

Vliv obsahu tuku na proteolytickou aktivitu čistých mlékařských kultur během zrání sýrů

Bc. Nikola Křišťálová

Diplomová práce
2017



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Nikola Křišťálová**
Osobní číslo: **T14424**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie potravin**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Vliv obsahu tuku na proteolytickou aktivitu čistých mlékařských kultur během zrání sýrů**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakterizujte mléčné proteiny a tuk a jejich význam ve výživě člověka.
2. Stručně popište výrobu polotvrdých a tvrdých sýrů.
3. Charakterizujte zrání sýrů se zaměřením na proteolýzu.
4. Popište faktory ovlivňující funkční vlastnosti sýrů.

II. Praktická část

1. Vytvořte modelové vzorky sýrů lišící se obsahem tuku.
2. Založte skladovací experiment s vyrobenými modelovými sýry.
3. Porovnejte změny vybraných vlastností modelových vzorků v průběhu jejich zrání.
4. Vyhodnoťte výsledky experimentu, diskutujte je s literaturou a vyvoďte závěry.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] GUNASEKARAN, Sundaram a M AK. Cheese rheology and texture. BocaRaton, FL: CRC Press, 2003, 437 p. ISBN 1587160218.

[2] LAW, Barry A aA TAMIME. Technology ofcheesemaking. 2nd ed. Malden, MA: Blackwell, 2010, xxv, 482 p. ISBN 9781405182980.

[3] HICKEY, C.D., M.A.E. AUTY, M.G. WILKINSON, J.J. SHEEHAN, P.L.H. MCSWEENEY a P MCSWEENEY. The influence of cheese manufactureparameters on cheese microstructure, microbiallocalisation and theirinteractionsduringripening: A review. Trends in Food Science. 2015, 41(2): 1–25. DOI: 10.1201/9781439824597.ch1.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Vendula Pachlová, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **3. února 2017**

Termín odevzdání diplomové práce: **28. dubna 2017**

Ve Zlíně dne 3. února 2017



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně

.....

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá vlivem obsahu tuku na proteolytickou aktivitu čistých mlékařských kultur a změny vlastností sýrů holandského typu během zrání. Byly vyrobeny 4 modelové vzorky sýrů holandského typu o dvou různých tučnostech za použití dvou různých sýrařských kultur s odlišným složením. V průběhu 84 dnů byl sledován vliv obsahu tuku a použité kultury na pH, obsah sušiny, obsah soli, množství volných aminokyselin a texturní vlastnosti. Výsledky obsahu volných aminokyselin poukázaly na to, že intenzita proteolýzy byla nejvyšší u sýrů s nižším obsahem tuku v sušině. Texturní vlastnosti modelových sýrů byly ovlivněny zejména obsahem tuku v sušině. Rovněž byly pozorovány rozdíly ve sledovaných parametrech u modelových sýrů vyrobených s odlišnou kulturou.

Klíčová slova: sýr holandského typu, proteolýza, obsah tuku, kultury

ABSTRACT

This thesis analyses the influence of fat content on the proteolytic activity of dairy starter cultures and the changes occurring during the ripening period with regard to the Dutch-type cheese. Using various cheese cultures with different compositions, four model samples of the Dutch-type cheese had been made with two different fat contents. Over the period of 84 days, the influence of the fat content and the selected culture on pH, dry matter content, salt content, the quantity of free amino acids, and texture properties was observed. The resulting values concerning the content of free amino acids proved that the cheeses with low fat content in the dry matter reached the greatest intensity of proteolysis. The texture properties of the model cheeses were affected particularly by the fat content in the dry matter. Furthermore, the research deals with the differences in the observed parameters regarding the model cheeses made with various cultures.

Keywords: Dutch-type cheese, proteolysis, fat content, cultures

Chtěla bych vyjádřit své poděkování doc. Ing. Vendule Pachlové, Ph.D. za odborné vedení této diplomové práce a za její velice cenné profesionální rady, které mi byly velkým přínosem. Nemalý dík patří také Ing. et Ing. Ludmile Zálešákové za její ochotu a pomoc při práci v laboratoři. Dále bych chtěla poděkovat své rodině za podporu a pomoc při studiu.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 ZÁKLADNÍ SLOŽKY MLÉKA	12
1.1 MLÉČNÉ PROTEINY	12
1.2 MLÉČNÝ TUK	14
2 VÝROBA SÝRŮ S NÍZKODOHŘÍVANOU SÝŘENINOU	18
2.1 OŠETŘENÍ MLÉKA PŘED VÝROBOU SÝRŮ	18
2.1.1 Odstředování mléka a standardizace obsahu tuku	19
2.1.2 Pasterace mléka	20
2.2 INOKULACE MLÉKA	20
2.3 SÝŘENÍ MLÉKA	21
2.4 ZPRACOVÁNÍ SÝŘENINY	22
2.5 FORMOVÁNÍ A LISOVÁNÍ SÝŘENINY	23
2.6 SOLENÍ SÝRŮ	23
3 ZRÁNÍ SÝRŮ	25
3.1 MIKROBIÁLNÍ ZMĚNY	25
3.2 METABOLIZMUS LAKTÓZY, LAKTÁTU A CITRÁTU	25
3.3 PROTEOLÝZA.....	26
3.4 KATABOLIZMUS AMINOKYSELIN	29
3.5 LIPOLÝZA A METABOLIZMUS VOLNÝCH MASTNÝCH KYSELIN.....	30
4 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VLASTNOSTI SÝRŮ	32
4.1 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ ZRÁNÍ SÝRŮ	32
4.1.1 Chemické faktory	32
4.1.2 Fyzikální faktory	33
4.2 ZMĚNA FUNKČNÍCH VLASTNOSTÍ.....	37
II PRAKTICKÁ ČÁST	39
5 CÍL PRÁCE	40
6 METODIKA	41
6.1 MATERIÁL	41
6.2 VÝROBA SÝRŮ HOLANDSKÉHO TYPU	42
6.2.1 Příprava před výrobou	42
6.2.2 Základní ošetření a úprava mléka	42
6.2.3 Sýření mléka a zpracování sýřeniny	42
6.2.4 Solení a balení sýrů	43
6.3 ZÁKLADNÍ CHEMICKÁ ANALÝZA	43
6.3.1 Stanovení obsahu sušiny	43
6.3.2 Stanovení obsahu tuku	44
6.3.3 Stanovení pH	45
6.3.4 Stanovení obsahu soli.....	45
6.3.5 Texturní profilová analýza	45
6.3.6 Stanovení obsahu volných aminokyselin	46

7	VÝSLEDKY A DISKUZE	48
7.1	ZÁKLADNÍ CHEMICKÁ ANALÝZA	48
7.2	STANOVENÍ OBSAHU VOLNÝCH AMINOKYSELIN	52
7.3	TEXTURNÍ PROFILOVÁ ANALÝZA	54
8	ZÁVĚR	59
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	60
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	70
	SEZNAM OBRÁZKŮ	71
	SEZNAM TABULEK	72

ÚVOD

Sýry holandského typu patří v České republice mezi nejoblíbenější skupinu přírodních sýrů. Mezi typické zástupce řadíme například Eidam, nebo Goudu. V České republice se můžeme setkat se vzrůstajícím trendem ve spotřebě sýrů, která je srovnatelná se spotřebou v zemích Evropské Unie. Se vzrůstající poptávkou souvisí i tendence výrobců zajistit široký sortiment výrobků na trhu a nabídnout spotřebiteli výběr výrobků stejného druhu také ve variantách s odlišným obsahem tuku.

Proteolýza je jednou z nejdůležitějších fází zrání sýrů, kdy dochází k tvorbě typického aroma, chuti a textury jednotlivých druhů sýrů. Průběh proteolýzy je závislý na množství a druhu syřidla, na použité sýrařské kultuře, na aktivitě přítomných mikroorganismů (jak startérových tak non-startérových), na fyzikálně-chemických faktorech v průběhu zrání jako jsou např. obsah soli, ale také obsah tuku.

V teoretické části se diplomová práce zabývá charakteristikou základních složek mléka, výrobou sýrů holandského typu, zráním sýrů se zaměřením na proteolýzu a také faktory ovlivňující zrání sýrů. Praktická část diplomové práce spočívala ve výrobě modelových vzorků přírodních sýrů holandského typu o dvou různých tučnostech a za použití dvou různých sýrařských kultur s odlišným složením.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ZÁKLADNÍ SLOŽKY MLÉKA

1.1 Mléčné proteiny

Mléčné bílkoviny jsou nejdůležitějšími dusíkatými látkami. Zhruba 90 – 95 % dusíku v mléce je ve formě bílkovin. Obsah tzv. čistých bílkovin získáme vynásobením obsahu dusíku s Kjeldahlovým faktorem 6,38 (Walstra, Wouters a Geurts, 2005, s. 72). Množství čistých bílkovin se pohybuje v rozmezí 3,0 – 3,3 %.

Základní mléčné bílkoviny (kaseinové frakce, α -laktalbumin a β -laktoglobulin) jsou syntetizované v sekrečních buňkách. Tyto bílkoviny tvoří více než 90 % bílkovin a vyskytují se pouze v mléce. Sérový albumin a imunoglobuliny mají svůj původ v krvi.

Proteiny kravského mléka můžeme obecně rozdělit na kaseinové a syrovátkové (sérové) bílkoviny. Kaseinový komplex představuje asi 80 % čistých bílkovin a tvoří jej čtyři základní frakce – α_{s1} -kasein, α_{s2} -kasein, β -kasein, κ -kasein. Mezi syrovátkové bílkoviny řadíme α -laktalbumin, β -laktoglobulin, sérový albumin, imunoglobuliny, laktoferin, transferrin a proteózo-peptony (Janštová, Navrátilová, 2014, s. 7).

Základní rozdíl mezi kaseinovými a syrovátkovými bílkovinami je schopnost vysrážení při pH prostředí $\sim 4,6$. Sérové bílkoviny se při této hodnotě nesráží. Nedochozí k jejich vysrážení ani za působení syřidla. Naproti tomu kaseinové bílkoviny se sráží jak při pH 4,6 (tzv. kyselé srážení kaseinových bílkovin) tak i za přídavku syřidla (tzv. sladké srážení kaseinových bílkovin). Dalším rozdílem je teplotní odolnost. Sérové bílkoviny snadno denaturují účinkem vyšších teplot (již od 70°C) zejména díky jejich složité sekundární a terciární struktuře. Denurací dochází k uvolnění tiolových skupin, což má za následek vznik tzv. vařivé příchuti. Dále dochází k interakci β -laktoglobulinu s tiolovou skupinou κ -kaseinu, čímž se zhorší sýřitelnost mléka a může být ovlivněna i vaznost vody. Při ovlivnění vaznosti vody může sýřenina zadržovat vysoké množství vody, čímž se zvýší výtěžnost bílkovin při výrobě sýrů, ale je komplikované dosáhnout požadovaného obsahu sušiny. Proto se při výrobě polotvrdých a tvrdých sýrů dodržuje tzv. šetrná pasterace mléka, kdy je mléko vystaveno vysoké teplotě po krátkou dobu (72°C po dobu 15 – 30s). Naopak kaseinové bílkoviny jsou vzhledem k nízkému zastoupení molekul v sekundárních a terciárních strukturách vůči tepelnému záhřevu relativně odolné. Toto zastoupení je způsobeno vysokým obsahem prolinu v kaseinových proteinech.

Jednotlivé frakce kaseinového komplexu se seskupují do tzv. micel. Micela může být tvořena až z 50 000 molekul kaseinů. Nejprve se frakce spojují v menší útvary tzv. submicely, které mají tvar elipsoidu (Janštová, Navrátilová, 2014, s. 7). Jak uvádí Kadlec (2002), tak ke spojování submicel dochází za pomoci fosforečnanů a citrátů vápenatých. Na povrchu se nachází submicely bohaté na κ -kasein, který se nesráží v přítomnosti vápenatých iontů. Zároveň zajišťuje stabilizaci kaseinové micely, díky svojí hydrofilní části. Kadlec (2002) dále uvádí několik faktorů, které ovlivňují stabilitu kaseinových micel. Jedná se o aktivní kyselost, teplotu, proteolýzu a aktivitu Ca^{2+} . V kyselém prostředí se snižuje negativní náboj kaseinových micel a tím i odpudivé síly. Dochází k rozpouštění koloidního fosforečnanu vápenatého, který již nedokáže stabilizovat kaseinovou micelu. Při dosažení hodnoty pH 4,6 (izoelektrický bod kaseinu) dojde k vysrážení mléka, čehož se využívá zejména při výrobě kysaných mléčných výrobků a tvarohu. Při snížení teploty pod 10 °C dochází ke zmenšování kaseinových micel vlivem přechodu β -kaseinu do mléčného séra. Naopak při tepelném záhřevu se kaseinové micely zvětšují, čímž se jejich hydratační obal zmenšuje a snadněji dojde k vysrážení kaseinových micel v důsledku zhoršené stability. K proteolýze κ -kaseinové frakce dochází po přidavku syřidlových enzymů chymozinu. Chymozin se získává ze žaludku sajících telat, extrakcí z mikroorganismů, nebo se jedná o geneticky modifikované mikroorganismy. Chymozin rozštěpí κ -kaseinovou frakci mezi 105. a 106. aminokyselinou za vzniku hydrofobního para- κ -kaseinu, který zůstává ve sraženině a hydrofilního κ -kaseinmakropeptidu, který odchází do syrovátky. Kaseinová micela ztrácí stabilizační vrstvu a dochází ke spojování destabilizovaných kaseinových micel pomocí vápenatých iontů nejprve do řetízků a následně do trojrozměrné struktury. Pro snadné vysrážení kaseinových micel je tedy důležitá vysoká aktivita Ca^{2+} . Po vytvoření gelu je důležitá jeho stabilizace, tzv. synereze. Jedná se o znásobování vazeb (např. hydrofobní interakce, vodíkové můstky) mezi kaseinovými micelami, kterého se dosahuje zvýšením teploty, pokračováním a mícháním sraženiny a snížením pH. Zároveň dochází k odnímání syrovátky.

Mléčné proteiny mohou být považovány za jeden z vhodných zdrojů bílkovin zejména díky svému zastoupení esenciálních aminokyselin. Na druhou stranu mléčné bílkoviny obvykle obsahují velké množství tuku s nasycenými mastnými kyselinami. Proto je při racionálně sestaveném jídelníčku vhodnější volit polotučné varianty jednotlivých výrobků (Klimešová, 2013, s. 86). Kasein je ve srovnání se syrovátkovými bílkovinami z hlediska zastoupení esenciálních aminokyselin (zejména lysinu) hodnotnější bílkovinou. Má ovšem nižší biologickou hodnotu než syrovátkové bílkoviny, protože je deficitní na sirnou amino-

kyselinu cystein (Navrátilová, 2012, s. 119). Kasein je také důležitým nosičem vápníku a fosforu. Tyto látky jsou důležité pro svalový růst, regeneraci, kvalitu kostí a pojivových tkání. Experimentální studie také poukázaly na možný pozitivní účinek související s podporou střevní motility. Kasein je tráven v organismu velmi pomalu. Po konzumaci vytváří v žaludku formu gelu a je tráven 5 – 7 hodin. Proto může sloužit jako dlouhotrvající zdroj aminokyselin a peptidů. Naopak syrovátkové bílkoviny jsou rychleji stravitelné, již během několika hodin.

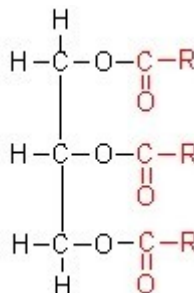
Mohammad Talaei (2017) ve své studii uvádí, že u lidí, kteří denně pili mléko, je mnohem nižší riziko vzniku hypertenze, což spojuje s vyšším příjmem vápníku. Mezi další bioaktivní látky můžeme zařadit laktoferin, který je významný pro vstřebávání železa a vyznačuje se antioxidačními a antikarcinogenními účinky.

Mezi možná negativa patří alergie na mléčnou bílkovinu. Jedná se o abnormální odpověď organismu zprostředkovanou imunitním systémem. Vyskytuje se zejména u dětí v prevalenci 2 % – 7,5 % a projevuje se anafylaktickým šokem, kožními problémy, otoky, dýchacími potížemi atd. (Pereira, 2014, s. 619 – 627). V případě, že se nejedná o reakci imunitního systému, ale o nedostatečnost enzymu laktázy hovoříme o laktóзовé intoleranci. Laktáza není schopna rozštěpit laktózu na glukózu a galaktózu a nerozštěpená laktóza přechází do tenkého střeva, kde způsobuje pocity nadýmání a tlaku. Dalšími příznaky jsou vodnaté průjmy, zácpa, nevolnost a zvracení.

1.2 Mléčný tuk

Lipidy jsou estery mastných kyselin s nejméně 4 atomy uhlíku. Jsou rozpustné v nepolárních organických rozpouštědlech a nerozpustné ve vodě. Kravské mléko obsahuje přibližně 3,7 % lipidů (Law a Tamime, 2010, s. 8). Zegarska (2002) uvádí, že obsah lipidů v mléce je závislý na mnoha faktorech, mezi něž patří genetika, složení krmiva, fáze laktace a klimatické podmínky. Více než 98 % mléčného tuku tvoří triacylglyceroly, které se podílejí na chuti mléka a snadné stravitelnosti mléčného tuku. Dále se vyskytují tzv. „minoritní lipidy“, mezi které řadíme diacylglyceroly, monoacylglyceroly, volné mastné kyseliny (VMK), fosfolipidy, cholesterol a estery cholesterolu (Forman, 1996). Běžný obsah volných mastných kyselin v mléčném tuku je v rozmezí 0,5 – 1,2 mmol.100 g⁻¹. Zvýšené koncentrace VMK vedou ke zhoršení technologických vlastností a tvorbě nahořklé pachuté mléka (Hanus, 2011). V mléčném tuku se vyskytuje také beta-karoten (prekurzor vitamínu

A). Triacylglyceroly (Obrázek 1) obsahují trojsytný alkohol, na který jsou estericky navázány tři mastné kyseliny (Walstra, Wouters a Geurts, 2005, s. 37).

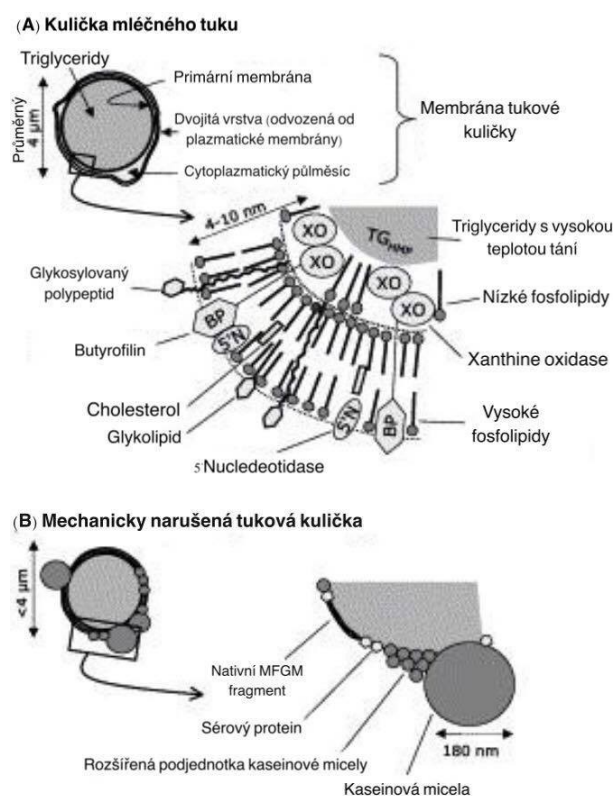


Obrázek 1 - Obecný vzorec triacylglycerolu. Dostupné z: <https://goo.gl/x5XRYZ>

„Mléčný tuk obsahuje v průměru 70 % nasycených mastných kyselin, 25 % mononenasyčených mastných kyselin a 5 % polynenasycených mastných kyselin“ (Zhao at al., 2013). Law a Tamime (2010) uvádí, že mezi hlavní mastné kyseliny s delším řetězcem patří kyselina palmitová (C16:0), kyselina olejová (C18:0) a kyselina myristová (C14:0). Naopak mastné kyseliny s kratším řetězcem se vyskytují v menším množství. Tyto kyseliny se podílejí na typické pikantní chuti tvrdých italských sýrů (např. parmezán).

Lipidy se v mléce vyskytují jako mikroskopické kuličky ve formě emulze olej ve vodě. Na rozhraní mezi kuličkami a mléčnou plazmou se nachází membrána (milk fat globule membrane, MFGM). Membrána (Obrázek 2) je tvořena z řady polárních lipidů, cholesterolu a membránových specifických proteinů. Z konstrukčního hlediska se jedná o protein-fosfolipidovou trojvrstvou tvořenou fosfolipidovou monovrstvou v kontaktu s triacylglyceroly pocházející z endoplazmatického retikula a fosfolipidové dvojvrstvy pocházející ze specializovaných oblastí apikální plazmatické membrány. Hlavními polárními lipidy jsou fosfatydlcholin, fosfatydyletanolamin a sfingomyelin. Kvantitativně méně zastoupeny jsou fosfatydylinositol a fosfatydylserin. MFGM stabilizuje tuk proti koalescenci, oddělování fází a chrání triacylglyceroly před působením lipolytických enzymů. Během zpracování mléka může dojít k poškození membrány. (Et-Thakafy, Oumaima, Guyomarc'h a Lopez, 2017).

Podle Law a Tamime (2010) poškození membrány vede k výskytu volného tuku v mléce, lipolýze tuku účinkem lipáz, nižšímu využití mléčného tuku, zvýšené koncentraci volných mastných kyselin a nežádoucím příchutím zejména u některých druhů sýrů (ementál, gouda, čedar). U posledního druhu sýru je pro dosažení požadované chuti důležitá nižší koncentrace volných mastných kyselin. Law a Tamime (2010) mimo jiné také uvádí, že pokud dojde během výroby sýrů k použití homogenizace, dochází k fyzickému narušení MFGM. Homogenizací dochází ke zmenšování průměru tukových kuliček, což má za následek vznik až tisíců nových kuliček z jedné původní. Povrch nových kuliček je mnohonásobně větší a je zapotřebí jej pokrýt novou membránou, která je tvořena z kaseinu a dalších bílkovin. Homogenizací se může narušit integrita kaseinových micel, ty se navážou na tukové kuličky. Tento proces vede k zhoršení syřitelnosti a zadržování syrovátky v sýřeniny. Homogenizace je tedy v případě výroby tvrdých sýrů nežádoucí.



Obrázek 2 - Membrána tukových kuliček. Dostupné z:

<http://drcate.com/raw-milk-why-mess-with-udder-perfection/>.

Janštová (2012) také uvádí základní vlastnosti mléčného tuku. Jedná se o bod tání, který by se měl pohybovat v rozmezí 28 – 35 °C, hodnota bodu tuhnutí by měla být v rozmezí 19 – 26 °C. Tyto hodnoty jsou ovlivněny zastoupení triacylglycerolů v mléce. Dále se jedná o měrnou hmotnost mléčného tuku, která je výrazně nižší než je tomu u mléka a činí 930 kg.m⁻³.

Při konzumaci mléka a mléčných výrobků s vysokým obsahem tuku je možným rizikem vznik srdečního onemocnění díky zastoupení nasycených mastných kyselin. Ty mohou způsobit zvýšení hladiny celkového cholesterolu a lipoproteinů s nízkou hustotou (Pereira, 2014, s. 619 – 627). Lipoproteiny s nízkou hustotou, označované jako LDL (low density lipoprotein) se podílejí na transportu cholesterolu do periferie, kde způsobují usazování nadbytečného cholesterolu ve stěnách cév a tvoří se tzv. sklerotické pláty. Tento proces se označuje jako ateroskleróza (kornatění tepen). Vysoká nasycenost mléčného tuku je metabolicky výhodná z hlediska dětské populace, pro dospělou populaci představuje riziko. Možným řešením je konzumace mléka a mléčných produktů se sníženým obsahem tuku v sušině. Bohužel však nebylo uspokojivě opsáno, k jaké intenzitě zrání u těchto sýrů dochází, což má také přímý vliv na organoleptické vlastnosti. Obecně se v případě mléka doporučuje obsah tuku v sušině maximálně 1,5 % a v případě sýrů jde o 20 % - 30 % tuku v sušině. Tyto zásady je nutné dodržovat u osob s kardiovaskulárním onemocněním, se zvýšenými hodnotami cholesterolu i u osob, které redukují váhu. López-Expósito (2012) uvádí mezi negativní účinky na kardiovaskulární systém i zvýšený obsah soli v případě některých sýrů. Zároveň bylo prokázáno, že nižší pH, mastné kyseliny s krátkým řetězcem a vitamin D snižují proliferaci kolonocytů v tlustém střevě a tím se podílí na prevenci karcinomu tlustého střeva (Navrátilová, 2012, s. 121).

2 VÝROBA SÝRŮ S NÍZKODOHŘÍVANOU SÝŘENINOU

Základní surovinou pro výrobu sýrů je u nás používáno kravské mléko. Pro výrobu kvalitních produktů je zapotřebí kvalitních vstupních surovin. Pro výrobu sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou musí mléko splňovat požadavky I. jakostní třídy, tzn. vyznačovat se dobrou kysací schopností a sýřitelností. Na výtěžnost výroby má zásadní vliv chemické složení mléka. Poměr tuku a kaseinu je rozhodující pro výsledný obsah tuku v sušině. Sýřitelnost je ovlivněna přítomností vápenatých iontů a genotypem dojnice. Pojem kysací schopnost mléka představuje souhrn vlastností, na kterých závisí aktivita bakterií mléčného kvašení, pro které je mléko základním zdrojem substrátu pro výživu. Celková kyselost mléka by měla být maximálně 7,6 SH (Kadlec, 2002, str. 63). Kyselost podle Soxhlet-Henkela (SH) udává počet mililitrů odměrného roztoku Na-OH potřebných k neutralizaci 100 ml mléka za přídavku fenolftaleinu jako indikátoru. Samozřejmostí je hygienická a zdravotní nezávadnost mléka. Ta je hodnocena podle celkového počtu mikroorganismů a počtu somatických buněk. Požadavky na jakost syrového mléka jsou dány Nařízením Evropského parlamentu a Rady č. 853/2004. Počet somatických buněk musí být $\leq 400\,000$ v 1 ml syrového kravského mléka a hodnota počtu mikroorganismů stanovených při 30 °C nesmí přesáhnout $\leq 100\,000$ KTJ v 1 ml. Dále se nesmí vyskytovat větší množství plynotvorných, peptonizačních a sporotvorných mikroorganismů. Při výrobě sýrů se jeví jako nejzávažnější sporotvorné mikroorganismy, které způsobují pozdní duření u délezrajících sýrů.

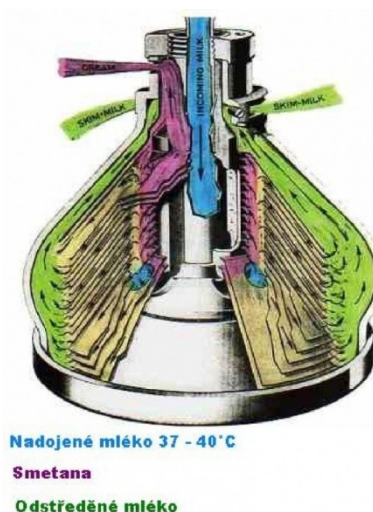
2.1 Ošetření mléka před výrobou sýrů

Mezi základní operace ošetření mléka před výrobou sýrů patří filtrace a centrifugace, kterými se odstraňují případné mechanické nečistoty. Dále se využívá termizace, baktofugace, mikrofiltrace, přídavek dusičnanu draselného, chloridu vápenatého, lysozymu a dalších antibakteriálních látek, které ovlivňují mikroflóru a enzymy. Termizací rozumíme tepelné ošetření mléka při teplotách 57 – 68 °C po dobu nejméně 15 sekund, které slouží k prodloužení trvanlivosti mléka. Baktofugace a mikrofiltrace se používá pro redukci počtu mikroorganismů. Baktofugace využívá odstředivých sil a při mikrofiltraci dochází k separaci složek přes membránu s obvyklou velikostí póru kolem 1 μm . Dusičnan draselný se přidává do mléka pro výrobu sýrů z důvodu zabránění duření sýrů, které mohou vyvolat koliformní mikroorganismy. Obvykle se přidává v množství 15g na 100kg mléka. Chlorid vápenatý obecně zlepšuje sýřitelnost a zvyšuje pevnost vzniklého gelu. Zabezpe-

čuje dostatečné množství Ca^{2+} důležité pro vytvoření gelu. Přidává se v množství 5 – 20 g na 100 kg mléka. Lysozym je enzym vyskytující se například ve vaječném bílku se schopností narušovat bakteriální stěnu grampozitivních bakterií. Stěna gramnegativních bakterií může být narušena lysozymem, pokud je například mechanicky narušená. Má tedy antibakteriální účinky (Kadlec, 2002, str. 64). Pro zlepšení barvy sýrů je možné přidat barviva. Nejčastěji se používá karoten E106a a paprikový extrakt, obě barviva se přidávají dle potřeby. Zbarvovat můžeme i barvivem annato E106b v maximálním množství 15 mg/kg (Nařízení 1333/2008, 2016, s. 68).

2.1.1 Odstředování mléka a standardizace obsahu tuku

Hlavním cílem odstředování je získání odstředěného mléka s obsahem tuku kolem 0,05 % a smetany s tučností 35 – 45 %. Proces probíhá na odsmetaňovacích odstředivkách (Obrázek 3).



Obrázek 3 - Odsmetaňovací odstředivka (Bylund, 1995)

Při odstředování dochází vlivem rotačního pohybu bubnu odstředivky k oddělení jednotlivých složek vlivem odstředivé síly, kdy složka s vyšší hustotou (odstředěné mléko) protéká směrem ke stěně a složka s nižší hustotou (smetana) je vytlačována směrem do středu bubnu a následně do výtokového zařízení pro smetanu (Buňka, Pachlová, Černíková a Buňková, 2013, s. 138 - 141). Pro výrobu jednotlivých druhů sýru je požadovaná různá tučnost a různý obsah sušiny. Například při výrobě sýru eidamského typu s obsahem 45 % tuku v sušině je průměrná tučnost mléka 2,7 – 3,0 %, u druhů s obsahem 30 % tuku v sušině je

průměrná tučnost 1,5 – 1,7 % (Tomšíková, 2011, str. 19). Tučnost mléka se upravuje procesem standardizace obsahu tuku. Jedná se o smísení odstředěného mléka s mlékem o vyšším obsahu tuku, nebo smetanou v požadovaném poměru. Kromě standardizace obsahu tuku je možné provádět i standardizaci obsahu bílkovin přidávkem kaseinátů, nebo pomocí membránových separačních procesů. Standardizace probíhá kontinuálně za odstředivkou (Forman, 1994, str. 114 – 118).

2.1.2 Pasterace mléka

Tepelné ošetření mléka se podle Law a Tamime (2010) používá ze dvou zásadních důvodů. Jedná se o kontrolu mikroflóry redukcí mikroorganismů a tím zajištění zdravotní nezávadnosti a prodloužení trvanlivosti a také pro zvýšení výtěžnosti výroby. Pro výrobu sýrů je možné použít také nepasterizované mléko, u kterého je však požadovaná důsledná veterinární kontrola. Nejčastěji se využívá šetrná pasterace mléka v kontinuální lince při teplotách 72 – 75 °C po dobu 15 – 20 sekund. Mezi výhody šetrné pasterace patří minimální vliv na tepelně labilní složky mléka a enzymů, minimální ovlivnění senzoryckých a technologických vlastností mléka a minimální přechod rozpustného vápníku na nerozpustné formy. Zároveň dochází k inaktivaci alkalické fosfatázy, která je důležitým ukazatelem správného průběhu pasterace. Po pasteraci dochází k ochlazení na inokulační a sýřící teplotu (Buňka, Pachlová, Černíková a Buňková, 2013, s. 119).

2.2 Inokulace mléka

Čisté mlékařské kultury (ČMK) můžeme popsat jako specifické bakterie mléčného kvašení, které jsou používány k inokulaci mléka a svojí metabolickou činností vytvářejí specifické produkty. ČMK aplikované do mléka za účelem přeměny substrátu na metabolity se označují jako starterové kultury. Produkují látky, které ovlivňují chuť, vůni a aroma. Zkvašováním laktózy na kyselinu mléčnou zároveň snižují kyselost, což může mít i konzervační účinek (Bylund, 1995, s. 233). Inokulace může probíhat různými způsoby. Tradičně se používaly tekuté zákysy, které se musely před inokulací v několika krocích pomnožovat pro získání tzv. provozního zákysu. Při tomto způsobu je vysoké riziko pomnožení bakterií a kontaminace kultur. V současnosti se nejvíce používají kultury zmrazené nebo lyofilizované pro přímé zaočkování (Donnelly, 2014). Při výrobě sýrů s nízkodohřivanou sýřeninou se mléko v deskovém výměníku ohřeje na teplotu sýření 30 – 35 °C. Nejčastěji se využívá mezofilní kultura (tzv. primární kultura), kde se nejčastěji uplatňují bakterie

z rodu *Lactococcus* a *Leuconostoc*. Kultura se očkuje v množství přibližně 0,5 - 2 % a následně se důkladně promíchá. Je možné také využít tzv. předezrání, kdy se mléko po pasteuraci ochladí na 5 – 12 °C a zaočkuje se 0,01 – 0,05 % mezofilní kultury. Takto zaočkované mléko se nechá zrát do druhého dne. Předezráním se obnoví fyzikálně chemické a mikrobiologické vlastnosti mléka (Kadlec, 2002, s. 65).

2.3 Sýření mléka

Cílem sýření je získání sraženiny po aplikaci syřidel. Mezi nejvýznamnější syřidla patří chymozin, který se získává extrakcí a purifikací ze žaludků sajících telat. Zejména kvůli nedostatku chymozinu se stále častěji používají například mikrobiální syřidla, nebo hovězí a vepřový pepsin (Janštová, 2014, s. 97). Důležitým faktorem je stanovení síly syřidla. Ta se vyjadřuje v Soxhletových jednotkách. Síla syřidla vyjadřuje počet gramů syrového mléka, které je sraženo 1 gramem syřidla během 40 minut při teplotě 35 °C. Jedná se o dobu, kdy dojde k vytvoření prvních malých shluků. Koncentrace kyseliny mléčné stoupá vlivem metabolismu bakterií, zároveň se snižuje pH a klesá účinnost syřidla. Při nižší hodnotě pH je inaktivace chymozinu účinnější (Walstra, 2005). Během sýření je důležitá vhodně zvolená teplota. Pro výrobu sýrů holandského typu se sýří při teplotě 30 – 33 °C. Sýření trvá zhruba 35 minut. Pro výrobu tvrdých sýrů se volí vyšší dávky syřidla v rozmezí 28 – 35 ml na 100 ml mléka. Proces sýření rozdělujeme na primární, sekundární a terciální fázi.

- **Primární – enzymatická fáze** – působením syřidla je hydrolyzováno 80 – 90 % κ -kaseinu. Dochází k specifické proteolýze rozštěpením vazby Phe – Met (105. a 106. aminokyselinou). Hydrolýzou vzniká para- κ -kasein a glykomakropeptid čímž κ -kasein ztrácí funkci ochranného koloidu β -kaseinu proti vysrážení volnými vápenatými ionty mléčného séra. Dochází ke snižování viskozity mléka a tvorbě nových micelárních útvarů.

- **Sekundární – koagulační fáze** – v této fázi se dokončuje trojrozměrná struktura gelu. Průběh sekundární fáze je možný pouze v přítomnosti volných vápenatých iontů, které snižují negativní náboj micel a tím zrychlují shlukování destabilizovaných micel. Proces pokračuje synerezí, při které dochází ke smršťování gelu sýřeniny za současného uvolňování syrovátky. Řízením koagulace mléka syřidlem se ovlivňuje tuhost sýřeniny, rychlost reakce a tím i obsah a vazba vody v sýrovém zrně.

- **Terciální – proteolytická fáze** – zde pokračuje proteolýza kaseinu účinkem zbytkové aktivity syřidlových enzymů. Průběh syření je ovlivněn teplotou, koncentrací syřidlových enzymů a kyselostí mléka (Janštová, 2014, s. 97).

2.4 Zpracování sýřeniny

Zpracováním sraženiny dochází k vytvoření sýrových zrn a odloučení potřebného množství syrovátky ze struktury gelu. Množství syrovátky v sýřenině je důležité pro následující proces zrání zrna, protože se v ní nacházejí základní složky mléka sloužící jako substrát pro mikroorganismy. K dosažení požadované kvality jednotlivých druhů sýrů je velmi důležitý časový harmonogram a teplota zpracování. Sled operací je tvořen pokrácením, mícháním, odpouštěním syrovátky, praním sýrového zrna a dosoušením. Ke krájení se používají ocelové nože a struny v rámu, tzv. harfy (Hrabě, 2006, s. 30-35).

- **Krájení** – první krok zpracování sýřeniny. Mělo by být opatrné, aby nedošlo k tvorbě velmi drobných částecek, které by mohly uniknout do syrovátky (tzv. sýrašský prach). Postupně se zvyšují otáčky a sýřenina je zmenšovaná na požadovanou velikost sýrových zrn. Pro výrobu tvrdých sýrů se používají drobnější zrna, které zadrží méně syrovátky.

- **Vytužování** – zrna se provádí mícháním sýrašských zrn v syrovátce. Důležité je, aby zrna nesedimentovala a nedošlo k jejich slepení. Tím by mohlo dojít ke vzniku tzv. hnízd (míst, kde je zadržovaná syrovátka). Vytužováním je podpořen proces synereze (Kadlec, 2009, s. 275 – 289).

- **Odpouštění syrovátky** – se provádí potrubím přes síto buď bez míchání, nebo za pomalého míchání. Množství odpuštěné syrovátky je závislé na tučnosti sýrů, požadované konzistenci a kyselosti.

- **Praní sýrového zrna** – se provádí přidavkem teplé vody za stálého míchání. Teplou vodou se zrno zahřívá na dosoušecí teplotu a zároveň dochází k poklesu obsahu laktosy (Donnelly, 2014). Snížená koncentrace laktosy způsobuje pokles pH na hodnotu 5,2 – 5,4, jinak by pokles pokračoval na hodnoty 4,6 – 4,8. Obvykle se odpouští 35 % syrovátky a dopouští se 50 – 80 % jejího objemu vodou o teplotě 50 – 60 °C. Přídavek teplé vody by měl být pozvolný, aby nedošlo k zadržení syrovátky pod pokožkou zrn (Kadlec, 2002, s. 67).

- **Dohřívání** - zrna vede ke zvýšení teploty na teplotu dosoušení. Ta je pro sýry holandského typu s nízkodohřívanou sýřeninou v rozmezí 36 – 42 °C. U nízkodohřívaných sýrů s

obsahem tuku v sušině 45 % je teplota dosoušení 36 – 37 °C a u sýrů s obsahem tuku v sušině 30 % je teplota dosoušení 39 – 40 °C. Dohřívání se může také provádět přes plášť výrobce. Správně dosušené sýrové zrno se nelepí a rozpadá se zpět na jednotlivá zrna (Kadlec, 2009, s. 275 – 289).

2.5 Formování a lisování sýřeniny

Formováním dochází k oddělení syrovátky od zrna a získává se finální tvar a velikost. Ze zrnité struktury se vytváří kompaktní blok. Formování začíná vypouštěním sýrových zrn do lisovacích van, kde je důležité rovnoměrné rozložení zrn. Používají se kovové vany z nerezavějící oceli, hliník, nebo plasty umožňující odtok syrovátky (Drdák et al., 1996, s. 329). Doba a tlaky lisování se liší u jednotlivých druhů sýrů. Tlak při lisování by měl být pozvolný, aby nedošlo k vytvoření příliš silné kůrky, která by bránila odtoku syrovátky. Postupně se tlaky zvyšují a vytváří se pevnější kůrka, která je zároveň bariérou pro vstup mikroorganismů. Využívají se tlaky od 0,005 do 0,04 MPa. Získaná syrovátka se nejčastěji zahušťuje a suší (Janštová, 2014, s. 100).

2.6 Solení sýrů

Solení řadíme mezi nezbytné operace při výrobě sýrů. Solení nemá vliv pouze na výslednou chuť, ale významně ovlivňuje aktivitu enzymů a kultur při zrání sýrů. Způsobuje zvýšení osmotického tlaku mezi zrny a působením na bílkoviny se zvyšuje množství uvolněné syrovátky. Má vliv na zpevnění povrchu sýrů a výměnou vápenatých iontů za sodíkové dochází ke zjemnění konzistence sýrů. Distribuce soli se uskutečňuje difuzí. V případě výroby sýrů holandského typu se obsahu soli pohybuje v rozmezí 1,5 – 3 %. Sýry mohou být soleny několika způsoby, které je možné vzájemně kombinovat.

- **Solení ponořením do solné lázně** – koncentrace solné lázně se pohybuje v rozmezí 18 – 22 %. Hodnota pH solné lázně by měla být totožná s pH soleného sýra. Tedy v rozmezí 4,8 – 5,4. Sýry s vysokým pH absorbují méně soli, sýry budou příliš měkké; u sýrů s nízkým pH bude konzistence tuhá a křehká. Teplota lázně je udržována kolem 12 – 22 °C.

- **Povrchové vtírání soli** – roztírá se suchá sůl, nebo kaše do povrchu formovaných sýrů.

- **Solení do zrna** – jedná se o přímé přidání soli do rozkrájené sýřeniny před formováním.

- **Solení do mléka** – jedná se o aplikaci soli do mléka ještě před přidáním syřidla (Guinee, 2004).

Po vysolení se sýr ponechá 1 – 2 dny oschnout. Následně se nebalené, nebo balené sýry dopraví do zracích sklepů (Anděl, 2012, s. 24). V případě balených sýrů je zajištěna vyšší ochrana sýrů v porovnání s nebalenými. Zabraňuje proniknutí nežádoucím účinkům z okolí do výrobku (zejména proniknutí mikroorganismů a regatce vlhkosti).

3 ZRÁNÍ SÝRŮ

Zrání sýrů představuje komplexní souhrn změn způsobených syřidlovými enzymy, enzymatickou činností kultur a působením enzymů po lýze jejich buněk, případně činností nezákysových kultur, při kterých sýr získává typický vzhled, konzistenci, chuť, vůni a složení (Kadlec, 2002, s. 69). Biochemické reakce během zrání sýrů můžeme rozdělit na primární (metabolismus zbytkové laktózy, mléčnanu a citronanu, lipolýza a proteolýza) a sekundární (metabolismus volných mastných kyseliny a katabolismus volných aminokyselin).

Jednotlivé druhy sýrů se výrazně liší délkou zrání. Sýry holandského typu obvykle zrají dva až tři měsíce (McSweeney, 2014, s. 76). V současné době se ovšem objevují snahy o zkrácení tohoto procesu z důvodu snížení výrobních nákladů. Během zrání je nutné zajistit optimální teplotu, relativní vlhkost vzduchu a také hygienu veškerých prostor a vybavení.

3.1 Mikrobiální změny

Během solení mohou zákysové kultury dosáhnout hodnot přibližně $10^7 - 10^9$ KTJ/g. Jejich počet však během prvních týdnů zrání klesá, zejména kvůli nehostinnému prostředí pro mikroorganismy v přírodních sýrech. To je dáno zejména nízkým pH, relativně vysokým obsahem soli a nepřítomností zkvasitelných sacharidů. Po přibližně dvou měsících zrání již nejsou dominantní mikroflórou zákysové mikroorganismy, ale tzv. non-starterové bakterie mléčné kvašení (nezákysové mikroorganismy; NSLAB) tvořící sekundární mikroflóru. Jejich počty se na začátku zrání pohybují v množství $< 10^2$ KTJ/g a ve zralých sýrech se hodnoty zvyšují na $10^7 - 10^8$ KTJ/g. Mezi NSLAB řadíme zejména *Lactobacillus paracasei* a *Lactobacillus casei*, jejichž růst je ovlivněn teplotou zrání a rychlostí chlazení (McSweeney, 2014, s. 76 – 77). Množství starterových a také NSLAB je výrazně ovlivněno obsahem soli. Inhibiční množství soli nelze přesně určit vzhledem k tomu, že citlivost různých rodů, druhů i kmenů bakterií se výrazně liší. NSLAB jsou ale vůči zvýšenému obsahu soli tolerantnější. Uvádí se, že jsou schopna růstu i v sýru s 6 % soli (Fox, 2004).

3.2 Metabolismus laktózy, laktátu a citrátu

Laktóza v procesu výroby sýru samovolně přechází do syrovátky. Částečné množství laktózy ovšem na konci výroby zůstává v sýřenině. Takto zachycená laktóza je metabolizována bakteriemi mléčného kvašení na kyselinu mléčnou. Rozklad laktózy a s tím spojený pokles pH je velmi důležitý pro zabránění pomnožení nežádoucí sekundární mikroflóry (plísně – *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. nebo bakterie – *Pseudomonas* spp., *Bacillus*

spp., *Micrococcus* spp.) (Fox, 2004). Rozklad laktózy začíná již v průběhu zpracování sýřeniny. Nejintenzivnější je ovšem během odkapávání a lisování sýřeniny a během prvních dnů zrání vymizí úplně (Březina, Hrabě, Valášek, 2006, s. 34). Vzniklá kyselina mléčná reaguje s kaseinem, z něhož vyváže vápník za vzniku mléčnanu vápenatého a monokalciumpkaseinátu. Monokalciumpkaseinát bobtná v solném roztoku, tím se podpoří slepování sýrových zrn a vznik homogenní hmoty. Rychlost štěpení laktózy je ovlivněna zejména koncentrací soli. Již 1,5 % soli může inhibovat aktivitu starterových kultur. Z laktózy vzniklá kyselina mléčná je dále metabolizována na další produkty. Způsob rozkladu kyseliny mléčné je ovlivněn použitou kulturou. Při výrobě holandských sýrů může být část kyseliny mléčné metabolizována za vzniku kyseliny octové činností bakterií rodu *Pediococcus*. L-laktát často podléhá racemizaci působením NSLAB na DL-kyselinu mléčnou, což podporuje krystalizaci pentahydrátu mléčnanu vápenatého na povrchu sýrů. Tyto krystaly mohou být negativně vnímány spotřebitelem, a proto je jejich tvorba nežádoucí (McSweeney, 2004).

Koncentrace citronanu je mléce nízká. Většina z nich přechází při výrobě do syrovátky. Přesto se však významně podílí na tvorbě typického aroma sýrů. Některé mikroorganismy (citronan – pozitivní kmeny rodů *Lactococcus* a *Leuconostoc*) používané při výrobě sýrů holandského typu využívají citronan za vzniku důležitých sensoricky aktivních látek. Citronan je prekurzorem pro vznik acetoinu, diacetylu, 2,3-butandiolu a malé množství CO₂, který je spolupůvodcem sýrových ok v těchto sýrech (McSweeney, 2004).

Laktát, sůl kyseliny mléčné, může být oxidován na acetát, kyselinu propionovou, oxid uhličitý, vodu a jiné sloučeniny. Oxidace je závislá na přítomnosti O₂, velikosti sýra a množství kyslíku propuštěného přes obalový materiál (Fox, 2000, s. 238 - 248; Law et al., 2010, s. 238 - 239).

3.3 Proteolýza

Proteolýzu můžeme označit jako jeden z nejdůležitějších dějů probíhající během zrání, který probíhá jak anaerobně, tak aerobně. Proces proteolýzy je znázorněn na Obrázku 4 (Janštová, 2012, s. 58). Proces začíná již během výroby sýrů, pokračuje při srážení a nejintenzivnější je během zrání sýrů (Fox, 1989, s. 1379 – 1400). Během proteolýzy dochází ke štěpení proteinů za vzniku peptidů o vysoké molekulové hmotnosti (s více než 35 rezidui aminokyselin). Tyto peptidy se dále hydrolyzují na peptidy o menší molekulové hmotnosti (6 – 15 rezidui aminokyselin). Dalším rozkladem vznikají kratší peptidy, dipeptidy a ami-

nokyseliny, které mohou vstupovat do dalších biochemických reakcí a sloužit jako prekurzory vzniku sensoricky aktivních látek (Březina, Hrabě, Valášek, 2006, s. 35). Proteolýza vede kromě zvýraznění aroma k tvorbě měkčí konzistence sýra. Hydrolýzou kaseinové matrice v sýřenině a vlivem snížené hodnoty aktivity vody sýřeniny dochází k měknutí textury sýrů. Míra hydrolýzy kaseinů na peptidy určuje rozsah proteolýzy a v jednotlivých typech sýrů se liší od velmi nízké (např. Mozzarella) až po velmi rozsáhlou (např. Niva) (Fox et al., 2004). Při proteolýze vznikající peptidy, které jsou nerozpustné, se účastní tvorby výsledné textury. Oproti tomu malé peptidy (do 100 AMK), volné aminokyseliny (AMK) a degradační produkty AMK jsou lépe rozpustné a podílejí se na tvorbě charakteristického aroma sýrů (Sousa, 2001, s. 327 – 345).

Proces proteolýzy je ovlivněn hlavně přítomností proteolytických enzymů, které mohou pocházet z různých zdrojů. Významným zdrojem proteolytických enzymů je mléko. Původní proteinázou v mléce je plazmin, který způsobuje hydrolýzu β -kaseinu na γ -kaseiny, proteoso peptony a rovněž degraduje α_{S2} -kaseiny. Nejvyšší aktivitu vykazuje při 37 °C a pH 7,5. Fyziologickou funkcí plazminu je, že se účastní degradace sraženin fibrinu v průběhu procesu srážení krve. Dalším zdrojem enzymů může být syřidlo (chymosinové, pepsinové, enzymy plísní či rostlinné). Jeho větší část ovšem při zpracování odchází do syrovátky. Množství syřidla zadrženo v sýřenině je ovlivněno množstvím a druhem přidaného syřidla, pH během zpracování sýřeniny, iontovou silou, množstvím kaseinů v mléce a velikostí kaseinových micel. Syřidlo však při delším působení štěpí nejenom specifickou vazbu κ -kaseinu, ale i další peptidové vazby, jejichž hydrolýza je nežádoucí z důvodu tzv. terciální fáze srážení. Dochází k hydrolýze peptidové vazby α_{S1} – kaseinu mezi Phe₂₃ a Phe₂₄ za vzniku dlouhého polypeptidu a krátkého peptidu. Mezi další zdroje patří starterové kultury jako hlavní zdroj peptidáz, které hydrolyticky štěpí krátké peptidy za vzniku aminokyselin, non-starterové kultury, sekundární starterové kultury pro rozvoj chuti a aroma a také se využívají exogenní proteinázy a peptidázy přidávané záměrně pro zesílení intenzity chuti (McSweeney, 2014).

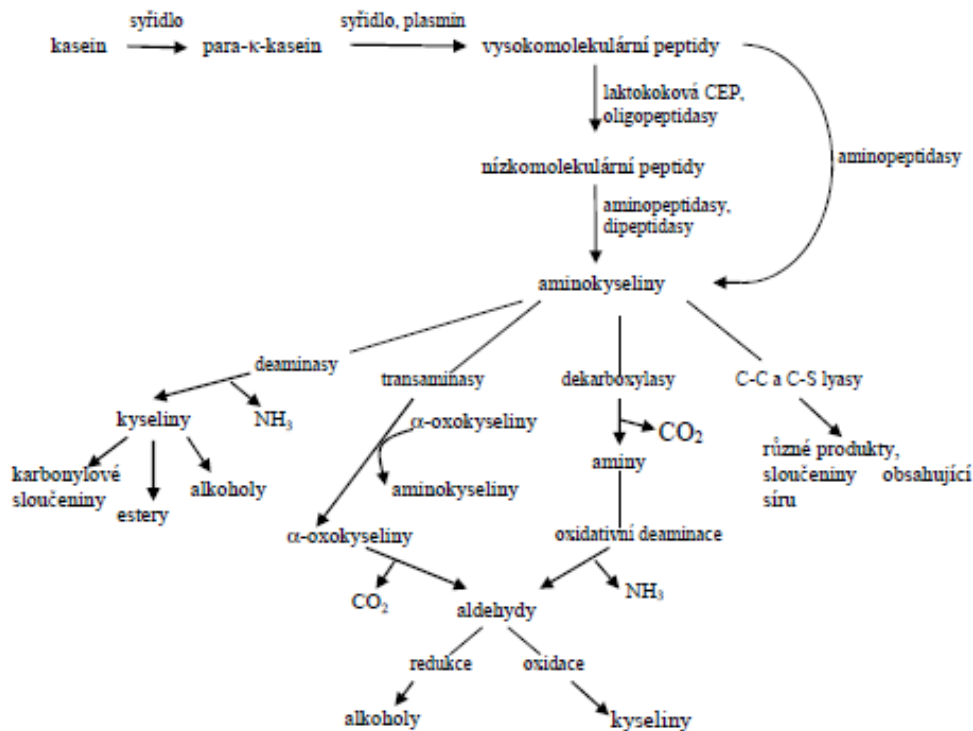
Peptidázy, které se podílejí na štěpení peptidových vazeb, můžeme rozdělit podle místa jejich účinku na endopeptidázy a exopeptidázy. Endopeptidázy hydrolyzují vazby uvnitř řetězce a exopeptidázy hydrolyzují odštěpení pouze koncových aminokyselin z polypeptidového řetězce. Produktem jsou aminokyseliny (Fox et al., 2004).

Při výběru ČMK rozhoduje její mikrobiální zastoupení, neboť každý jednotlivý zástupce BMK se projevuje rozdílnou proteolytickou aktivitou a tedy i různou intenzitou ovlivňuje

proces zrání (Broome, 1998, s. 73 – 79). BMK pro svůj růst potřebují zdroj dusíku a také z prostředí získávají řadu esenciálních aminokyselin, které si nedokážou sami syntetizovat. Hlavním předpokladem pro jejich získání a následný růst BMK je tedy proteolýza substrátu a peptidů. Proteolytické enzymy se u BMK nachází v buněčné stěně, buněčné membráně a cytoplazmě (Gajdůšek, 2002).

Pro proces proteolýzy byly definovány dva základní pojmy a to rozsah a hloubka zrání. Rozsah zrání je definován jako podíl obsahu rozpustného dusíku k celkovému obsahu dusíku a hloubka zrání je definována jako podíl obsahu dusíku volných aminokyselin k celkovému obsahu dusíku (Sousa, 2001, s. 327 – 345). Stupeň proteolýzy je obvykle vyšší ve středu sýra vzhledem k vyššímu obsahu vody a nižšímu obsahu soli. Složení sýrových bloků je rozdílné zejména na počátku zrání (Roginski et al, 2003).

Při nahromadění některých peptidů může být proteolýza nevyvážená a může dojít k tvorbě nežádoucích pachutí sýra. Můžeme se setkat s nahořklou chutí sýra, která je způsobena zvýšeným obsahem hořkých hydrofobních peptidů s délkou řetězce 3 až 27 aminokyselinových zbytků. Tyto hořké peptidy mohou vznikat, pokud je doba sýření příliš dlouhá a dojde ke štěpení i jiné peptidové vazby než mezi 105. a 106. AMK κ -kaseinové frakce. Hromadění hořkých peptidů lze ovlivnit výběrem rychle lyzujících starterových kultur. Z těchto bakterií se důsledkem rychlé lýzy uvolní enzymy, které umožní jejich štěpení (Law a Tamime, 2010).



Obrázek 4 - Proteolýza sýrů (Janštová, 2012, s. 88)

3.4 Katabolismus aminokyselin

Aminokyseliny jsou konečným produktem proteolýzy. Mohou však vstupovat do dalších reakcí a sloužit jako prekurzory pro vznik sensoricky aktivních látek, kdy z nich vznikají aminy, kyseliny, amoniak, karbonylové sloučeniny, nebo sloučeniny síry. Zejména sloučeniny síry jsou považovány za důležité původce sýrového aroma. Jde například o metantiol, metional a z nich vznikající dimetyldisulfid. Mezi aminokyseliny, které jsou nositeli sladké chuti, řadíme například glycin, serin, treonin a alanin. Nositeli kyselé chuti jsou histidin, kyselina glutamová a aspartová. Mezi hořké aminokyseliny řadíme arginin, metionin, valin, leucin, izoleucin, fenylalanin, tryptofan a tyrosin.

Aminokyseliny mohou být rozloženy činností aminotransferázy, nebo pomocí aminokyselinových lyáz. Aminotransferázy přenáší donorovou aminoskupinu z AMK na akceptorovou sloučeninu. Výsledkem je vznik nové keto kyseliny a aminokyseliny. Vzniklé α -keto kyseliny jsou degradovány na jiné sloučeniny (např. aldehydy, alkoholy). Aminokyselinové lyázy štěpí postraní řetězec aminokyseliny. Tyto reakce jsou důležité zejména pro katabolismus aromatických aminokyselin. Další možnou reakcí je dekarboxylace. Kdy činností dekarboxyláz dojde k odštěpení karboxylové skupiny za vzniku aminů. Některé aminy

(např. kadaverin, putrescin) mohou ovšem způsobovat nežádoucí pachutě (McSweeney, 2014, s. 80 – 81). Biogenní aminy nám mohou sloužit jako užitečný nástroj pro hodnocení rozsahu kažení sýrů, které může být doprovázeno produkcí dekarboxylačních enzymů. Tyto enzymy patří mezi hlavní předpoklady vzniku biogenních aminů v potravinách. Biogenní aminy mohou při nevhodném skladování za zvýšené teploty reagovat s triacylglyceroly za vzniku amidů mastných kyselin. Dále mohou vstupovat do reakcí neenzymového hnědnutí za vzniku iminů. Reakcí sekundárních biogenních aminů (například dietylamín) s dusitany mohou vznikat karcinogenní nitrosaminy (Velíšek, Hajšlová, 2009, s. 623). Zdrojem dusitanů v sýrech mohou být dusičnany přidávané ve formě aditiv proti duření sýrů v průběhu zrání. Dusitany z dusičnanů vznikají redukcí bakteriemi zažívacího traktu. Nejvyšší povolené množství dusičnanů ve zrajících sýrech je stanoveno v Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 133/2008 o potravinářských přídatných látkách. Maximální limit je stanoven na 150 mg/kg (Forejt, 2008, s. 333-334). Ve vysokých koncentracích jsou biogenní aminy pro lidský organismus toxické a mohou způsobovat křeče, bolesti hlavy, průjemy, zvracení a další (Kalač, Křížek, 2002, s. 53 - 56). Prozatím byly limity pro přípustné množství stanoveny pouze pro histamin a tyramin. Obsah histaminu vyskytující se v sýrech upravuje vyhláška č. 305/2004 Sb. a také vyhláška č. 53/2002 Sb. U tyraminu se přijatelné hodnoty pohybují v rozmezí 100 – 800 mg/kg.

3.5 Lipolýza a metabolismus volných mastných kyselin

Lipolýzu můžeme označit jako další biochemickou přeměnu v průběhu zrání sýrů. Obecně má obsah tuku zásadní význam pro aroma a texturu sýrů. Je zdrojem volných mastných kyselin a jejich derivátů, které vznikají v průběhu zrání. Lipolýzou rozumíme degradaci tuku, která je katalyzovaná lipázami a esterázami různého původu (zákysové kultury, nonstarterové bakterie, mléko). Lipázy mohou být endogenní (pocházející z mléka - lipoproteinlipáza), nebo exogenní (mikrobiálního původu, nebo ze syřidla). Dále mohou být lipázy klasifikovány podle délky hydrolyzovaného řetězce, fyzikálně-chemické povaze substrátu a enzymatické aktivity.

Jedná se o hydrolýzu triacylglycerolů na diacylglyceroly, nebo monoacylglyceroly, popřípadě až na volné mastné kyseliny. Rozsah lipolýzy je závislý na lipolytické aktivitě mikroflóry přidané zákysové kultury. Nízké hladiny lipolýzy přispívají k dozrání sýrů. Ovšem nadměrné hladiny lipolýzy jsou nežádoucí a mohou způsobovat nežádoucí žluknutí zejména v případech, kdy je membrána tukových kuliček mechanicky poškozena např.

homogenizací, mícháním, nebo pěněním. Většina této nativní lipoproteinové lipázy je inaktivována při tepelném ošetření. Riziko tedy zůstává v případě používání syrového mléka (Procházková, 2013).

Mastné kyseliny se mohou metabolizovat za vzniku sensoricky významných látek. Možným typem je reakce mezi mastnými kyselinami a alkoholem. V sýrech je nejvíce zastoupen ethyl-ester, který je odvozen z fermentace laktózy, nebo z katabolizmu aminokyselin. Aroma mastných kyselin je závislé na délce jejich řetězce. Mastné kyseliny s kratším řetězcem do 6 atomů uhlíků vykazují štiplavou, kyselou chuť a vůni. Mastné kyseliny s delším řetězcem 6 – 12 uhlíků jsou typické svým mýdlovým aroma. Naproti tomu mastné kyseliny s dlouhým uhlovodíkovým řetězcem nevykazují žádnou chuť ani vůni (McSweeney, 2014).

4 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VLASTNOSTI SÝRŮ

4.1 Faktory ovlivňující zrání sýrů

Pro optimální průběh zrání sýrů je primárně důležitá mikrobiální a hygienická jakost vstupních surovin. Zrání sýrů je ovlivněno řadou faktorů, které můžeme rozdělit na přímé a nepřímé (Obrázek 5). Změny během zrání jsou významně ovlivněny skladovacími podmínkami (teplota, čas, způsob balení), použitým výrobním postupem (distribuce soli, úroveň zadržetí syřidla), složení (pH, poměr kaseinu k tuku, NaCl, enzymy). Z ekonomického hlediska se v dnešní době producenti čím dál častěji přiklánějí k urychlení procesu zrání.

4.1.1 Chemické faktory

Jedná se o faktory ovlivnitelné zastoupením jednotlivých složek při výrobě sýra.

- **Poměr kaseinu a tuku** – čím nižší je poměr, tím účinnější je proteolýza a vzniká sýr s velmi jemnou, hladkou, krémovou konzistencí. V případě vysokého poměru kasein/tuk má sýr nepevnou konzistenci s tendencí vytvářet hrudky, případně dochází k tvorbě zlomů při působení tlaku (Law a Tamime, 2010).
- **Obsah NaCl** – Vliv obsahu soli na rychlost proteolýzy není zcela jednoznačná. Obsah soli ovlivňuje jak množství zadržetého syřidla a plazminu v sýřenině, proteolytickou aktivitu starterových kultur, NSLAB a aktivitu proteolytických enzymů. Je tedy těžké určit, který z těchto vlivů převládne. Rychlost proteolýzy může být ovlivněna i způsobem solení. Procesy zrání jsou u sýrů holandského typu výrazně ovlivněny při zrání v solném nálevu, kdy je intenzita prosolení závislá na koncentraci, teplotě a pH solné lázně (Gandhi, 2014, s. 41 – 47). Fox, Guinee a Cogan (2000) uvádějí, že pozice sýra, které jsou v přímém styku se solnou lázní, vykazují vyšší hodnoty tvrdosti, což je možné vysvětlit rychlejší difuzí NaCl do povrchových vrstev.
- **Enzymy** – Během zrání sýrů je výrazně aktivní plazmin, kyselá fosfatáza a například také xantin oxidáza. Zejména plazmin urychluje proteolýzu a zrychluje rozvoj textury u sýrů holandského typu. V poslední době se vzhledem ke snaze o urychlování procesu zrání používá přímé aplikace enzymových preparátů. Široce využíván je například Accelase R (výrobce Danisco), který se používá u sýrů se sníženým obsahem tuku. Skládá se z potravinářské mikrobiální endopeptidázy (proteinázy), startovacích bakterií mléčného kvašení a může obsahovat exopeptidázy. Mezi další preparáty patří například FlavorAge (výrobce Chr Hansen) a FlavorPro (výrobce Biocytalysts Ltd.). Výzkumy pro-

kázaly, že po přímé aplikaci enzymů dosáhne sýr holandského typu zralosti odpovídající 9 měsícům zrání již po 5 měsících (Law, 2010, s. 383 – 398). Nevhodná je ovšem aplikace enzymů do mléka ještě před zahájením výroby, kdy většina enzymů následně odchází se syrovátkou. Jako vhodná aplikace se osvědčil přídavek společně se solí při zpracování sýřeniny sýrů holandského typu (Smith, 2003).

- **Přídavek kultur se sníženou schopností produkovat laktát** – Byly vyvinuty kultury, u nichž je potlačena schopnost fermentace laktózy. Aktivitou těchto mikroorganismů nedochází k výraznému okyselení produkcí kyseliny mléčné, ale jejich technologická funkce spočívá v dodání enzymů pro biochemické reakce během zrání sýrů (Smit, 2003).
- **Přídavek doplňkových kultur** – Jedná se o kultury *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. helveticus*, nebo probiotické kultury rodu *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*. Jejich význam spočívá v urychlení biochemických procesů během zrání sýrů. Tyto kultury mohou inhibovat množení propionibakterií a enterokoků produkcí vlastních inhibičních látek jako jsou bakteriociny (Janštová, 2012).
- **Přídavek geneticky modifikovaných kultur** – genetické modifikace bakterií mléčného kvašení modifikují metabolismus laktózy, aktivitu peptidáz a urychluje se lýza bakteriálních buněk. Jsou také dostupné geneticky modifikované kmeny *Lactococcus lactis* se zvýšenou produkcí aminopeptidáz (Eskin, 2013). Použití geneticky modifikovaných kultur je ovšem regulováno jak evropskou, tak národní legislativou. Jedná se o zákon č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty. V rámci EU se jedná o Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1829/2003 o geneticky modifikovaných potravinách a krmivech. Legislativa vymezuje zejména práva a povinnosti osob nakládajících s geneticky modifikovaným materiálem. Stanovuje podmínky pro nakládání s GMO (geneticky modifikovaný organismus), uvádění do oběhu a označování produktů.

4.1.2 Fyzikální faktory

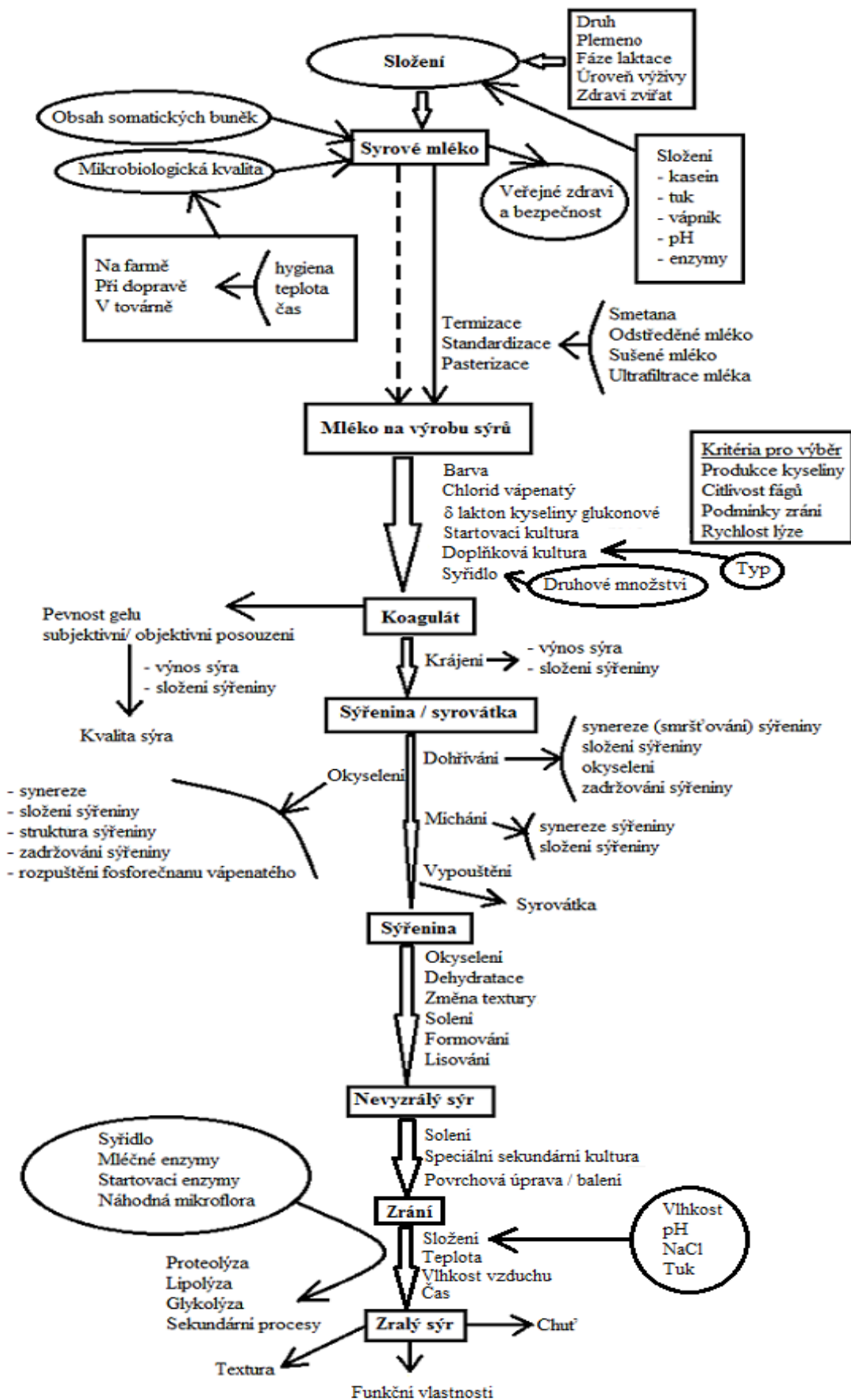
- **Teplota** – je nejdůležitějším faktorem ovlivňující nejenom činnost mikroorganismů, ale i enzymů. Je nejčastěji používaným faktorem ovlivňující zrání sýrů vzhledem ke snadné aplikovatelnosti a nízké ceně. Law (2010) uvádí, že zvýšená teplota významně zrychluje probíhající reakce během zrání. Pachlová a kol. (2012) uvádí, že zvýšením teploty při zrání holandských sýrů z 10 °C na 16 °C dojde ke snížení doby potřebné pro

zrání až o polovinu. Naopak při nízkých teplotách dochází k ekonomickým ztrátám, které jsou způsobeny zpomalením procesu zrání. V případě použití vyšších teplot je možnou nevýhodou zrychlené pomnožování nežádoucích mikroorganismů a vznik organolepticky nežádoucích látek. U sýrů holandského typu je vzhledem k nižšímu obsahu vlhkosti riziko menší.

- **Vlhkost prostředí** – musí být během zrání regulovaná v závislosti na vyráběném typu sýru. Regulace vlhkosti prostředí je důležitá pro řízení vysušení povrchu sýra, snížení vlhkosti sýrů, růstu povrchové mikroflóry, vývoji správné kůrky, texturních a chuťových změn (Law, 2010, s. 303). Kolísání vlhkosti může způsobit popraskání kůrky, nebo orosení povrchu sýra způsobující hnilobu sýrů. Pro sýry holandského typu zrajících pod smrštitelnou fólií není vlhkost prostředí jedním z nejdůležitějších faktorů, protože změna teploty vždy souvisí se změnou relativní vlhkosti. Odpar vody je tedy hlavním faktorem pro požadovanou relativní vlhkost. U sýrů zrajících pod mazem je při vysoké relativní vlhkosti riziko nárůstu plísní. Naopak při nízké relativní vlhkosti maz osychá a vytváří se příliš silná kůrka, což může způsobit velké ztráty odparem (Kněz, Olšanský, 1971, s. 148 – 155). Výrazně menší hmotnostní ztráty jsou při zrání sýrů pod plastickými nátěry. Jedná se například o nátěr Plasticoat nebo Delvocoat na bázi polyvinylacetátu (O.K. SERVIS Biopro, s.r.o., 2014).
- **pH** – Kontrola hodnoty pH je důležitá v celém průběhu výroby. Optimální hodnota pH u holandských sýrů je 5 a vyšší. Zpravidla po 24 hodinách od výroby by měl mít sýr pH v rozmezí 5,1 – 5,2. Hodnota pH významně ovlivňuje rozpustnost kaseinu, který se primárně podílí na struktuře sýrů. Kdy snížené hodnoty pH způsobí porušení povrchových struktur kaseinových micel, uvolnění kaseinu a jeho denaturaci. Kasein již není rozpustný a tvoří sraženinu. Pro měkké sýry je optimální hodnota pH 4,8 – 5,0. Při hodnotách vyšších jak 5,3 vznikají nepříjemné chuťové látky a zrání je rychlejší. Orságová (2009) ve své práci prokazuje postupné snižování hodnot pH během zrání sýrů. Hodnota pH má také značný vliv na texturní a senzorické vlastnosti. Sýry o vyšším pH během zrání mají více sýrově žluté zbarvení, jsou pružnější a tvoří se v nich více okvětších velikostí. Hodnota pH je výrazně ovlivněna vlhkostí sýra, kdy se zvýšenou vlhkostí narůstá i pH. Vlhkost sýra je závislá zejména na obsahu soli (Watkinson, 2001, s. 455 – 464). Obecně platí, že sýry s nízkým pH mají křehčí texturu (Law, 2010, s. 149).
- **Vodní aktivita** – aktivitu vody (a_w) můžeme definovat jako poměr parciálního tlaku vodní páry nad sýrem k parciálnímu tlaku vodní páry čisté vody při téže teplotě. Vý-

znam vodní aktivity spočívá v tom, že určuje, zda může nebo nemůže dojít k pomnožení mikroorganismů. Každý druh mikroorganismů má různou limitní hodnotu vodní aktivity, kterou můžeme spolehlivě určit, které typy mikroorganismů se budou pomnožovat. Například snížením vodní aktivity pod 0,93 můžeme s bezpečností říct, že nedojde k tvorbě botulotoxinu v důsledku nárůstu *Clostridium botulinum* způsobující pozdní duření sýrů. V počátečních fázích výroby sýra je a_w 0,99. Odstraněním syrovátky, solením a během zrání se a_w sníží přibližně na 0,917 – 0,988. Vodní aktivitu ovlivňuje ztráta vody vypařováním, hydrolýza bílkovin a triglyceridů (při hydrolýze každého peptidu, nebo esterové vazby je vždy spotřebována jedna molekuly vody). U sýrů holandského typu je hodnota a_w vyšší směrem ke středu na základě difuze (Beresford et al., 2001, s. 259 – 274).

- **Aplikace vysokého tlaku** – Působením vysokého tlaku dochází k urychlení zrání na principu změn proteinové matrice a zrychlené lýze buněk. Dochází k usmrcení bakterií, aniž by byly důležité enzymy denaturovány. Dochází k likvidaci patogenních i podmíněně patogenních mikroorganismů. Účinnost je ovlivněna typem, velikostí a stářím sýra. Dále na velikosti použitého tlaku a teplotě a délce ošetření sýra (Smith, 2003). Perlín (2002) uvádí, že použitím vysokého tlaku může dojít ke vzniku nežádoucích změn fyzikálních a chemických charakteristik. Velikost změn závisí na parametrech zpracování (tlak, doba působení tlaku a teplota). Autor zároveň uvádí nutnost dalších výzkumů pro stanovení procesních podmínek a jejich účinnost.



Obrázek 5 - Přímé a nepřímé faktory ovlivňující zrání sýrů (FOX et al., 2000, s. 342)

4.2 Změna funkčních vlastností

Jedním ze základních faktorů, který ovlivňuje funkční vlastnosti sýrů je bezesporu obsah tuku. Tuk je společně se solí jednou ze základních složek, které ovlivňují enzymovou aktivitu starterových i non-starterových kultur během zrání sýrů. Podstatné změny obsahu tuku během zrání sýrů mohou mít zásadní dopad na aktivitu starterových kultur a následně i na výslednou chuť (Law a Tamime, 2010).

Snížením obsahu tuku se významně zvýší hodnota aktivity vody (a_w), což může mít za následek zvýšenou aktivitu přítomné mikroflóry zejména v sýrech s nižším obsahem soli. Yanachkina (2016) dále uvádí, že při snížení obsahu tuku můžeme pozorovat zvýšenou aktivitu non-starterových bakterií mléčného kvašení.

Zvýšení obsahu tuku také významně ovlivňuje roztékavost sýrů. Jako roztékavost označujeme schopnost sýrů roztéct se vlivem záhřevu. Využití roztékavosti se uplatňuje zejména u tavených sýrů a u sýrů, které se aplikuje na pečivo, nebo pizzu. Vyšší obsah tuku způsobuje vyšší roztékavost sýrů a sýr se může projevit měkčí strukturou pod kůrou, nebo v celé hmotě. Zvýšená roztékavost se mimo jiné vyskytuje při výrobě sýrů z kontaminovaného mléka, při nízké teplotě sýření, při příliš vysoké teplotě ve zracích sklepích, nebo byla-li sýřenina příliš měkka a nedosušená (Law a Tamime, 2010).

Textura je jednou z nejdůležitějších vlastností sýrů, která nám poukazuje na kvalitu sýrů. Textura přispívá k příjemnému pocitu v ústech při konzumaci a významně ovlivňuje vnímání chuti. Texturní vlastnosti sýra mohou být ovlivněny spoustou faktorů. Jedná se o kolísání vlhkosti, intenzita a způsob solení, distribuci tuku a průběh proteolýzy během zrání (Floury, 2009, s. 1611 – 1620). Na texturní vlastnosti má vliv také rovnováha mezi rozpustným vápníkem a vápníkem vázaným na kaseiny. Přídavek chloridu vápenatého během výroby sýrů posune rovnováhu forem přítomnosti vápníku směrem k vazbě s kaseinem (McSweeney, 2013, s. 6 – 9). Na texturu má mimo jiné vliv i způsob a intenzita prosolení a s tím spojená vlhkost sýra. Intenzita prosolení významně ovlivňuje množství zadržené vody v sýrech a tedy i výslednou texturu. Obsah vlhkosti v sýru klesá s délkou solení a koncentrací solné lázně. Vyšší pevnost sýra může být ovlivněna vyšším poměrem obsahu soli/vlhkosti. Obecně reologické vlastnosti souvisí s obsahem vody, stupněm hydratace kaseinů a stupněm synereze. Obsah soli také ovlivňuje hydrolýzu proteinové matrice, čímž je ovlivněna textura. Přídavek soli do 1,4 % zvyšuje schopnost kaseinů vázat vodu, čímž se

ovlivňují reologické vlastnosti sýra. Sýry jsou méně tvrdé, čím je obsah soli nižší a doba zrání delší (Guinee, 2004, s. 99-109).

Bucek (2009) uvádí, že pro výrobu sýrů je nejvhodnější mléko s odpovídajícím poměrem tuku ke kaseinu. Tuk obecně zlepšuje konzistenci sýrů, konkrétně zlepšuje jemnost sýrů. Dále má vliv na příjemnost chuti sýrového těsta a zvyšuje výtěžnost sýrů. McCarthy (2016) uvádí, že snížení obsahu tuku v sýru vede ke zvýšení koncentrace bílkovin. Současně se síť fosforečnanu vápenatého s para-kaseinem stává mnohem hustší. Výsledkem je v případě sýrů s nedohřívanou sýřeninou pevná, gumovitá struktura. U McCarthyho (2016) se jednalo konkrétně o snížení obsahu tuku z 22 % na 11 %, přičemž sýry vykazovaly nižší schopnost vázat vodu, byly pevnější a žvýkatelnější. Ve srovnání se sýry s původním obsahem tuku měly nižší senzorickou přijatelnost.

Walstra (1993) uvádí, že tukové kuličky způsobují pomalejší srážení a tvorbu gelu. Dále doplňuje, že srážení probíhá lépe u mléka se sníženým obsahem tuku standardizací, než u mléka neodstředěného. Walstra et al. (2006) dodává, že čím vyšší obsah tuku má mléko použité na tvorbu sýřeniny, tím méně se může sýřenina během procesu synereze smršťovat. Tuk zároveň brání proudění syrovátky ze sýřeniny.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo sledovat vliv různé tučnosti u jednotlivých šarží sýrů na proteolytickou aktivitu čistých mlékařských kultur během zrání sýrů. Pro naplnění tohoto cíle byly provedeny následující kroky:

- Výroba modelových vzorků sýrů lišící se obsahem tuku v sušině, pro jednotlivé modelové šarže byly použity dvě různé kultury
- Založit skladovací experiment
- Porovnat proteolytické změny modelových vzorků v závislosti na obsahu tuku a použité kultuře

6 METODIKA

Modelové vzorky sýrů holandského typu byly vyrobeny 7. – 9. září 2015 na Fakultě technologické v laboratořích Ústavu technologie potravin. Další rozborů byly provedeny na stejném místě.

6.1 Materiál

Základní surovinou bylo čerstvé mléko z Farmy Kudlov, ze kterého byly vyrobeny čtyři šarže sýrů holandského typu. Byly použity dvě různé kultury s mírně odlišným složením (Flora Danica a CHN-22) a vyráběly se sýry o dvou různých tučnostech (10 % a 50 % tuku v sušině). Kultury pocházely od stejného výrobce Christian Hansen. Jednalo se o mezofilní aromatické kultury produkující aroma a CO₂. Obě kultury slouží pro výrobu sýrů holandského typu a jsou dodávány v lyofilizované podobě.

- Složení kultury Flora Danica - *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc, Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*.
- Složení kultury CHN-22 - *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*.

Rozdílnost kultury spočívala v zastoupení bakterií mléčného kvašení, které je výrobním tajemstvím výrobce kultury.

Charakteristika jednotlivých vzorků je uvedena v Tabulce č. 1:

Označení sýra	Obsah tuku v sušině (%)	Kultura
S1	50	Flora Danica
S2	10	Flora Danica
S3	50	CHN-22
S4	10	CHN-22

Tabulka 1 - Charakteristika vyrobených modelových vzorků

6.2 Výroba sýrů holandského typu

6.2.1 Příprava před výrobou

Veškeré pomůcky, které byly určeny pro styk se surovinou, meziproduktem a hotovými sýry (mimo smrštitelné fólie) byly ošetřeny dezinfekcí ponorem. Ošetření se provádělo před zahájením výroby a v průběhu výroby. Jako dezinfekční prostředek byl použit DIVOSAN AKTIV o koncentraci 0,5 % s dobou působení 15 minut. Po dezinfekci byly všechny pomůcky důkladně opláchnuty pitnou vodou, aby nedošlo k přenosu reziduí dezinfekčních látek do produktu. Výrobní laboratoř byla před výrobou přes noc vysvícena UV-lampou. Se surovinami a meziprodukty se manipulovalo v rukavicích. Konve na mléko byly po vyčištění a oplachu ošetřeny parou pomocí vyvíječe páry, aby byla zajištěna devitalizace přítomné mikroflóry. Následně uzavřeny víkem pro zabránění pomnožení sekundární mikroflóry. Parou byly ošetřeny i vnitřní prostory výrobníku a standardizační nádoby.

6.2.2 Základní ošetření a úprava mléka

Mléko bylo predehřáto v nádobě s mezipláštěm na teplotu 37 °C. Teplota byla kontrolována pomocí vpichového digitálního teploměru. Následovalo odstředění mléka na laboratorní odstředivce FT15B a standardizace obsahu tuku. V případě sýrů s finální tučností cca 10 % tuku v sušině bylo mléko standardizováno na 0,5 % tuku a pro sýry o 50 % tuku v sušině bylo mléko standardizováno na tučnost 3,5 %. Standardizace probíhala ve standardizační nádobě smícháním odstředěného mléka (o tučnosti 0,05 %) a smetany (o tučnosti 35 %). Po standardizaci bylo mléko pasterováno diskontinuálně ve výrobníku sýrů dlouhodobou pasterací (65 °C, 30 minut), následně ochlazeno a vytemperováno na inokulační a sýřicí teplotu 32 ± 1 °C. Mléko bylo inokulováno sýrařskou kulturou Flora Danica, nebo CHN-22. Kultura se navázila v množství $0,75 \pm 0,05$ g a dokonale se rozpustila ve 30 ml vytemperovaného mléka. K mléku bylo také přidáno 17,5 ml nasyceného roztoku CaCl_2 pro podporu sýření. Směs mléka s kulturou a přídavkem CaCl_2 se dokonale promíchala a nechala reaktivovat 20 minut za současného míchání.

6.2.3 Sýření mléka a zpracování sýřeniny

Za stálého míchání bylo přidáno 1 120 μl syřidla Chy-Max M (Christian Hansen), které bylo ředěno v desetinásobku pitné vody. Směs byla zklidněna opačným pohybem míchadla a ponechána v klidu po dobu 30 minut. Před sýřením bylo vyjmuto míchadlo i teploměr,

aby nedošlo k porušení tvorby gelu. Po sýření byla sýřenina podélně i příčně prokrojena pomocí sýrařské harfy. Následoval 10 minutový odpočinek sýřeniny, kdy docházelo k uvolňování syrovátky. Poté byla sýřenina 20 minut opatrně ručně míchána, čímž byl podpořen proces drobení a vytužování zrna. Přes síto bylo odebráno 10 l syrovátky a k sýrařskému zrnu se velmi pomalu přidalo 7 l vody o teplotě 60 °C. Účelem bylo zvýšení teploty na 37 °C, tedy na teplotu dohřívání sýrařského zrna. Dosoušení probíhalo 30 minut za intenzivního míchání při maximálním výkonu míchadla.

Sýřenina byla vypouštěna do předem připravených předlisovacích forem, které byly vyloženy sýrařskými plachetkami. Sýřenina se nechala předlisovat vlastní vahou po dobu 30 minut a každých 10 minut byla otáčena kvůli rovnoměrnému odtoku syrovátky. Předlisovaná sýřenina byla rozkrájená na 12 stejně velkých kousků z každé formy a vložena do lisovacích forem, vyložených sýrařskými plachetkami. Následovalo lisování sýřeniny pomocí závaží, které trvalo celkově 90 minut. Po každých 30 minutách se zvyšovala hmotnost závaží, čímž došlo k zvednutí lisovacího tlaku z 8,5 kPa na konečných 22,5 kPa. Vylišované sýry byly ve skladovacích nádobách uloženy na dobu 15 hodin do lednice (6 ± 1 °C) k prokysání. Celkem bylo z každé šarže vyrobeno 24 bloku sýrů. Sledované parametry byly hodnoceny po 1., 14., 28., 56. a 84. dni zrání.

6.2.4 Solení a balení sýrů

Po prokysání následovalo solení sýrů v solné lázni o koncentraci 20 % NaCl, která byla připravena ze 4,5 l pitné vody a 1,125 kg soli. Solení probíhalo při teplotě 25 ± 1 °C po dobu 30 minut. Nasolené sýry byly ošetřeny antimykotickou suspenzí (přípravek DELVOCID XT1) ponořením do 3 % suspenze na 4 sekundy, tak aby byla ponořena celá plocha sýra. Následně se sýry nechaly 1 hodinu oschnout. Oschlé sýry byly zabaleny do smršťovací kryovakové fólie pomocí vakuové baličky. Ke smrštění fólie došlo ponořením do horké vody na 2 sekundy. Označené vzorky byly uloženy ve zrací komoře (12 ± 1 °C).

6.3 Základní chemická analýza

6.3.1 Stanovení obsahu sušiny

Stanovení obsahu sušiny ve vzorcích bylo provedeno sušením do konstantního úbytku hmotnosti (dle normy ČSN EN ISO 5534). Pro stanovení obsahu sušiny byly použity vysoušecí misky s víčkem, křemičitý písek, analytické váhy, tyčinka na promíchání, sušárna Venticell (Brněnská Medicínská Technika a.s., Česká republika) a exsikátor. Vysoušecí

misky s víčkem a křemičitým pískem byly předem předsušeny a zváženy. Následoval přídavek 3 g vzorku sýra. Směs se v misce rozmíchala pomocí tyčinky. Takto připravený vzorek byl umístěn do sušárny a sušen při 105 ± 1 °C do konstantního úbytku hmotnosti. Vysušené vzorky byly umístěny do exsikátoru pro vychladnutí. Výsledky se stanovily zvážením vzorku s vysoušecí miskou před a po sušení. Výpočet obsahu sušiny byl proveden pomocí vzorce:

$$\text{obsah sušiny [\% hmotnostních]} = \frac{(m_3 - m_1)}{m_2} \cdot 100$$

kde:

m_1 – hmotnost misky s pískem [g]

m_2 – hmotnost vzorku před sušením [g]

m_3 – hmotnost misky s pískem a vzorkem po vysušení [g]

6.3.2 Stanovení obsahu tuku

Obsah tuku byl stanoven metodou podle van Gulika. Principem je rozpuštění netukových látek v sýru kyselinou sírovou. Uvolněný tuk se oddělí v butyrometru odstředivou silou. Byly použity speciální van Gulikovy butyrometry pro navážku 3 gramů sýra. Na skleněnou lodičku zasazenou do zátky butyrometru byly naváženy 3 g vzorku sýra (analytické váhy A&D GH-200 EC). Následoval přídavek kyseliny sírové do butyrometru tak, aby hladina sahala zhruba do 2/3 rozšířené části butyrometru. Butyrometr se vložil do lázně o teplotě 65 °C a opatrně promíchal. Po rozpuštění sýra následoval přídavek 1 ml amylalkoholu a zředěné kyseliny sírové v takovém množství, aby sahala asi do dvou třetin stupnice butyrometru. Následně se vzorek 5 minut odstředil. Po odstředění se vzorek ponechal 5 minut ve vodní lázni o teplotě 65 °C a na stupnici butyrometru se přímo odečetla hmotnostní procenta tuku. Výpočet obsahu tuku v sušině byl proveden pomocí vzorce:

$$\text{tučnost v sušině (t.v.s) v \%} = \frac{100 \cdot t}{s}$$

kde:

s – sušina v %

t – tučnost v %

6.3.3 Stanovení pH

Hodnoty pH byly měřeny pomocí vpichového pH metru (EUTECH INSTRUMENTS, Nizozemsko). Prováděly se tři vpichy do různých míst modelového vzorku. Pro přesnější výsledky byla použita průměrná hodnota ze tří měření.

6.3.4 Stanovení obsahu soli

Obsah soli se ze vzorku sýra vylouží teplou vodou a stanoví se přímou metodou podle Mohra. Byl navážen 1 g vzorku (analytické váhy A&D GH-200 EC), který se rozmělnil v třecí misce s 10 ml teplé destilované vody (60 °C). Připravený vzorek se kvantitativně přelil do titrační baňky a následoval přidavek indikátoru (2 ml 5 % roztoku chromanu draselného, výrobce IPL, Ing. Petr Lukeš, ČR). Jako odměrný roztok byl použit dusičnan stříbrný o koncentraci $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Lach-Ner, s.r.o., ČR). Koncentrace roztoku dusičnanu stříbrného byla určena standardizací. Titrace odměrným roztokem probíhala do dosažení bodu ekvivalence (do dosažení oranžového zbarvení s výdrží 30 s).

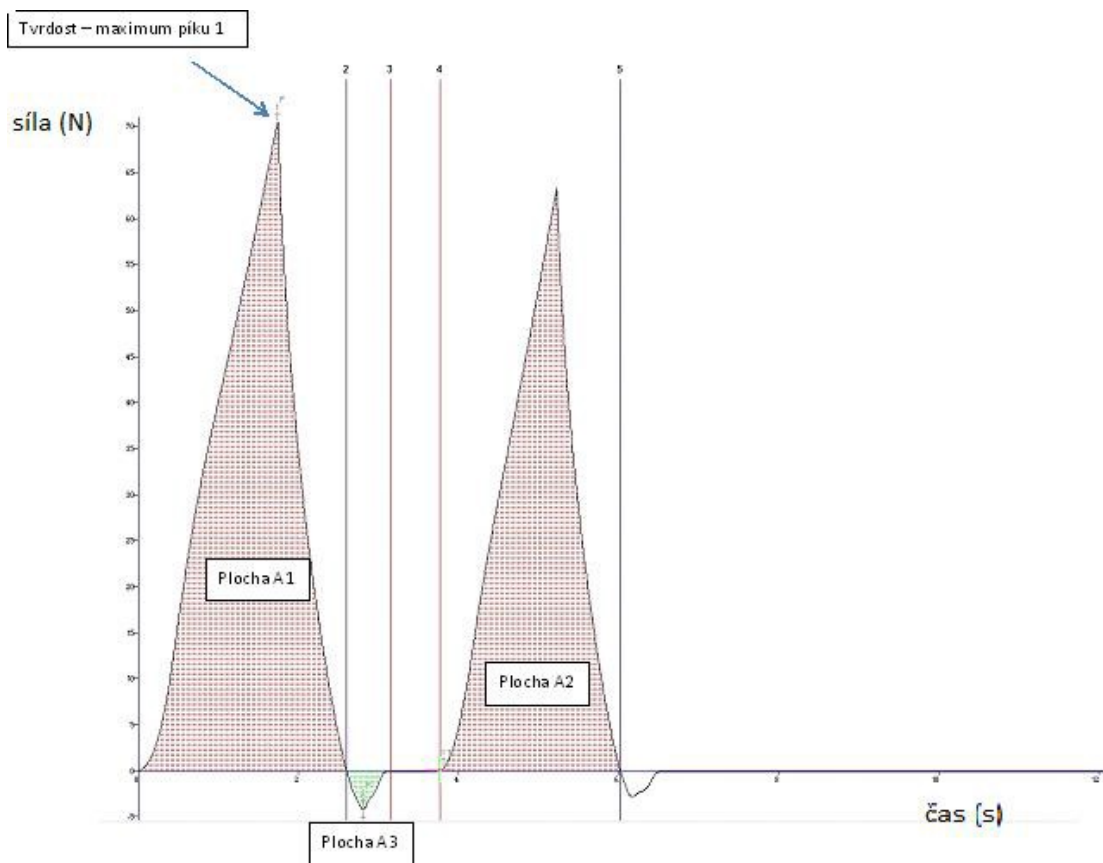
6.3.5 Texturní profilová analýza

Texturní profilová analýza byla provedena na analyzátoru textury TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Goldaming, Velká Británie). Před měřením byl z modelového vzorku sýra vykrojen válec o průměru 35 mm a výšce 20 mm pomocí speciálního vykrajovače. Vzorek byl umístěn na podložku analyzátoru. Textura byla hodnocena pomocí kompresního testu s dvojnásobným stlačením vzorku sýra o 25 % původní výšky rychlostí $2 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$. Síla tvrdosti (N) byla vyhodnocena v programu Exponent Lite. Síla tvrdosti značí maximální sílu dosaženou během měření. Výstupem tohoto měření je křivka zobrazená na Obrázku 6. Z výsledné křivky je možné získat až 8 parametrů, přičemž 6 parametrů je možné přímo odečíst, zbylé dva je nutné dopočítat. Mezi základní parametry patří tvrdost, soudržnost, přilnavost, elasticita, plastičnost, křehkost. Mezi další parametry řadíme žvýkatelnost a gumovitou (Pons, 1997, s. 597).

Analyzované parametry:

- **Tvrdost** – můžeme definovat jako maximální sílu potřebnou k dosažení deformace nebo penetrace výrobku. Jedná se tedy o maximální hodnotu píku síly během prvního penetračního cyklu. V ústech je tvrdost vnímána stlačením výrobku mezi zuby u tuhých výrobků, nebo stlačením mezi jazykem a patrem u polotuhých výrobků.

- **Lepivost** – definuje sílu potřebnou k odstranění látky. Tento parametr je možné získat jako práci potřebnou k vytažení měřicího elementu ze vzorku, nebo jako práci nutnou k překonání přitažlivých sil mezi povrchem potraviny a povrchem měřicího elementu.
- **Soudržnost** – vyjadřuje sílu vnitřních vazeb tvořících texturu výrobku. Počítá se jako poměr plochy píku druhého kompresního cyklu k ploše píku prvního. Je dána stupněm, do něhož může být látka deformována (Floury et al., 2009, s. 1611-1620).



Obrázek 6 - Křivka texturní profilové analýzy (závislost síly [N] na čase [s])

6.3.6 Stanovení obsahu volných aminokyselin

Modelové vzorky sýra byly po určené době zrání nastrohány a zváženy na analytických vahách (A&D GH-200 EC) a lyofilizovány pomocí lyofilizátoru CHRIST ALPHA 1 – 4LSC (LABICOM s.r.o., Česká republika), aby bylo možné je skladovat do okamžiku analýzy. Na analytických vahách byl navážen 1 g lyofilizovaného vzorku sýra. Navážený vzorek byl předán do 15 ml zkumavek s přídavkem 10 ml lithno-citrátového pufru. Vzorek se promíchal ručně s následným třepáním po dobu 30 minut na laboratorní třepačce LT2. Ná-

sledovalo odstředění při 6 000 otáčkách za minutu po dobu 20 minut na odstředivce EBA 201 (Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen). Roztok, neboli supernatant, se přelil do 25 ml odměrné baňky a doplnil po rysku lithno-citrátovým pufrem. Vzniklý roztok se odpipetoval do ependorfe (4 od každého vzorku). Poté se odstředily při 15 000 otáčkách za minutu po dobu 45 minut na odstředivce MICRO 200R (Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen). Bezprostředně před analýzou přefiltrovat přes stříkačkový filtr s porozitou 0,45 μm . Takto připravený vzorek byl analyzován na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 400 (Ingot, Praha). Jedná se o iontově výměnnou chromatografii s postkolonovou ninhydrinovou derivatizací.

Seznam chemikálií pro přípravu pufrů:

- Kyselina citronová, p.a. LACHNER
- Citronan litný, p.a. ZMBD Chemik s.r.o
- Chlorid litný, p.a. ZMBD Chemik s.r.o
- Hydroxid litný, p.a. ZMBD Chemik s.r.o

Seznam chemikálií pro přípravu ninhydrinu:

- Ninhydrin, pro AAA400, ZMBD Chemik s.r.o
- Methylcellosolv pro AAA400, ZMBD Chemik s.r.o
- Acetátový pufr pro AAA400, ZMBD Chemik s.r.o

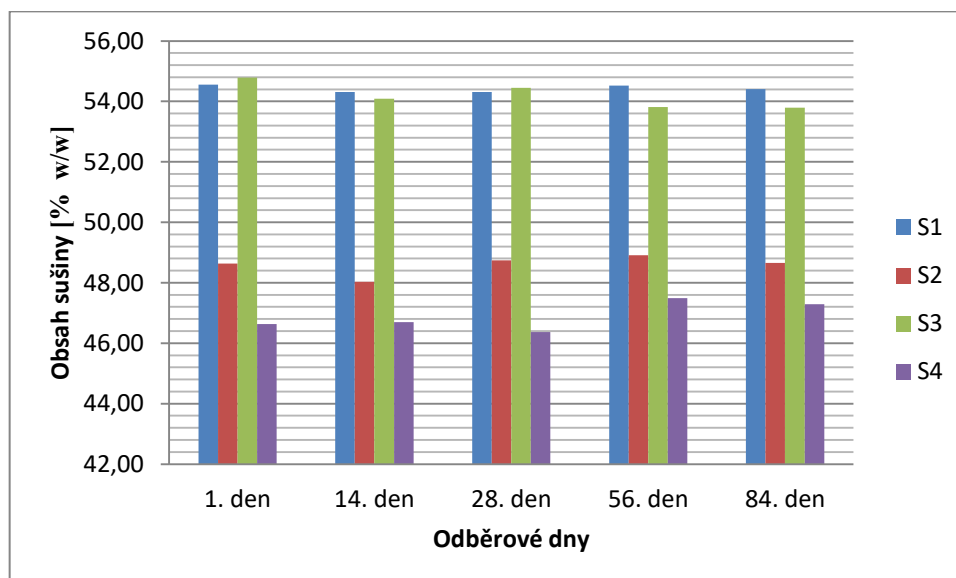
7 VÝSLEDKY A DISKUZE

Vyrobené vzorky byly k jednotlivým analýzám odebírány 1. den, 14. den, 28. den, 56. den a 84. den od výroby. Z každé šarže byly odebrány vzorky, které byly podrobeny texturní profilové analýze a základním chemickým analýzám. Vzorky byly lyofilizovány z důvodu stanovení obsahu volných aminokyselin. Ve výsledcích jsou uvedené průměrné hodnoty získané z vyrobených vzorků.

7.1 Základní chemická analýza

Stanovení obsahu sušiny

V průběhu zrání byl v modelových vzorcích sledován obsah sušiny. Na Obrázku 7 jsou porovnány výsledky obsahu sušiny u všech 4 vyrobených šarží.



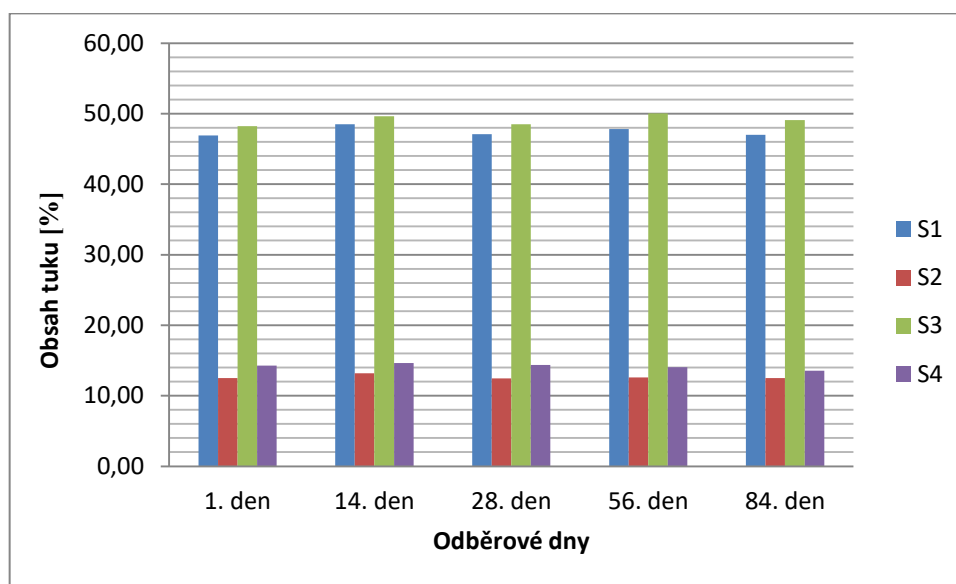
Obrázek 7 - Obsah sušiny vzorků S1: 50 % tvs., Flora Danica; S2: 10 % tvs., Flora Danica; S3: 50 % tvs., CHN-22; S4: 10 % tvs., CHN-22

Z Obrázku 7 je patrný vyšší obsah sušiny u šarže S1 a S3, který byl v prvním odběrovém dni stanoven v rozmezí 54,56 – 54,79 %. U šarže S2 a S4 byly naměřené hodnoty obsahu sušiny v rozmezí 48,64 – 46,63 %. Vyšší obsah sušiny šarží S1 a S3 souvisí s vyšším obsahem tuku v těchto šaržích (50 % t.v.s.). V průběhu zrání obsah sušiny mírně kolísal. U vzorku S1, S2 a S3 byl zaznamenán mírný pokles obsahu sušiny 14. odběrový den. Průměrné hodnoty obsahu sušiny pro šarže S1, S2, S3 a S4 byly $54,42 \pm 0,10$ %, $48,60 \pm 0,30$ %, $54,19 \pm 0,38$ % a $46,89 \pm 0,42$ %. Lze tedy říci, že změny v obsahu sušiny v průběhu

zrání jednotlivých modelových šarží byly minimální a pravděpodobně neměly vliv na mikrobiologické a biochemické procesy během zrání sýrů a současně také na vývoj tvrdosti dané šarže sýrů. V případě vyšších výkyvů by mohly změny v obsahu sušiny např. sníženými bariérovými vlastnostmi obalového materiálu vést k vysychání sýra (Pachlová et al., 2010). Rozdíly v obsahu sušiny se mohou následně projevit ve stupni proteolýzy, respektive v aktivitě vody. Aktivita vody ovlivňuje aktivitu bakterií mléčného kvašení a enzymů, které mají vliv na změnu proteinové matrice sýra. Pachlová et al. (2010) uvádí, že obsah sušiny významně ovlivňuje rychlost difúze soli. Stanovení obsahu soli bylo další dílčí analýzou.

Stanovení obsahu tuku

Modelové vzorky byly v průběhu skladovacího experimentu analyzovány na obsahu tuku. Výsledky z analýz v jednotlivých odběrových dnech jsou zaneseny v Obrázku 8.

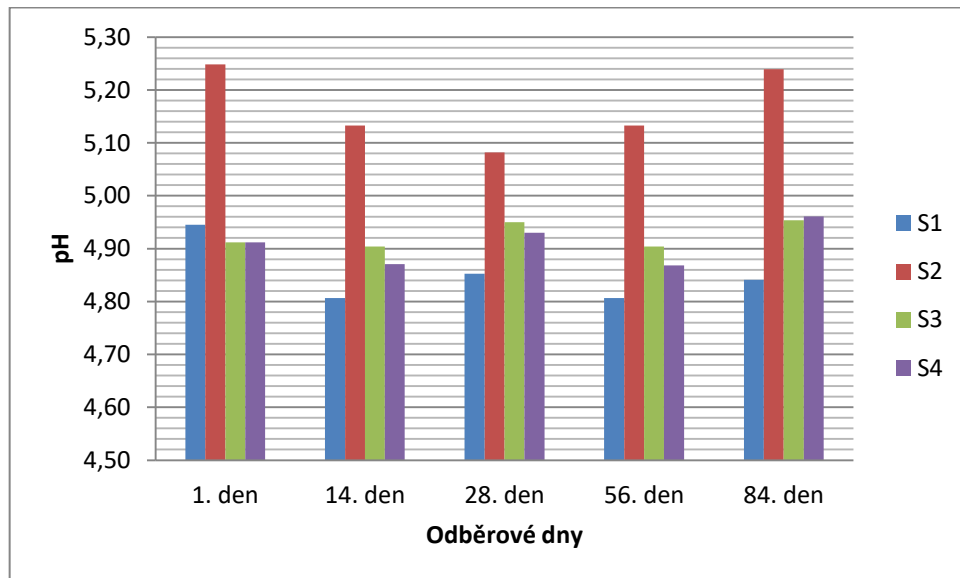


Obrázek 8 - Obsah tuku v sušině vzorků S1: 50 % tvs., Flora Danica; S2: 10 % tvs., Flora Danica; S3: 50 % tvs., CHN-22; S4: 10 % tvs., CHN-22

Průměrné hodnoty obsahu tuku v sušině pro šarže S1, S2, S3 a S4 byly $47,47 \pm 0,68\%$, $12,66 \pm 0,30\%$, $49,09 \pm 0,75\%$ a $14,18 \pm 0,41\%$. Z výsledků je tedy patrné, že obsah tuku se v průběhu zrání výrazně neměnil.

Stanovení pH

U modelových vzorků bylo během zrání měřeno pH vpichovým pH-metrem. Na Obrázku 9 jsou porovnány naměřené výsledky hodnot pH u všech 4 vyrobených šarží.



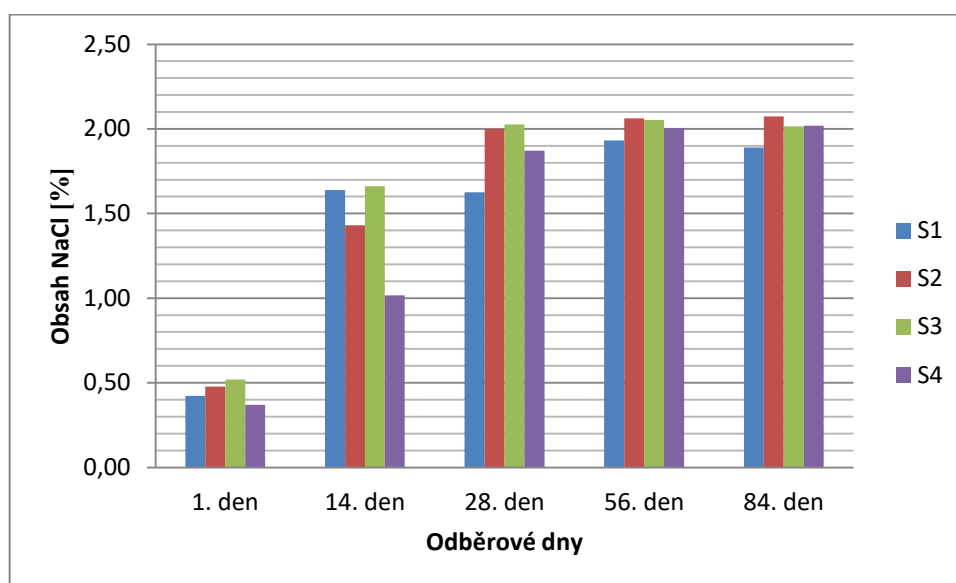
Obrázek 9 - Výsledky aktivní kyselosti vzorků S1: 50 % tvs., Flora Danica; S2: 10 % tvs., Flora Danica; S3: 50 % tvs., CHN-22; S4: 10 % tvs., CHN-22

Hodnota pH vzorků šarže S1, S3 a S4 během prvního odběrového dne (před solením sýrů) byla $4,92 \pm 0,02\%$. Tyto hodnoty jsou běžné pro sýry holandského typu (Grieger, 1990). Šarže S2 se naměřenými hodnotami vymykala již od prvního dne měření. Hodnota pH u šarže S2 byla 1. odběrový den naměřena 5,25. U šarže S2 byly naměřeny nejvyšší hodnoty pH během celé doby zrání ve srovnání se šaržemi S1, S3 a S4. Odlišný vývoj hodnot pH modelové šarže S2 ve srovnání s ostatními šaržemi (zejména v porovnání se šarží S1) byl pravděpodobně dán odlišnými fyzikálně-chemickými podmínkami (pravděpodobně obsahem tuku), příp. také sníženou aktivitou použité kultury (Flora Danica) během prokysání sýrů. V případě kultury CHN-22 nebyl tento výkyv pozorován. U všech šarží byl zaznamenán pokles hodnot pH 14. odběrový den (po solení). U šarže S1, S3 a S4 na $4,86 \pm 0,05\%$. U šarže S2 na 5,13 s dalším poklesem během 28. dne zrání na 5,08. Zároveň byl u této šarže zaznamenán nárůst hodnot pro 56. dne zrání na 5,13 s navýšením na 5,24 pro 84. dne. U ostatních šarží naopak došlo během 28. dní zrání k nárůstu hodnot pH na $4,89 \pm 0,04\%$, s následným snížením hodnot na $4,86 \pm 0,04\%$ 56. dnu od výroby. Pokles pH byl

způsoben produkcí kyseliny mléčné aktivitou použité kultury. Tento vývoj je v souladu s výsledky od Pachlové et al. (2012). Poslední, tedy 84. den, došlo ke zvýšení pH na $4,92 \pm 0,06$ %. Nárůst pH může být způsoben účinkem nezákysových bakterií mléčného kvašení, které mohou oxidovat laktát na acetát a CO_2 . Dochází k uvolňování látek zásadité povahy, což může způsobovat zvýšení pH (McSweeney, Sousa, 2000).

Stanovení obsahu soli

Modelové vzorky byly v průběhu zrání analyzovány na obsah soli. Výsledky z jednotlivých odběrových dní jsou zaneseny v Obrázku 10.



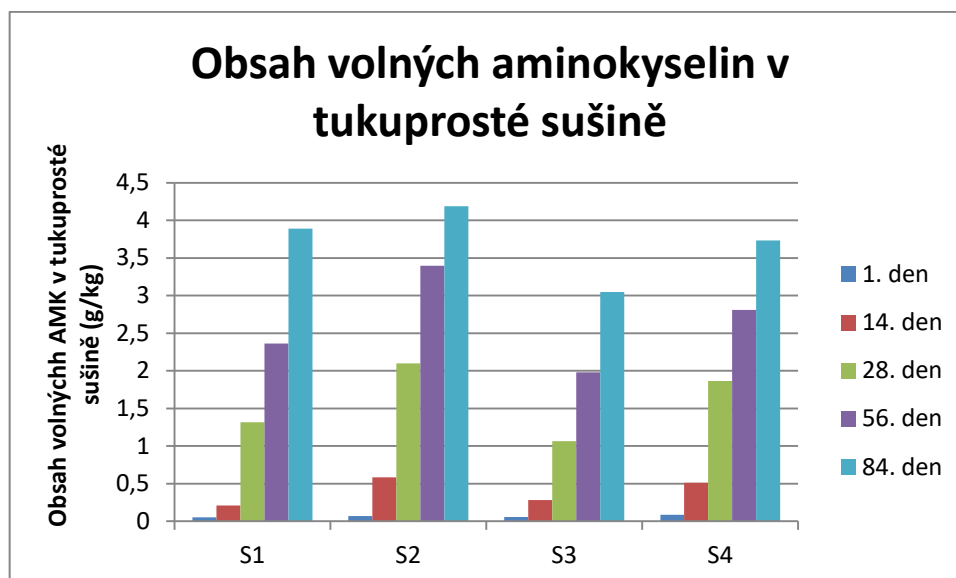
Obrázek 10 - Obsah NaCl u vzorků S1: 50 % tvs., Flora Danica; S2: 10 % tvs., Flora Danica; S3: 50 % tvs., CHN-22; S4: 10 % tvs., CHN-22

Sýry byly v 1. odběrový den analyzovány před solením. Obsah NaCl byl 1. odběrový den naměřen $0,45 \pm 0,06$ %. Od 14. dne od výroby došlo k výraznému vzestupu koncentrace NaCl na $1,44 \pm 0,30$ %. Zvýšení koncentrace NaCl může být vysvětleno tím, že sůl difunduje z povrchových vrstev do středu. Nejdříve se tedy koncentruje v povrchové vrstvě ve formě tzv. solného prstence a v průběhu zrání proniká do středu a vytváří se tzv. solné pásmo. Během 28. dne zrání došlo u šarže S2, S3 a S4 k dalšímu nárůstu koncentrace na $1,97 \pm 0,08$ %. U šarže S1 nebylo zvýšení koncentrace zaznamenáno. Od 56. dne nebyly pozorovány rozdíly obsahu soli v jednotlivých šaržích pravděpodobně v důsledku vyrovnání koncentrace v celém bloku sýra. Průměrná koncentrace 56. a 84. odběrový den byla naměřena $2,01 \pm 0,06$ % a $2,00 \pm 0,08$ %. Tento trend se shoduje se závěry od Šustové

(2012), která také uvádí, že k vyrovnávání koncentrace NaCl dochází v průběhu zrání. Z výsledků je patrné, že obsah tuku a použítá kultura neměli na koncentraci NaCl vliv.

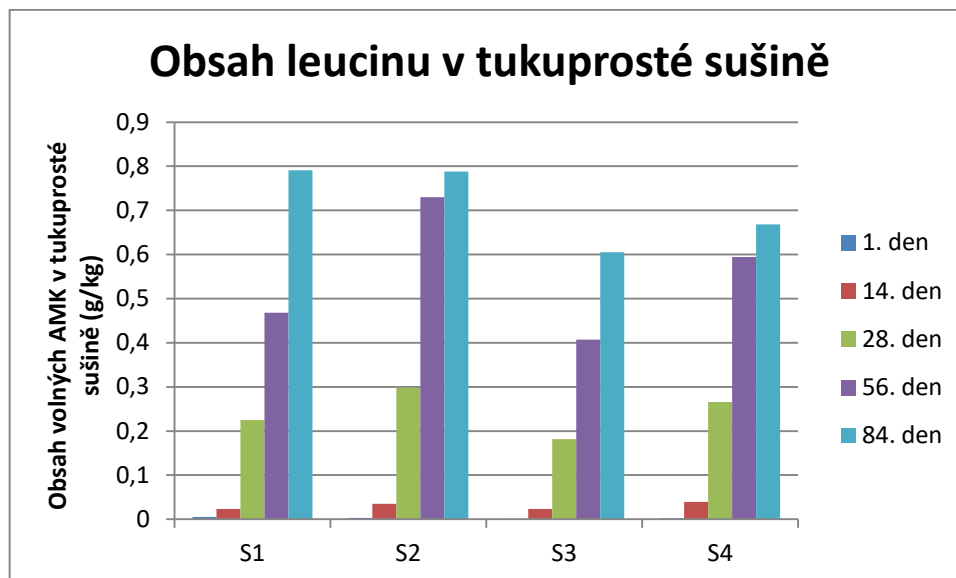
7.2 Stanovení obsahu volných aminokyselin

Vývoj obsahu volných aminokyselin v tukuprosté sušině je znázorněn na Obrázku 11. Koncentrace volných aminokyselin je prezentována v tukuprosté sušině z důvodu eliminace vlivu vlhkosti a tuku. Volné aminokyseliny jsou konečným produktem proteolýzy a jejich obsah nám poukazuje na intenzitu proteolýzy. U vzorků šarže S1, S3 byla od prvního odběrového dne detekována významně nižší množství volných AMK ve srovnání s ostatními šaržemi (S2 a S4). Tento trend může být důsledkem snížení aktivity proteolýzy způsobenou nižší aktivitou BMK a jejich enzymů na základě vyššího obsahu tuku v sušině (Exterkate a Altung, 1995). Ihned po prokysání se obsah volných AMK u šarže S1 pohyboval na hodnotě 0,05 g/kg. 14. den byla koncentrace naměřena 0,20 g/kg. V průběhu zrání, konkrétně 56. odběrový den, se obsah navýšil na 2,36 g/kg. Nejvyšší koncentrace 3,89 g/kg byla naměřena 84. den zrání. U šarže S2 byly naměřené hodnoty podstatně vyšší ve srovnání se šarží S1. První odběrový den byla koncentrace naměřena 0,07 g/kg, 14. den 0,59 g/kg, 56. odběrový den 3,39 g/kg a 84. den zrání 4,19 g/kg. V případě šarže S3 byly naměřeny následující hodnoty. První odběrový den byla koncentrace 0,58 g/kg, 14. den zrání 0,28 g/kg, 56. odběrový den 1,98 g/kg a poslední den zrání 3,05 g/kg. U šarže S4 byl obsah volných AMK 1. den zrání 0,08 g/kg, 14. den zrání 0,51 g/kg, 56. den 2,81 g/kg a poslední den 3,73 g/kg. Z výsledků je patrné, že obsah volných AMK s délkou zrání narůstal. Tyto výsledky se podle Smit et al. (2005) shodují s typickým vývojem během zrání sýrů. Vyšší hodnoty obsahu volných AMK jsou důsledkem intenzivnější hydrolyzy proteinové matrice. Nárůst obsahu volných AMK od 14. dne výroby může souviset se zvýšenou koncentrací NaCl ve vzorcích a aktivitou BMK. Zvýšený obsah soli může mít vliv na aktivitu některých peptidáz NSLAB a tím na intenzitu proteolýzy. Aktivita NSLAB je optimální až při 3 % koncentraci soli (Gobetti et al., 1999). V případě šarží S1 a S2, u kterých byla použita kultura Flora Danica, byl obsah volných AMK vyšší ve srovnání s kulturou CHN-22. Lze tedy usoudit, že kultura Flora Danica má větší proteolytickou aktivitu. Z výsledků je tedy jednoznačně patrný vliv obsahu tuku na intenzitu proteolýzy. Dále z výsledků vyplývá, že jednotlivé použité kultury se liší proteolytickou aktivitou.



Obrázek 11 - Obsah volných aminokyselin v tukuprosté sušině

Volné AMK jsou v průběhu zrání odbourány na jednodušší látky, které hrají významnou roli ve vývoji chuti a vůně sýrů. Mezi hlavní prekurzory sensoricky aktivních látek patří leucin, izoleucin, valin, fenylalanin, tyrosin a také například tryptofan (Pinho et al., 2001). Mezi sensoricky aktivní látky řadíme například amoniak, aminy, karboxylové sloučeniny atd. Tyto látky vznikají zejména reakcemi transaminace, deaminace a dekarboxylace za vzniku biogenních aminů (Buňka et al., 2012). Na Obrázku 12 je znázorněn vývoj obsahu leucinu v tukuprosté lyofilizované hmotě jako reprezentativní aminokyseliny. Obsah leucinu v průběhu zrání ve srovnání 1. a 84. odběrového dne několikanásobně vzrostl. U leucinu je viditelný stejný trend vyššího obsahu v tukuprosté sušině u šarže S1 a S2 jako u celkového obsahu volných AMK. U šarží S3 a S4 byly naměřeny nižší hodnoty ve srovnání s S1 a S2. Tyto výsledky odpovídají výsledkům ze stanovení celkového obsahu volných aminokyselin. Například aminokyseliny hydroxyprolin, β -alanin, nebo cystein nebyly vůbec detekovány.



Obrázek 12 - Obsah leucinu v tukuprosté sušině

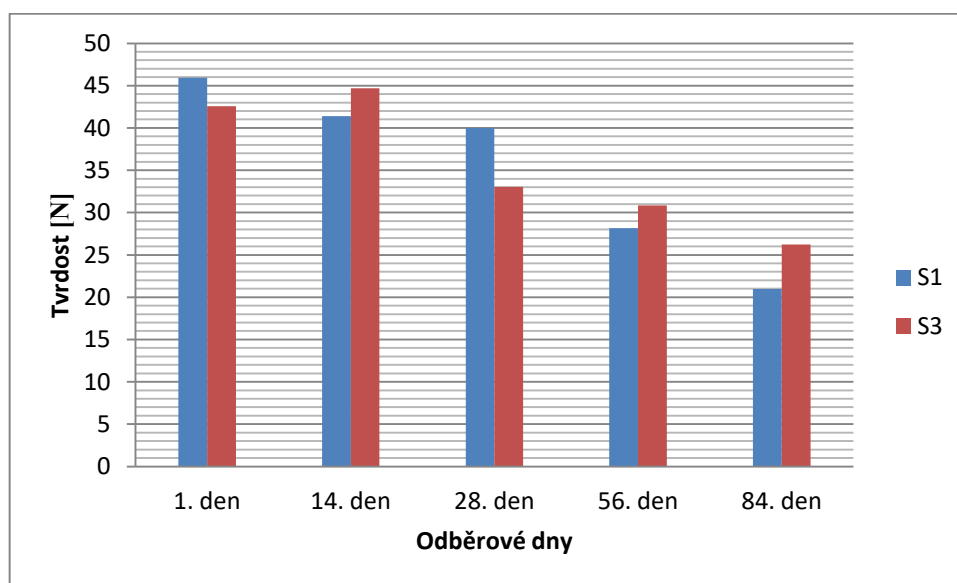
7.3 Texturní profilová analýza

V průběhu 84 dnů zrání byla analyzována tvrdost, soudržnost a lepivost modelových vzorků sýra. Výsledky jsou vyneseny v grafech (Obrázek 13, Obrázek 14, Obrázek 15).

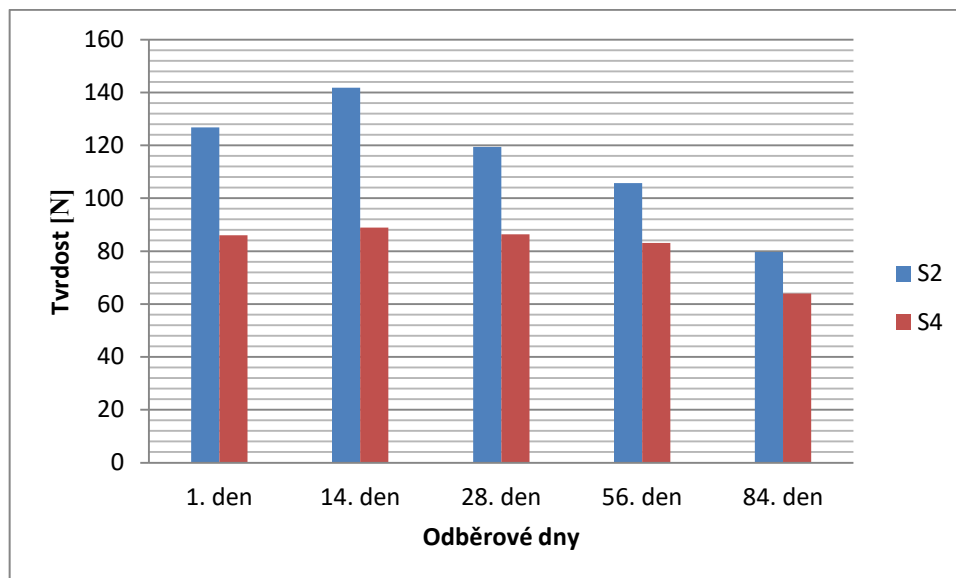
Tvrдост

Z Obrázků 13 a 14 je patrné, že tvrdost sýrů závisela především na obsahu sušiny, resp. obsahu tuku v sušině a na intenzitě proteolýzy. Sušina sýrů S2 a S4 je nižší než sušina sýrů S1 a S3, což je samozřejmě dáno nižším obsahem tuku (10 % tvs), který je součástí sušiny sýrů. U vzorků S1 a S3 s vyšší tučností (50 % tvs) můžeme vidět nižší hodnoty tvrdosti ve srovnání se vzorky sýrů S2 a S4 v průběhu skladovacího experimentu. Tyto výsledky potvrzuje i Chen et al (1979), který uvádí, že se zvyšujícím se obsahem tuku tvrdost sýrů klesá. Při srovnání použitých kultur dosahovala šarže S4 po prokysání přibližně 70 % tvrdosti šarže S2 (1. odběrový den). Pokles tvrdosti u šarže S4 je viditelný až v 84. dni ve srovnání se šarží S2. U všech vzorků byla pozorovatelná klesající tendence hodnot tvrdosti v závislosti na odběrových dnech. U všech šarží byly naměřeny nejnižší hodnoty tvrdosti poslední, tedy 84. odběrový den. Tyto výsledky se shodují se závěry studie od Murtaza et al. (2014), který sledoval u vzorků v průběhu zrání pokles tvrdosti v důsledku hydrolýzy proteinové matrice. Tu může vyvolat proteolytická aktivita zákysových a nezákysových bakterií mléčného kvašení. Také Lawrence et al. (1987) uvádí, že hlavním faktorem, který ovlivňuje měkkčí texturu sýrů, je intenzivnější proces hydrolýzy proteinové matrice. Tato

skutečnost byla stanovením obsahu volných aminokyselin potvrzena. V případě šarže S1 můžeme vidět postupný pokles hodnot tvrdosti v závislosti na odběrových dnech. U šarže S2, S3 a S4 se pokles tvrdosti vymyká sledovanému trendu. Během 14. odběrového dne byl zaznamenán nárůst tvrdosti vzorků ve srovnání s 1. odběrovým dnem. Vyrobené modelové vzorky byly soleny ponořením do solné lázně a tento vývoj tvrdosti lze s největší pravděpodobností vysvětlit difúzí NaCl z okrajových částí sýra do středových vrstev. Buňka et al. (2013) uvádí, že během zrání sýrů difuze NaCl do středu sýra postupně ustává a dochází k vyrovnání obsahu NaCl v celém bloku sýra.



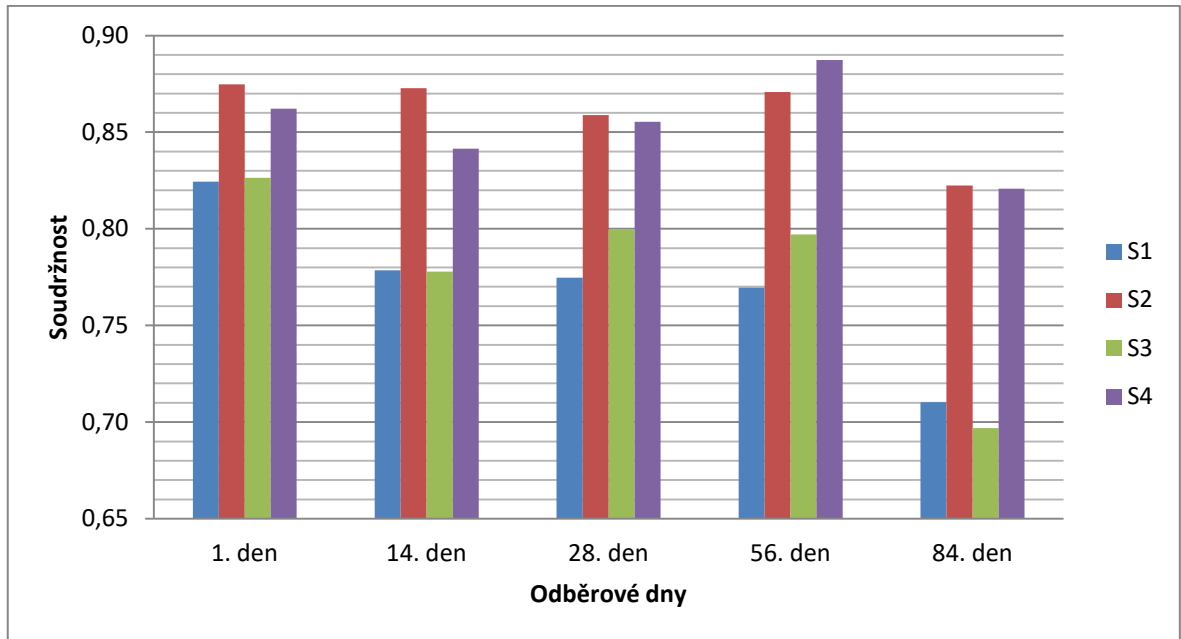
Obrázek 13 - Tvrlost vzorků S1: 50 % tvs, Flora Danica; S3: 50 % tvs, CHN-22



Obrázek 14 - Tvrdość vzorků S2: 10 % tvs, Flora Danica; S4: 10 % tvs, CHN-22

Soudržnosť

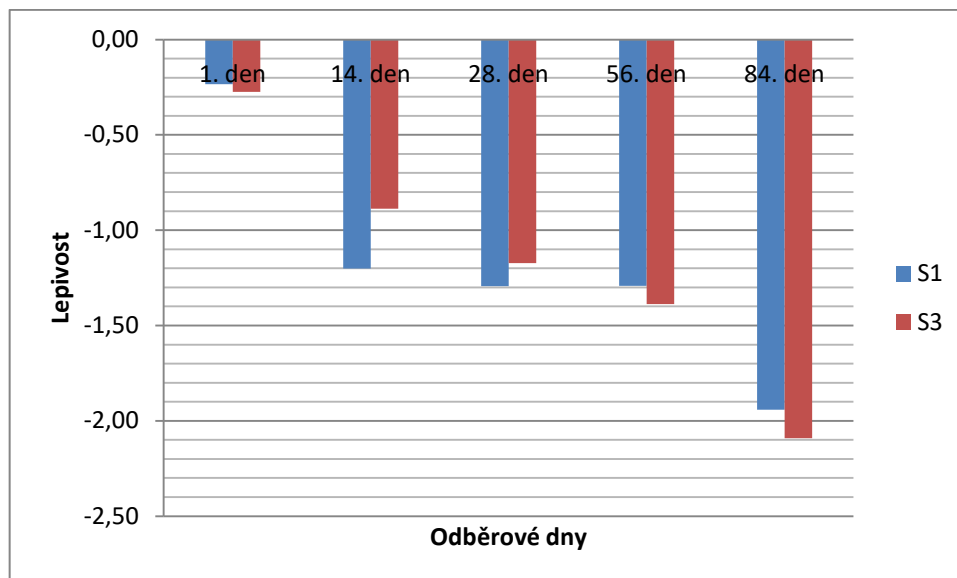
Dalším texturním parametrem sledování byla soudržnosť, která udává pevnost vnitřních vazeb v potravíně. Soudržnosť je vyjádřena jako poměr plochy píků A2/A1. Výsledky jsou znázorněny na Obrázku 15. Z výsledků je patrné, že se zvyšujícím se obsahem tuku je soudržnosť nižší. Během skladovacího experimentu nedocházelo k výrazným rozdílům v soudržnosti. Pouze 56. odběrový den je pozorovatelný u šarží S2 a S4 mírný nárůst hodnot soudržnosti na $0,85 \pm 0,05$ což může poukazovat na rozdílný vliv použité kultury na soudržnosť vzorků. Poslední odběrový den došlo k poklesu hodnot u šarže S2 a S4 na 0,82. U šarže S3 se hodnota snížila na 0,63. U šarže S1 došlo k poklesu z 0,77 (28. odběrový den) na 0,71.



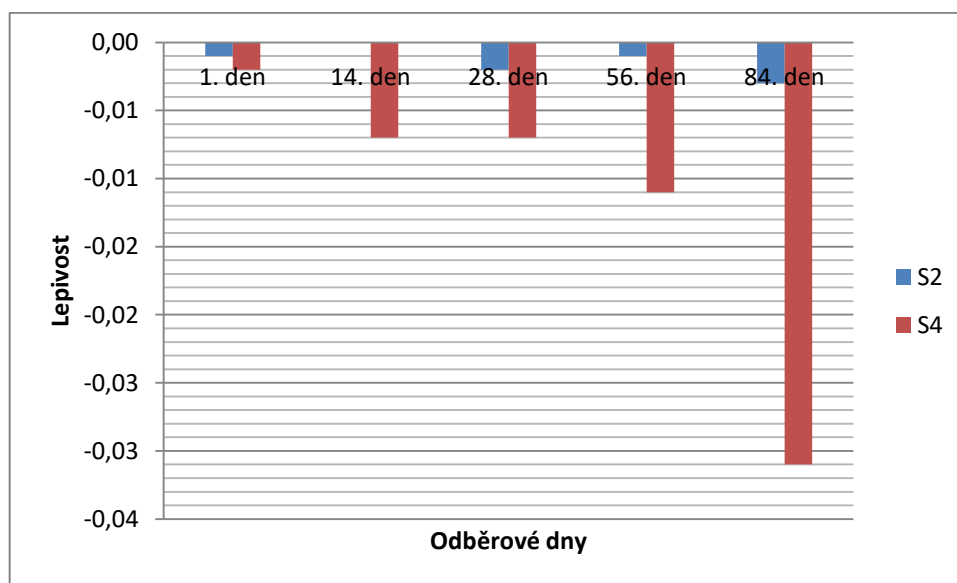
Obrázek 15 - Soudržnost vzorků S1: 50 % tvs, Flora Danica; S2: 10 % tvs, Flora Danica; S3: 50 % tvs, CHN-22; S4: 10 % tvs, CHN-22

Lepivost

Dalším významným sledovaným texturním parametrem byla lepivost vzorků. Výsledné hodnoty jsou zaneseny v grafu na Obrázku 16 a 17. Z výsledků hodnot lepivosti vyplývá, že u vzorků s vyšším obsahem tuku v sušině, tedy vzorky S1 a S3, je viditelný postupný nárůst hodnot v závislosti na odběrových dnech. Nárůst hodnot lepivosti může být způsoben intenzitou proteolytických reakcí, činností nativních enzymů mléka, nebo zbytkovou aktivitou syřidla (Law a Tamime, 2010). U vzorku S4 je viditelný výrazný nárůst hodnot oproti vzorku S2. Tento nárůst hodnot lepivosti může být způsoben použitou kulturou CHN-22. Ve srovnání se šaržemi S1 a S3 je však i maximum velmi nízké.



Obrázek 16 - Lepivost vzorků S1: 50 % tvs, Flora Danica; S3: 50 % tvs, CHN-22



Obrázek 17 - Lepivost vzorků S2: 10 % tvs, Flora Danica; S4: 10 % tvs, CHN-22

8 ZÁVĚR

Diplomová práce byla zaměřena na vliv obsahu tuku na proteolytickou aktivitu čistých mlékařských kultur a zrání sýrů. Z tohoto důvodu byla v teoretické části věnována pozornost charakteristice základních složek mléka, výrobě sýrů holandského typu a na biochemické procesy během zrání sýrů se zaměřením na proteolýzu.

Praktická část zahrnovala výrobu modelových vzorků sýrů holandského typu o cílové tučnosti 10 % a 50 %, kdy tyto vysoké rozdíly v obsahu tuku byly zvoleny z důvodu prokázání, či vyvrácení vlivu tuku na sledované parametry. Vzorky se lišily také v použité kultuře. Po výrobě sýrů byl založen skladovací experiment, během něhož byly vzorky v předem stanovených odběrových dnech odebírány k analýzám. V průběhu zrání byla prováděna základní chemická analýza (pH, obsah sušiny, obsah soli), texturní profilová analýza a analýza obsahu volných aminokyselin.

Z výsledků získaných během skladovacího experimentu lze usoudit, že obsah tuku má významný vliv na průběh biochemických procesů v průběhu zrání sýrů, zejména tedy na proteolýzu.

Z jednotlivých analýz vyplynuly tyto výsledky:

- Změny v obsahu sušiny byly během zrání minimální a neměly tedy pravděpodobně vliv na biochemické procesy během zrání sýrů a vývoj tvrdosti,
- během zrání sýrů nebyly pozorovány významné změny v obsahu tuku u jednotlivých šarží,
- u vzorku s nižším obsahem tuku v sušině a použitou kulturou *Flora Danica* byly zaznamenány vyšší hodnoty aktivní kyselosti od sledovaného trendu ostatních modelových vzorků,
- obsah tuku a použitá kultura neměli na obsah soli vliv,
- tvrdost, soudržnost a lepivost je výrazně závislá na obsahu tuku v sušině,
- ze stanovení volných aminokyselin vyplývá, že intenzita proteolýzy je nejvyšší u sýrů s nižším obsahem tuku v sušině a za použití kultury *Flora Danica*.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ANDĚL, Michal. Sýry a tvarohy ve výživě. Praha: Česká technologická platforma pro potraviny, 2012. Publikace České technologické platformy pro potraviny. ISBN 978-80-905096-2-7.

BERESFORD, T. P., N. A. FITZSIMONS, N. L. BRENNAN, T. M. COGAN. Recent advances in cheese mikrobiology. International Dairy Journal [online]. 2001, vol. 11, 4 – 7 [cit. 2017-04-17]. ISSN 0958-6946. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694601000565>.

BUCEK, P. Genetické parametry koagulace mléka a jejich vztah k produkčním ukazatelům, Náš chov. Profi press s.r.o., Praha, 2009, č. 1, s. 29 – 30. ISSN 0027-8068.

BUŇKA, F., V. PACHLOVÁ, L. BUŇKOVÁ a M. ČERNÍKOVÁ. Mlékárenská technologie I. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013. ISBN 978-80-7454-254-1.

BUŇKA, F., V. PACHLOVÁ, I. BUREŠOVÁ, L. PERNICKÁ a L. BUŇKOVÁ. Využití Pelegova modelu pro hodnocení jakosti přírodních sýrů v průběhu zrání. Potravinářstvo [online]. 2013, 7 [cit. 2017-04-20]. Dostupné z: http://www.potravinarstvo.com/dokumenty/mc_march_2013/bezpecnost_potravin_zivocisneho_povodu/bunka.pdf

BUŇKA F., V. PACHLOVÁ, L. BUŇKOVÁ, J. HRABĚ. Změny jakosti v průběhu zrání polotvrdých sýrů. Sýry - Zlín - 2012: perspektivy výroby sýrů a hodnocení jejich jakosti: mezinárodní konference: Zlín, 15. listopadu 2012 : sborník příspěvků. Vyd. 1. Editor Ivan Holko. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2012, 1 CD-ROM. ISBN 978-80-7454-231-2.

BROOME, M. C, G. K. Y. LIMSOWTIN. Starter peptidase activity in maturing cheese. Australian Journal of Dairy Technology, 1998.

BYLUND, G. Dairy processing handbook. Lund: Tetra Pack Processing Systems AB, 1995.

DONNELLY, Catherine W. Cheese and Microbes. American Society for Microbiology (ASM), 2014 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpCM000021/cheese-and-microbes>

DRDÁK, Milan. Základy potravinárskych technológií spracovania rastlinných a živočíšnych surovín, cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín. Bratislava: Malé Centrum, 1996. ISBN 80-967-0641-1.

EDITED BY YOSHINORI MINE a FERREIDOOON SHAHIDI a EDITORS. Nutraceutical proteins and Peptides in Health and Disease. Hoboken: CRC Press, 2005. ISBN 978-1-4200-2883-6.

EDITED BY ZDISLAW E. SIKORSKI a Anna KOLAKOWSKA. Chemical and functional properties of food lipids. Boca Raton, Fla: CRC Press, 2003. ISBN 978-1-4200-3199-7.

EDITED BY ZDISLAW E. SIKORSKI a Anna KOLAKOWSKA. Chemical, Biological and Functional Aspects of Food Lipids. 2nd ed. Hoboken: CRC Press, 2010. ISBN 978-1-4398-0238-0.

ESKIN, N. A. Biochemistry of foods (3rd Edition). Elsevier. 2013 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpBFE00012/biochemistry-foods-3rd/biochemistry-foods-3rd>

ET-THAKAFY, O., F. GUYOMARC'H a CH. LOPEZ. Lipid domains in the milk fat globule membrane: Dynamics investigated *in situ* in milk in relation to temperature and time. Food Chemistry [online]. 2017, č. 220 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://dx.doi.org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.foodchem.2016.10.017>.

EXTERKATE, Fred A. a Arno C. ALTING. The role of starter peptidases in the initial proteolytic events leading to amino acids in Gouda cheese. *International Dairy Journal* [online]. 1995, vol. 5, issue 1, s. 15-28 [cit. 2017-05-04]. DOI: 10.1016/0958-6946(94)p1596-6.

FLOURY, J. et al. Reducing salt level in food: Part 1. Factors affecting the manufacture of model cheese systems and their structure-texture relationships. *Food Science and Technology* [online]. 2009, vol. 42, 10 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://dx.doi.org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.lwt.2009.05.026>.

FOREJT, Martin. Dusičnany v potravinách. *Medicína pro praxi* [online]. 2008, 5(9), 333-334 [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <http://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2008/09/13.pdf>

FORMAN, Ladislav. *Mlékárenská technologie II*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1994. ISBN 80-7080-214-6.

FOX, Patrick. Proteolysis During Cheese Manufacture and Ripening. *Journal of Dairy Science* [online]. 1989 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(89\)79246-8/abstract](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(89)79246-8/abstract).

FOX, P. F., GUINEE, T. P., COGAN, T. M.: *Fundamentals of cheese science*, Aspen Publisher, Inc. Maryland, 2000, ISBN 0-8342-1260-9

FOX, Patrick, F. MCSWEENEY, Paul L. H. COGAN, Timothy M. GUINEE, Timothy P. *Cheese – Chemistry, Physics and Microbiology (3rd Edition)*. Elsevier [online]. 2004 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpCCPME001/cheese-chemistry-physics>

GAJDŮŠEK, Stanislav. *Mlékařství II*. 1. vyd. Brno: MZLU, 2002. ISBN 80-7157-342-6.

GANDHI, A., P. NAGENDRA. Effects of salt concentration and pH on structural and functional properties of *Lactobacillus acidophilus*: FT-IR spectroscopic analysis. International Journal of Food Microbiology [online]. 2014, vol. 173 [cit. 2017-04-17]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.015.

GRIEGER, CELESTÍN. Hygiena mléka a mléčných výrobků. Bratislava: Příroda [u.a.], 1990. ISBN 8007002537.

GOBBETTI, Marco, Rosalba LANCIOTTI, Maria DE ANGELIS, Maria ROSARIA CORBO, Roberto MASSINI a Patrick F. FOX. Study of the effects of temperature, pH and NaCl on the peptidase activities of non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) by quadratic response surface methodology. International Dairy Journal. 1999, vol. 9, issue 12, s. 865-875. DOI: 10.1016/S0958-6946(99)00156-9. [cit. 2017-05-2]. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694699001569>

GUINEE, T. P. Salting and the role of salting in cheese. International Journal of Dairy Technology [online]. 2004, č. 57. s. 99 – 109 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-0307.2004.00145.x/epdf?r3_referer=wol&tracking_action=preview_click&show_checkout=1&purchase_referrer=www.google.cz&purchase_site_license=LICENSE_DENIED_NO_CUSTOMER

HRABĚ, Jan, Pavel BŘEZINA a Pavel VALÁŠEK. Technologie výroby potravin živočišného původu: bakalářský směr. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2006. ISBN 80-7318-405-2.

HANUŠ, O. et al. Význam sledování minoritních složek mléka pro zdraví zvířat a analytické možnosti jejich monitoringu. Mlékařské listy, 2011, č. 127 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2011/127_s.xiv-xix.pdf

CHEN, A. H., J. W. LARKIN, C. J. CLARK a W. E. IRWIN. Textural analysis of cheese. *Journal of dairy science* [online]. 1979, 6, 901-907 [cit. 2017-04-17]. DOI: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(79\)83346-9](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(79)83346-9).

ISO 11 036, Sensory analysis – Methodology – Texture profile, International Standard Organization, 1994.

JANŠTOVÁ B., P. NAVRÁTILOVÁ. *Produkce mléka a technologie mléčných výrobků*. VFU Brno, 2014. 108 s. ISBN 978-80-7305-713-8.

KADLEC, Pavel. *Technologie potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. ISBN 80-7080-510-2.

KADLEC, Pavel, Karel MELZICH a Michal VOLDŘICH. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing, 2009. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-051-4.

KALACH, P., M. KRÍŽEK. Biogenní aminy a polyamidy v potravinách, *Výživa a potraviny*, 2002. 12 – 13, s. 53 – 56.

KLIMEŠOVÁ, Iva a Jiří STELZER. *Fyziologie výživy*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2013. ISBN 978-80-244-3280-9.

KNĚZ, V., Č. OLŠANSKÝ. *Výroba tvrdých sýrů eidamského a ementálského typu*. Praha: Česká akademie zemědělská, 1971. Technické publikace.

LAW, B. A. a A. Y. TAMIME. *Technology of cheesemaking*. 2nd ed. Malden, MA: Blackwell, 2010. ISBN 978-1-4051-8298-0.

LAWRENCE, R.C., CREAMER, L.K., GILLES, J. Symposium: Cheese ripening technology. *Journal of Dairy Science*. 1987, 70, 1748-1760.

LÓPEZ-EXPÓSITO, I., L. AMIGO & I. RECIO. Dairy Science & Technology [online]. 2012, č. 92, s. 419 [cit. 2017-04-17]. DOI:10.1007/s13594-012-0066-5.

McCARTHY, Catherine, M. G. WILKINSON, P. M. KELLY, T. P. GUINEE. Effect of salt and fat reduction on proteolysis, rheology and cooking properties of cheddar cheese. *International Dairy Journal* [online]. 2016, vol. 56 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://dx.doi.org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.idairyj.2016.01.001>.

MCSWEENEY, Paul L. H. Souhrn přednášky o zrání přírodních sýrů přednesený dne 5. září 2013 na Fakultě technologické Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně. *Mlékařské listy* [online]. 2013, (141), 6-9 [cit. 2017-04-15]. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2013/141_vi-ix.pdf

McSWEENEY, Paul L. H. The Science of Cheese Ripening. *Potravinářská revue* [online]. č. 1/2014. s. 76 – 82 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://www.agral.cz/LinkClick.aspx?fileticket=kunnXHWwB%2bc%3d&tabid=730&language=cs-CZ>.

MURTANZA, M.A., N. HUMA, A. SAMEEN, M.S. MURTAZA, S. MAHMOOD, G. MUEEN-UD-DINA a A. MERAJ. Texture, flavor, and sensory quality of buffalo milk Cheddar cheese ai influenced by reducing soudium salt content. *Journal of Dairy Science* [online]. 2014, vol. 97, 11, s. 6700 – 6707 [cit. 2017-04-17]. DOI: 10.3168/jds.2014-8046.

NAŘÍZENÍ 1829/2003: Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1829/2003 o geneticky modifikovaných potravinách a krmivech, v platném znění [online] [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/legislativa/legislativa-gmo/legislativa-cr/>.

NAŘÍZENÍ 133/2008: Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách, v platném znění [online] [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: https://web.vscht.cz/~kocourev/files/Reg_1333-2008-aditiva.pdf

NAŘÍZENÍ 853/2004: Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, v platném znění [online] [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://www.khsjih.cz/soubory/predpisy-eu/narizeni-eu-853.pdf>

NAVRÁTILOVÁ, Pavlína. Hygiena produkce mléka. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2012. ISBN 978-80-7305-624-7.

O. K. SERVIS Biopro, s.r.o. Mlékárenský průmysl [online]. [cit. 2017-04-19]. Dostupné z: <http://www.biopro.cz/Ingredience/Mlekarensky-prumysl/>.

ORSÁGOVÁ, Renata. Změny kyselosti a vodní aktivity v průběhu zrání Eidemských sýrů [online]. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2009 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: http://digilib.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/10552/ors%C3%A1gov%C3%A1_2009_dp.pdf?sequence=1

PACHLOVÁ, V., F. BUŇKA, R. FLASAROVÁ, P. VÁLKOVÁ, L. BUŇKOVÁ. The effect of elevated temperature on ripening of Dutch type cheese. Food Chemistry [online]. 2012, vol. 132, 4. ISSN 0308-8416 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814611017729>.

PACHLOVÁ, V., E. WEISEROVÁ, M. ŽALUDEK, K. HLADKÁ, S. KRÁČMAR a F. BUŇKA. Změny vybraných jakostních parametrů u přírodních sýrů v průběhu půlročního zrání/skladování za různých teplot. Potravinářstvo [online]. 2010, 4(mimořádné číslo), 217-223 [cit. 2017-04-21]. Dostupné z: http://www.potravinarstvo.com/dokumenty/mc_februar_2010/pdf/2/Pachlova.pdf

PEREIRA, C. Paula. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition* [online]. 2014, č. 30, s. 619-627 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://dx.doi.org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.nut.2013.10.011>.

PERLÍN, Ctibor. Zpracování vysokým tlakem: aplikace při výrobě sýrů a jejich zrání. *Agro navigátor* [online]. 2002, (4969) [cit. 2017-04-15]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/service.asp?act=email&val=4969>

PINHO, O., FERREIRA, I.M.P.L.V.O., MENDES, E., OLIVEIRA, B.M., FERREIRA, M. Effect of temperature on evolution of free amino acid and biogenic amine contents during storage of Azeitão cheese. *Food Chemistry*. 2001, 75, p. 287-291.

PONS, M., FISZMAN S. M. J. *Texture Stud.* 27, 1997, s. 597.

PROCHÁZKOVÁ, Eva. Studium hydrolytických a oxidačních změn tuku u válcově sušeného plnotučného mléka. Zlín. 2013 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: https://dspace.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/21968/proch%C3%A1zkov%C3%A1_2012_dp.pdf?sequence=1. Disertační. UTB.

ROGINSKI, Hubert., John W. FUQUAY a P. F. FOX. *Encyclopedia of dairy sciences*. New York: Academic Press, 2003. ISBN 0122272358.

SMIT, Gerrit. *Dairy processing – Improving Quality*. Woodhead Publishing. 2003 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpDPIQ0003/dairy-processing-improving/dairy-processing-improving>

SMIT, G., SMIT, B.A., ENGELS, W.J.M. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Re-views* [online]. 2005, 29(3), 591-610 [cit. 2017-05-1]. ISSN 1574-6976. Dostupné z: <http://femsre.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1016/j.fmrre.2005.04.00>

SOUSA, M. J., Y. ARDÖ, P. L. H. McSWEENEY. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening: FT-IR spectroscopic analysis. *International Dairy Journal*. 2001. Vol. 11, 4 – 7 [cit. 2017-04-17]. DOI: 10.1016/s0958-6946(01)00062-0.

ŠUSTOVÁ, K. Solení sýrů. *Farmářská výroba sýrů a kysaných mléčných výrobků: sborník referátů ze semináře s mezinárodní účastí*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2012. ISBN 978-80-7375-613-0.

TALAEI, Mohammad, PAN A, YUAN J, KOH W. J NUTR. Dairy food intake is inversely associated with risk of hypertension: The Singapore Chinese health study. *American society for nutrition* [online]. 2017, 147(2), s. 235-241 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.3945/jn.116.238485>.

TOMŠÍKOVÁ, Lucie. Preference spotřebitelů při výběru sýrů holandského typu. Zlín, 2011. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta Technologická.

VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin. Rozšířené a přepracované 3. vyd.* Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.

WALSTRA, Pieter. The syneresis of curd. In FOX, P. F.: *Cheese: Chemistry, physics, and microbiology - Volume 1. General aspects*. 2nd ed. Chapman & Hall, London. 1993. ISBN 0-412-53500-9.

WALSTRA, Pieter, JAN T. M. WOUTERS a T. J. GEURTS. *Dairy science and technology*. 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. ISBN 978-1-4200-2801-0.

WALSTRA, Pieter, J. T. Cheese Manufacture. Chapter 24. 2005. V J. T. Pieter Walstra Food Science and Technology. Taylor and Francis Group, LLC.

WATKINSON P. ET AL. Effect of cheese pH and ripening time on model cheese texture properties and proteolysis. International Dairy Journal [online]. 2001, vol. 11, 4 – 7 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S095869460100070X>

YANACHKINA, P., C. McCARTHY, T. GUINEE, M. WILKINSON. Effect of varying the salt and fat content in cheddar cheese on aspects of the performance of a commercial starter culture preparation during ripening. International Journal of Food Microbiology [online]. 2016, vol. 224 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://dx.doi.org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.02.006>

ZÁKON Č. 78/2004: Zákon č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty [online] [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/legislativa/legislativa-gmo/legislativa-cr/>.

ZHAO, XIAOWEI, J. WANG, Y. YANG, D. BU, H. CUI, Y. SUN, X. XU, L. ZHOU. Effects of different fat mixtures on milk fatty acid composition and oxidative stability of milk. Animal Feed Science and Technology [online]. 2013, č. 185 [cit. 2017-04-17]. Dostupné z: <http://dx.doi.org.proxy.k.utb.cz/10.1016/j.anifeedsci.2013.06.009>.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

VMK	Volné mastné kyseliny
NSLAB	Non-starterové bakterie mléčného kvašení
KTJ	Kolonie tvořící jednotka
AMK	Aminokyseliny
ČMK	Čisté mlékařské kultury
tvS	Tuk v sušině
GMO	Geneticky modifikovaný organismus
MPa	Megapaskal (jednotka tlaku)
MFGM	Milk fat globule membrane (membrána obklopující tukové kuličky)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Obecný vzorec triacylglycerolu.....	15
Obrázek 2 - Membrána tukových kuliček.....	16
Obrázek 3 - Odsmetaňovací odstředivka.....	19
Obrázek 4 - Proteolýza sýrů.....	29
Obrázek 5 - Přímé a nepřímé faktory ovlivňující zrání sýrů.....	36
Obrázek 6 - Křivka texturní profilové analýzy.....	46
Obrázek 7 - Obsah sušiny vzorků S1: 50 % tvs., Flora Danica; S2: 10 % tvs., Flora Danica; S3: 50 % tvs., CHN-22; S4: 10 % tvs., CHN-22.....	48
Obrázek 8 - Obsah tuku v sušině vzorků S1: 50 % tvs., Flora Danica; S2: 10 % tvs., Flora Danica; S3: 50 % tvs., CHN-22; S4: 10 % tvs., CHN-22.....	49
Obrázek 9 - Výsledky aktivní kyselosti vzorků S1: 50 % tvs., Flora Danica; S2: 10 % tvs., Flora Danica; S3: 50 % tvs., CHN-22; S4: 10 % tvs., CHN-22.....	50
Obrázek 10 - Obsah NaCl u vzorků S1: 50 % tvs., Flora Danica; S2: 10 % tvs., Flora Danica; S3: 50 % tvs., CHN-22; S4: 10 % tvs., CHN-22.....	51
Obrázek 11 - Obsah volných aminokyselin v tukuprosté sušině.....	53
Obrázek 12 - Obsah leucinu v tukuprosté sušině.....	54
Obrázek 13 - Tvrdost vzorků S1: 50 % tvs, Flora Danica; S3: 50 % tvs, CHN-22.....	55
Obrázek 14 - Tvrdost vzorků S2: 10 % tvs, Flora Danica; S4: 10 % tvs, CHN-22.....	56
Obrázek 15 - Soudržnost vzorků S1: 50 % tvs, Flora Danica; S2: 10 % tvs, Flora Danica; S3: 50 % tvs, CHN-22; S4: 10 % tvs, CHN-22.....	57
Obrázek 16 - Lepivost vzorků S1: 50 % tvs, Flora Danica; S3: 50 % tvs, CHN-22.....	58
Obrázek 17 - Lepivost vzorků S2: 10 % tvs, Flora Danica; S4: 10 % tvs, CHN-22.....	58

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 - Charakteristika vyrobených modelových vzorků.....	41
---	----