách: příručka pro pekaře začátečníky i mírně pokročilé*. Pardubice: Kora. ISBN 80-85644-03-7.
- [54] ČSN EN ISO 4833-1 (560083), Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů - Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C. 2014.
- [55] ČSN ISO 4832, Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu koliformních bakterií - Technika počítání kolonií. 2010.
- [56] ČSN ISO 21527-1 (560650), Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu kvasinek a plísní - Část 1: Technika počítání kolonií u výrobků s aktivitou vody vyšší než 0,95. 2009.
- [57] *Microbial ecology of food commodities*. c2005. 2nd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. ISBN icmsf-isbn-0-306-48675-x.
- [58] FARNWORTH, Edward R. c2008. *Handbook of fermented functional foods*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. Functional foods & nutraceuticals series. ISBN 978-1-4200-5326-5.
- [59] Belén Carbonetto, Johan Ramsayer, Thibault Nidelet, Judith Legrandová a Delphine Sicardová. 2018. Bakery yeasts, a new model for studies in ecology and evolution. *Yeast* [online]. Wiley, **2018**(35): 591-603 [cit. 2019-05-04]. ISSN 0749-503X. Dostupné na internetových stránkách: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1002/yea.3350>
- [60] Ulrich Schlemmer, Wenche Frølich, Rafel M. Prieto A Traviny, F. *Phytate in foods and significance for humans: Food sources, intake, processing, bioavailability, pro-*

- tective role and analysis* [online]. (53) [cit. 2019-05-08]. DOI: 10.1002/mnfr.200900099. Dostupné na internete: <https://onlinelibrary-wiley-com.proxy.k.utb.cz/doi/abs/10.1002/mnfr.200900099>
- [61] *Fytová kyselina* [online]. [cit. 2019-05-05]. Dostupné na internete: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76776.aspx>
- [62] BENEŠOVÁ, Karolína, Sylvie BĚLÁKOVÁ, Renata MIKULÍKOVÁ a Zdeněk SVOBODA. Survey of the analytical methods for the phytic acid determination. *Kvasny Prumysl* [online]. 2013, 59(5), 127-133 [cit. 2019-05-03]. DOI: 10.18832/kp2013013. ISSN 00235830. Dostupné z: <http://kvasnyprumysl.cz/doi/10.18832/kp2013013.html>
- [63] Hanne Rosenkvist a Åse Hansen. 1995. Contamination profiles and characterisation of *Bacillus* species in wheat bread and raw materials for bread production. *International Journal of Food Microbiology* [online]. (3): 353-363 [cit. 2019-05-11]. Dostupné na internete: [http://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)00147-X](http://doi.org/10.1016/0168-1605(94)00147-X)
- [64] SU, Xueqian, Fengfeng WU, Yuqing ZHANG, Na YANG, Feng CHEN, Zhengyu JIN a Xueming XU. Effect of organic acids on bread quality improvement. *Food Chemistry* [online]. 2019, 278, 267-275 [cit. 2019-05-20]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.11.011. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814618319435>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

DDD	Desinfekce, desinsekce, deratizace
CPM	Celkový počet mikroorganismů
MO	Mikroorganismy
HACCP	Systém kritických kontrolních bodů
PP	Potravinářský podnik
KOLI	Koliformní bakterie
BMK	Bakterie mléčného kvašení



## SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obr.1. Růstová křivka bakterií (upraveno dle [47]).

Tab. 1. Základní procentuální zastoupení nejdůležitějších složek v sušině mouky [5].

Tab. 2. Příloha č. 9 k Vyhlášce č.333/1997 Sb. [1].

Tab. 3. Seznam povinných informací uváděných na obalu potravin [31].

Tab. 4. Kritický kontrolní bod (CCP1) u výroby chleba (upraveno dle zdroje [40]).

Tab. 5. Minimální, optimální a maximální pH pro růst některých MO. [7].

Tab. 6. Rozdělení mikroorganismů podle vztahu k teplotě [45].

Tab. 7. Normy k vyhodnocení jednotlivých analýz.

Tab. 8. Mikrobiologická analýza výrobních surovin.

Tab. 9. Mikrobiologická analýza chlebů A a B.

Tab. 10. Hodnoty pH a titrační kyselost pro oba vzorky chleba během 7 dnů.