

# Vliv použité kultury na vybrané parametry sýrů zabalených v potravinářském vosku

Jiří Ludvík

---

Bakalářská práce  
2020

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2019/2020

## **ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Jiří Ludvík**  
Osobní číslo: **T17123**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**  
Forma studia: **Prezenční**  
Téma práce: **Vliv použité kultury na vybrané parametry sýrů zabalených v potravinářském vosku**

### **Zásady pro vypracování**

#### **I. Teoretická část**

1. Charakterizujte zrání přírodních sýrů. Popište vliv mikrobiálních a biochemických změn na vlastnosti sýra. Popište faktory, které ovlivňují intenzitu změn v průběhu zrání.
2. Charakterizujte biogenní aminy. Popište možné způsoby, které mohou snížit finální koncentraci biogenních aminů v potravinách.

#### **II. Praktická část**

1. Vytvořte modelové vzorky sýrů za použití vybraných kultur. Potravinářský vosk aplikujte jako obalový materiál.
2. Sledujte vývoj vybraných parametrů (základní chemické parametry a další vlastnosti) v modelových šaržích v průběhu zrání.
3. Vyhodnoťte výsledky, diskutujte je s literaturou a vyvoďte závěry.

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

**Seznam doporučené literatury:**

- [1] DONNELLY, Catherine W. Cheese and microbes. Washington, District of Columbia: ASM Press, 2014. ISBN 978-1-55581-859-3.
- [2] FOX, P. F. Cheese: chemistry, physics, and microbiology. 3rd ed. London: Elsevier, 2004. ISBN 0122636538.
- [3] LINARES, Daniel M., Beatriz DEL RÍO, Víctor LADERO, Noelia MARTÍNEZ, María FERNÁNDEZ, María Cruz MARTÍN a Miguel A. ÁLVAREZ. Factors Influencing Biogenic Amines Accumulation in Dairy Products. *Frontiers in Microbiology*. 2012, 3.
- [4] ZULJAN, Federico Alberto, Pablo MORTERA, Sergio Hugo ALARCÓN, Víctor Sebastián BLANCATO, Martín ESPARIZ a Christian MAGNI. Lactic acid bacteria decarboxylation reactions in cheese. *International Dairy Journal*. 2016, 62, 53-62.

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

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2020**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **22. května 2020**

L.S.

---

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

---

**doc. RNDr. Iva Burešová, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 17. února 2020

## **PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

### **Prohlašuji,**

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## ABSTRAKT

Cílem práce bylo sledovat vliv použité kultury na kvalitu přírodního sýra holandského typu zabaleného v potravinářském vosku. Kmen *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CCDM 946 byl použit jako producent biogenních aminů (šarže Pv) a jako degradér biogenních aminů byl použit kmen *Lactobacillus casei* CCDM 198 (šarže Dv). Současně byla vyrobena kontrolní šarže bez těchto kmenů (Kv). Sýry zrály po dobu 84 dní. V průběhu této doby byla prováděna chemická analýza vzorků, a to pomocí stanovení pH, obsahu tuku v sušině, obsahu sušiny a obsahu soli. Byla též provedena texturní analýza. Z experimentu plyne několik hlavních výsledků: Během zrání mělo pH do 28. dne klesající trend a následně pH rostlo až do konce experimentu. Důvodem nárůstu pH byl rozklad kyseliny mléčné na laktózu a důvodem následovného poklesu bylo zřejmě uvolňování amoniaku při proteolýze. Po 14 dnech došlo k mírnému nárůstu obsahu sušiny, na konci zrání byl naopak pozorován mírný pokles obsahu sušiny. Nárůst obsahu sušiny byl pravděpodobně způsoben snížením obsahu vody odparem a pokles sušiny byl způsoben vlivem biochemických procesů. Dále docházelo k nepatrným změnám obsahu tuku v sušině a malým změnám v obsahu soli. Tvrdost sýra v průběhu zrání rostla, a to u šarží Kv a Pv výrazným způsobem, ovšem u šarže Dv jen nepatrně. Vzorek sýra ze šarže Dv byl tedy na konci zrání měkčí než vzorky ze šarží Kv a Pv.

Klíčová slova: biogenní aminy, sýr holandského typu, mikrobiologická kultura

## ABSTRACT

The aim of this study was to investigate influence of used culture on quality of cheese packaged in food wax. Strain *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CCDM 946 (batch Pv) was used as a producer of biogenic amines and strain *Lactobacillus casei* CCDM 198 (batch Dv) was used as a degrader. At the same time control batch (Kv) was produced. Ripening of cheese took 84 days. During this process, analysis of samples was carried out by determination of pH value, content of fat in dry matter, dry matter content and salt. The texture analysis was measured, too. The experiment shows several main results: During the

ripening of cheese the pH decreasing trend by 28 days and then the pH increased until the end of the experiment. The reason for the increase of pH was the decomposition of lactic acid into lactose and the reason for the subsequent decrease was probably the release of ammonia during proteolysis. After 14 days there was a slight increase in dry matter content, probably due to decrease in water content by evaporation and the decrease in dry matter was due to biochemical processes. There were also slight changes in the fat content of the dry matter and small changes in the salt content. The hardness of the cheese increased significantly during ripening in Kv and Pv batches, but only slightly in Dv batch. The cheese sample from batch Dv was therefore softer at the end of ripening than the samples from batches Kv and Pv.

Key words: biogenic amines, Dutch – type cheese, microbiological culture

Rád bych poděkoval vedoucí své bakalářské práce doc. Vendule Pachlové, Ph.D za její rady, ochotu a trpělivost při psaní bakalářské práce. Rád bych také poděkoval mgr. Soně Pyšnakové za její pomoc při opravě pravopisné stránky bakalářské práce. Rád bych také poděkoval Mgr. Richardu Adámkovi za jeho asistenci při vykonávání praktické části bakalářské práce.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 SÝR</b> .....	<b>12</b>
1.1 ROZDĚLENÍ SÝRŮ .....	13
<b>2 ZRÁNÍ SÝRŮ</b> .....	<b>16</b>
2.1 BIOCHEMICKÉ FAKTORY .....	16
2.1.1 Glykolýza zbytkové laktózy a katabolismus laktátu .....	16
2.1.2 Katabolismus citrátu.....	17
2.1.3 Lipolýza a katabolismus volných mastných kyselin .....	18
2.1.4 Proteolýza a katabolismus aminokyselin .....	19
2.2 MIKROBIÁLNÍ FAKTORY .....	20
2.2.1 Bakterie .....	20
2.2.2 Kvasinky a plísně .....	21
2.3 PRŮBĚH ZRÁNÍ SÝRA .....	22
2.4 URYCHLENÍ ZRÁNÍ SÝRA .....	23
2.5 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ INTENZITU ZMĚN V PRŮBĚHU ZRÁNÍ .....	23
2.5.1 Doba a teplota zrání .....	23
2.5.2 Mikroorganismy .....	24
2.5.5 Enzymy .....	25
2.5.6 Sůl .....	26
<b>3 BIOGENNÍ AMINY</b> .....	<b>27</b>
3.1 CHARAKTERISTIKA BIOGENNÍCH AMINŮ.....	27
3.1.1 Katecholaminy .....	28
3.1.2 Monoaminy .....	30
3.1.3 Diaminy .....	33
3.1.4 Polyaminy .....	33
<b>4 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PRODUKCI A REGULACI BIOGENNÍCH AMINŮ V POTRAVINÁCH</b> .....	<b>35</b>
4.1 MIKROBIOLOGICKÉ FAKTORY .....	35
4.1.1 Role produkce BA mikroorganismy .....	35
4.1.2 Startovací kultury .....	36
4.1.3 Pasterace.....	36
4.1.4 Proces zrání a proteolýza .....	37
4.2 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ FAKTORY .....	37
4.2.1 pH.....	37
4.2.2 Teplota.....	38
4.2.3 NaCl .....	38
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>39</b>



<b>5</b>	<b>CÍL PRÁCE .....</b>	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>METODIKA PRÁCE.....</b>	<b>41</b>
6.1	VÝROBA SÝRŮ S NÍZKODOHŘÍVANOU SYŘENINOU VE VÝROBNÍKU SÝRŮ.....	42
6.1.1	Příprava provozního zákysu .....	42
6.1.2	Příprava prostor a pomůcek pro výrobu sýrů .....	43
6.1.3	Ošetření mléka před výrobou sýrů .....	43
6.1.4	Výroba sýrů .....	44
6.1.5	Solení sýrů.....	46
6.1.6	Ošetření vylisovaných sýrů .....	46
6.1.7	Balení sýrů. ....	46
6.2	CHEMICKÁ ANALÝZA .....	47
6.2.1	Stanovení pH .....	47
6.2.2	Stanovení tuku v sušině.....	47
6.2.3	Stanovení sušiny.....	47
6.2.4	Stanovení soli .....	48
6.2.5	Texturní profilová analýza .....	48
<b>7</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>49</b>
7.1	STANOVENÍ PH.....	49
7.2	STANOVENÍ TUKU V SUŠINĚ.....	50
7.3	STANOVENÍ SUŠINY .....	51
7.4	STANOVENÍ SOLI .....	52
7.5	TEXTURNÍ PROFILOVÁ ANALÝZA .....	52
<b>8</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>54</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>55</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>62</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>63</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>64</b>

## ÚVOD

Zrání sýra je důležitý proces, při kterém sýr získává své chemické, fyzikální, ale i sensorické vlastnosti. Při zrání sýrů dochází k řadě mikrobiologických a biochemických procesů. Mezi mikrobiologické procesy lze zařadit působení bakterií, a to jak startovacích bakterií mléčného kvašení, tak i bakterií nesharčivých, ale i například bakterií patogenních. Při zrání sýrů mohou působit nejen bakterie, ale i kvasinky a plísně. Mezi biochemické faktory, které probíhají při zrání sýra, lze zařadit změnu laktózy, při níž dochází k rozkladu laktózy na kyselinu mléčnou. Při lipolýze dochází k rozkladu lipidu na jednodušší látky, tzv. mastné kyseliny, které přispívají k sensorickým vlastnostem sýra. Významným faktorem je též proteolýza, při níž se bílkoviny rozkládají na aminokyseliny. Ty se významně podílí na chuti sýra a mohou být následně mikrobiálně aktivovány na další sensoricky aktivní sloučeniny. Mezi faktory, které značně ovlivňují zrání sýra, lze zařadit také teplotu a dobu zrání sýra, působení soli nebo působení enzymů.

Při zrání sýrů může docházet také k produkci biogenních aminů. Biogenní aminy jsou sloučeniny dusíku, které mají nízkou molekulovou hmotnost. U lidí, ale i u dalších živočichů jsou velmi důležité pro různé metabolické funkce, ale mohou působit i negativně. Vyskytují se v různých potravinách, zejména tam, kde probíhá fermentace, např. v sýru, rybách, mase, ale také v ovoci a zelenině. Pro jejich produkci je důležitá dostupnost volných aminoskupin a také dekarboxylační aktivita. Na jejich regulaci mohou mít zásadní vliv faktory jako je teplota, pH, obsah soli, působení mikroorganismů, proces pasterace a také samotný proces zrání a proteolýza.

Cílem mé bakalářské práce bylo vyrobit sýr holandského typu zabalený v potravinářském vosku a posoudit vliv použitých kmenů na jeho parametry, konkrétně pH, obsah tuku v sušině, obsah sušiny, obsah soli a texturní vlastnosti.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 SÝR

Slovo sýr bývá v běžné řeči používáno pro velkou skupinu mléčných produktů, jakou je zrající sýr nebo tvaroh, čerstvý sýr nebo i tavené sýry. Dle vyhlášky č.397/2016 Sb. se rozumí sýrem mléčný výrobek vyrobený vysrážením mléčné bílkoviny z mléka působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel, oddělením podílu syrovátky a následným prokysáním nebo zráním [1].

Definice FAO/WHO konstatuje: „Sýr je vyzrálý pevný nebo polotuhý produkt získaný koagulací mléka, odstředěného mléka, částečně odstředěného mléka, smetany, syrovátky nebo podmáslí nebo jakékoliv kombinace těchto materiálů působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel a částečným odtokem syrovátky, která je výsledkem takové koagulace.“ Odvod (drenáž) syrovátky je základním krokem, který definuje sýr [2].

Mezi nejdůležitější faktory výroby sýra patří výběr mléka – používá se nejčastěji mléko kravské, kozí, ovčí a buvolí. Složení mastných kyselin v mléčném tuku se u každého druhu mléka liší, což ovlivňuje chuť sýra. Sýry z kozího, ovčího nebo buvolího mléka mají zcela bílou barvu, protože tato mléka neobsahují skoro žádný karoten.

K dalším příznakům výroby sýra patří standardizace mléka, protože velmi důležitou vlastností mléka je obsah tuku v sušině. Změny poměru mezi tukem a beztukovou sušinou značně ovlivňují srážení, a tím i obsah vody a pH sýra. Právě s obsahem tuku v sušině jsou spojeny chuť a konzistence sýra. Například čerstvý sýr se vyrábí z odstředěného mléka, kdežto u vyzrálého sýra se obsah tuku v sušině pohybuje mezi 20 až 60 %. Smetanové sýry, tj. sýry vyrobené z plnotučného mléka, mají obsah tuku od 46 do 52 %.

Výrobu sýra ovlivňuje také tepelné ošetření syrového mléka, které má následně vliv na typ a rozsah bakteriální mikroflóry, tím na rychlost jejího růstu, proteolytickou aktivitu startovacích kultur, ale i aktivitu lipázy.

Dalším faktorem je předběžné okyselení syrového mléka, které se provádí jednu až tři hodiny před přidáním syřidla, ovlivňuje srážení mléka a má účinek na pH sýra.

Významným rysem je i složení startéru a procento inokula. Podmínky zpracování a rychlost produkce kyseliny jsou procesy důležité při zrání sýra a určují, jaké druhy bakterií mléčného kvašení se použijí. Někdy se do sýra přidává sekundární mikroflóra, což jsou ušlechtilé mikroorganismy použité ke zlepšení některých vlastností sýra.

Nelze vynechat ani způsob koagulace a typ koagulátu, kterým může být syřidlo či kyselina, případně kombinace syřidlových enzymů a kyseliny. Používáme telecí syřidlo nebo jiné proteolytické enzymy [2].

## 1.1 Rozdělení sýrů

Sýry mohou být rozděleny do více kategorií. Každý zdroj uvádí dělení s malými rozdíly. Pro účely mé bakalářské práce bylo rozdělení sýrů převzato ze dvou zdrojů.

Jednak sýry dělíme na 2 hlavní skupiny podle způsobu srážení, a to na sýry tvarohové neboli kyselé sýry, které se vyrábí buď s použitím syřidla, nebo bez syřidla a sýry sýřené neboli sýry sladké. Další dělení je na základě odstranění vody, a to pomocí centrifugace nebo filtrace, dále pak na pomalé odstranění vody pomocí zpracování sýřeniny např. krájením, mícháním a lisováním.

Významné je dělení podle tvrdosti sýra, což souvisí s odstraněním vody. Čerstvé sýry jsou výrobky, které nezrají a mají vysoký obsah vody. Řadíme k nim např. tvaroh, sýr Cottage, Ricottu a další. Tyto sýry podléhají jen malému nebo žádnému zrání s výjimkou fermentace laktózy. Mají omezenou skladovatelnost přibližně dva týdny při chladírenské teplotě. Tyto sýry se liší podle druhu mléka, obsahu tuku a výrobních prostředků. Mléko často koaguluje kyselinou nebo kombinací tepla a kyseliny, někdy se také používá syřidlo. Čerstvé sýry mají roztíratelnou nebo zrnitou strukturu. Řadíme mezi ně tvaroh, což nezralý, sypký a lehce kyselý sýr, který se vyrábí z odstředěného mléka. K sýru se někdy také přidává sůl a čerstvá nebo kultivovaná smetana. Charakteristická je jeho zrnitá forma a navzdory jeho nízkému obsahu tuku také jeho krémová chuť. Dalším zástupcem čerstvých sýrů je sýr Cottage, což je hrudkovitý sýr vyráběný se smetanou nebo bez ní. Tento sýr se někdy míchá s různými bylinkami nebo zeleninou. Vyznačuje se jemnou chutí a prodává se v kelímcích [2, 3].

Měkké sýry mají vyšší obsah vody a zrají velmi krátkou dobu. Řadíme mezi ně sýry s povrchovou plísní, např. *Penicillium camemberti*, *Penicillium geotrichum*, ale mohou obsahovat i kvasinky anebo koryneformní bakterie. Optimální teplota pro růst plísní a kvasinek na těchto sýrech je 20 až 25 °C. Teplota zrání je asi 12 °C, takže kvasinky a plísně rostou velmi pomalu. Naopak mikrokoky a koryneformní bakterie rostou nejrychleji při teplotě zrání. Pokrytí povrchu sýra plísní trvá asi 6-8 týdnů. Sýry s povrchovou plísní jsou velmi oblíbené ve Francii, ale také u nás. Příkladem může být Camembert nebo Hermelín. Další skupinou jsou sýry s vnitřní plísní, které jsou specifické růstem plísně *Penicillium roqueforti* uvnitř sýra. Na výrobu používáme obvykle kravské nebo ovčí mléko. Tato plíseň bývá zodpovědná za vlastnosti tohoto sýra, jako je např. vůně. Mezi zástupce těchto sýrů řadíme italský sýr Gorgonzola, francouzský sýr Roquefort, ale i český sýr Niva. Poslední

skupinou měkkých sýru jsou sýry s kůrkou, kam řadíme Livarot, Munster nebo Maroilles. U nás tento typ sýrů není příliš rozšířený [2, 3].

Polotvrdé sýry obsahují méně vody a zrají delší dobu. Mají kůrku a patří mezi ně Gouda, což je polotvrdý zralý sýr, který se vyrábí z čerstvého kravského mléka. K jeho výrobě se používají mezofilní startéry, které produkují oxid uhličitý, převážně z kyseliny citronové, a způsobují tvorbu ok v sýru. Sýr se lisuje, solí ve slaném nálevu a nemá základní povrchovou flóru. Dalším zástupcem je Pecorino, italský sýr vyráběný z ovčího mléka. Řadíme ho mezi polotvrdé sýry, ale v závislosti na stáří může patřit také mezi tvrdé sýry. Jedná se o tvrdý sýr s krémovou, drobivou texturou a jemně máslovou chutí. Pecorino je název přidělený všem italským sýrům vyrobeným z ovčího mléka. Zahrnuje širokou škálu sýrů, ale mezi čtyři nejznámější patří ty, které používají chráněné označení původu (PDO). Jedná se o Pecorino Romano, Pecorino Sardo, Pecorino Siciliano a Pecorino Toscano. Čedar řadíme také mezi polotvrdé sýry s kůrkou. Pro Čedar je typické smíchání soli se sýřeninou těsně před lisováním do bochníku. Sůl výrazně snižuje růst bakterií mléčného kvašení. Proto by měla být většina laktózy přeměněna už před nasolením sraženiny a ze stejného důvodu je výroba sraženiny časově náročná. Navíc nasolený tvaroh se během lisování špatně spojuje, pokud je jeho pH příliš nízké. Sýr se stává relativně tvrdým díky dlouhé výrobě sraženiny a relativně nízkému pH. Mezi polotvrdé sýry řadíme i ty s povrchovou plísní. Příkladem sýru z této skupiny je Saint – Nectaire [2, 3, 4].

Tvrdé sýry zrají dlouhou dobu a mají nízký obsah vody. Na rozdíl od předchozí skupiny sýrů jsou dohříváné, tzn., že se sýrové zrno ohřívá na určitou teplotu a pak se dává do forem. Mezi dohříváné sýry patří také Ementál, což je polotvrdý sýr a jeho bochníky mají hmotnost 60 až 130 kg, jejich tvar je plochý. Rozsáhlá produkce plynu způsobuje, že se sýr vyboulí vzhůru, ale jeho velká hmotnost ho mírně zplošťuje, což vede k tomu, že sýr má vyboulené strany.

Sýr má velká oka o průměru přibližně jeden až čtyři centimetry a dlouhou, hladkou a poněkud gumovou texturu. Jeho chuť je jemná a nasládlá. Jedná se o sýr švýcarského původu, ale vyrábí se také v Rakousku, Francii a dalších zemích. Mezi tvrdé sýry patří také italský Parmazán. Vyrábí se z kravského částečně odtučněného mléka. Sýrové zrno se míchá při teplotě 53 °C a dohřívá až do teploty 55 °C, pak se dává do formy. Sýr se vyznačuje velkými bochníky, které mají rozměry asi 30-45 cm a jejich tloušťka je okolo 20-35 cm. Je velmi slaný, protože bochníky se nechávají v solném nálevu. Italové ho používají

v gastronomii při přípravě řady pokrmů, nejčastěji špaget. Pro pravý italský Parmazán používáme název Parmigiano-Reggiano [2, 3, 4, 5].

## 2 ZRÁNÍ SÝRŮ

Fermentace neboli zrání sýrů zahrnuje oxidační redukci sacharidů za vzniku organických kyselin, alkoholů a oxidu uhličitého. Dále pak metabolismus organických kyselin a aminokyselin vytváří různé sloučeniny, které ovlivňují kvalitu sýrů, a to negativně, nebo pozitivně. Při silném selektivním tlaku využívají bakterie mléčného kvašení některý ze způsobů, jak zvyšovat odolnost vůči nepříznivým podmínkám, a to včetně deiminázových reakcí a dekarboxylačních reakcí, jež hrají důležitou roli při zrání a výrobě sýra. Kontrola aktivity a exprese zmíněných enzymů je jedna z možných metod intracelulární homeostáze na principu kyseliny a zásady. Regulace genů, které jsou přítomné ve startovacích, ale i nestartovacích bakteriích mléčného kvašení, má zásadní vliv na senzorickou změnu sýrů, a to např. na změnu chuti. Z hlediska bezpečnosti potravin je významná fáze dekarboxylace, která končí tvorbou biogenních aminů [6, 7, 8].

### 2.1 Biochemické faktory

Biochemické reakce vyskytující se v sýru v průběhu zrání jsou obvykle čtyři hlavní biochemické reakce, a to glykolýza zbytkové laktózy a katabolismus laktátu, dále pak katabolismus citrátu, třetí reakcí je lipolýza a katabolismus volných mastných kyselin a poslední je proteolýza a katabolismus aminokyselin. Hlavním faktorem přítomnosti kvasinek na sýru je mokrý povrch, kde můžou kvasinky způsobit bílé skvrny [9, 10].

#### 2.1.1 Glykolýza zbytkové laktózy a katabolismus laktátu

Je to nezbytný krok, a to z důvodu, že sýry jsou fermentované výrobky, takže metabolismus laktózy na laktát je nezbytný u všech druhů sýra. Sýrové zrno obsahuje malé množství zbytkové laktózy. Ta se během zrání sýrů katabolizuje na laktát, který probíhá několika cestami. Cesta, kterou metabolismus laktózy probíhá, závisí na startovací nebo nestartovací kultuře bakterií mléčného kvašení. Poslední fází glykolýzy laktózy je přeměna pyruvátu na laktát, jenž je katalyzován pomocí enzymu laktátdehydrogenázy. Laktát v konečné fázi glykolýzy přemění 1 mol laktózy na 4 moly laktátu. Vznikají zde čtyři moly ATP (adenosintrifosfát). *Leuconostoc* spp. na rozdíl od většiny bakterií mléčného kvašení používá fosfoketolázovou dráhu, takže metabolizuje laktózu a finálními produkty jsou oxid uhličitý, ethanol a laktát, čímž se liší od glykolytické dráhy. Laktát je velmi důležitý, protože



přispívá k chuti sýra, a to především během jeho zrání. Ovlivňuje také pH a tím růst sekundární mikroflóry a také aktivitu enzymů, které jsou důležité během zrání. Laktát je také substrátem pro řadu reakcí, které ovlivňují zrání sýrů, a to jak pozitivně, tak i negativně. Katabolismus laktátu je zásadní při výrobě švýcarských sýrů a sýrů zrajících na povrchu. Na začátku je laktát katabolizován pomocí bakterie *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* na acetát a propionát. Oxid uhličitý se dostává do slabých míst, kde tvoří velká sýrová oka charakteristická pro sýry švýcarského typu. Oxidační katabolismus laktátu probíhá také pomocí *Penicillium camemberti* na sýrech typu Camembert a Brie. Katabolismus mléčné kyseliny má ten efekt, že dojde k zvýšení pH povrchu sýra a laktát se přesouvá k povrchu sýra. Vysoké pH také způsobuje vysrážení fosforečnanu vápenatého a fosfát a vápník migrují na povrch sýra. Tyto reakce mají vliv na změkčení sýru. Katabolismus laktátu má značný význam také při výrobě sýru s povrchovým mazem, např. Limburgeru nebo Tilstu. Kvasinky odkyselují povrch, což má pozitivní vliv na růst grampozitivních bakterií, které jsou pro povrch těchto sýrů charakteristické [9, 10, 11].

### 2.1.2 Katabolismus citrátu

Citrát obvykle není metabolizován pomocí kmenů *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* nebo *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, ale pomocí citrátově pozitivních kmenů laktokoků, které produkují aceton, acetát a diacetyl. Citrát není zdrojem energie u bakterií pozitivních na citrát nebo u *Leuconostoc spp.*, ale je velmi rychle metabolizován za přítomnosti fermentovatelného uhlohydrátu. Vzniklý oxid uhličitý je zodpovědný za část ok, charakteristických pro sýry holandského typu, ale také za vady u tvarohu a Čedaru, a to zejména kvůli produkci diacetylu, kdy dochází k vývoji typického aroma a chutě. Produkce acetylu je v porovnání s acetonem 10-50krát menší. Produkce acetátu z citrátu může přispívat také k chuti sýra. U sýru s řízenou mikroflórou se došlo k závěru, že v sýru vyrobeném za použití *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* zůstala koncentrace citrátu konstantní na 0,2 % po dobu tří měsíců, ale poté klesla na 0,1 %. Sýr vyrobený za použití *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* a citrátově pozitivního kmene *Lactococcus*, kterým je *Lactococcus casei*, neobsahoval citrát už po třech měsících. Ačkoli *Lactococcus casei* by mohl metabolizovat citrát v mléce, koncentrace citrátu v sýru, který byl vyrobený za použití kmenů *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus casei*, klesla přibližně stejně jako u sýrů vyrobených za pomoci samotného *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Z toho plyne, že

pyruvát může být vytvořen z laktátu vyrobeného z citrátu. Citrát může být metabolizován i pomocí některých heterofermentativních laktobacilů, které jsou součástí nestratovacích kultur bakterií mléčného kvašení na aceton, acetát a snad i diacetyl [5].

### 2.1.3 Lipolýza a katabolismus volných mastných kyselin

Mléčný tuk je kritickým faktorem, který ovlivňuje kvalitu sýra. Ovlivňuje také reologii a texturu sýra. Mléčný tuk je velmi důležitý pro vývin chuti Čedaru a dalších zrajících sýrů. Lipidy, které se nacházejí v sýru, mohou podléhat oxidační nebo hydrolytické degradaci. Zejména díky nízkému redoxnímu potenciálu však tyto degradace nejsou pro sýr důležité. Mléko obsahuje lipoproteinové lipázy, které přispívají k lipolýze sýra během jeho zrání. Lipoproteinová aktivita sýra je podstatně důležitější u sýra, který je vyrobený ze syrového mléka než u sýra z mléka pasterovaného, protože enzym je inaktivován pasterací. U sýrů se silnou lipázovou aktivitou používáme jako koagulant tzn. sýrovou pastu, která obstarává lipolýzu v některých italských sýrech, např. u Pecorina nebo Provolone. Bakterie mléčného kvašení jsou slabě lipolytické, ale enzymy, které produkují, přispívají k slabé lipolýze, která je typická pro sýry typu Čedar. Bakterie *Propionibacterium freudenreichii subsp. Shermanii* produkuje lipázu, která ve spojení s enzymy produkovanými termofilními startovacími organismy napomáhá k limitované lipolýze v sýrech švýcarského typu. Silné extracelulární lipázy jsou vytvářeny i pomocí plísně *Penicillium roqueforti*, jež má vliv na typické lipolytické vlastnosti sýra s vnitřní plísní. Podobnou vlastnost má i plíseň *Penicillium camemberti*, která ovlivňuje lipolýzu sýru s povrchovou plísní.

Mastné kyseliny (MK) mají účinek na chuťové vlastnosti mnoha sýrových typů. Jejich množství v sýrech se liší podle druhu sýra. Čedar, Eidam nebo švýcarské sýry mají nízkou hladinu MK, asi 200-1000 mg/kg, naopak sýry s vnitřní plísní jich obsahují přibližně 30000 mg/kg. MK působí také jako prekurzory pro produkci jiných těkavých aromatických sloučenin. MK se vyrábějí buď reakcí s alkoholem, čímž vznikají ethylestery, které jsou typickými u sýra. Nebo vznikají reakcí MK s thiolovou sloučeninou pomocí katabolismu siřných aminokyselin, čímž vznikají thiolestery.

K chuti sýrů přispívají i laktony MK, které vznikají intramolekulární esterifikací hydroxykyselin [9, 10].

### 2.1.4 Proteolýza a katabolismus aminokyselin

Proteolýza je důležitým faktorem pro texturu sýra, který probíhá pomocí para-kaseinové hydrolyzy, ta dává sýrů kromě jeho struktury také schopnost vázat vodu jako například u tvarohu. Proteolýza také nepřímo ovlivňuje pH produkcí amoniaku při katabolismu aminokyselin, čímž pH zvyšuje. Peptidy mohou působit na chuť sýra, některé jsou např. hořké. Hlavní role proteolýzy v chuti sýra je při výrobě aminokyselin, které jsou prekurzory pro řadu katabolických reakcí, při nichž vzniká množství aromatických sloučenin. U většiny druhů sýra je prvotní hydrolyza kaseinu způsobena koagulantem, v menším rozsahu plazminem a někdy i somatickými buněčnými proteinázami. To vede k produkci velkých peptidů, které nejsou ve vodě rozpustné, a k produkci středně velkých proteinů, jež ve vodě rozpustné jsou. Tyto proteiny jsou v další fázi hydrolyzovány koagulantem a enzymy ze startovacích a nestartovacích kultur. Produkce malých aminokyselin a peptidů je dána působením mikrobiálních proteináz (peptidáz).

U mnoha sýrů přidáváme sekundární mikroflóru. Má velkou škálu funkcí, a to podle použitého organismu. Například kmeny *Lactobacillus* jsou přidány do Čedaru, a to s cílem zlepšit jeho chuť nebo rychlost zrání. *Brevibacterium linens* je jeden z nejvíce studovaných stěrových mikroorganismů (MO), který vylučuje extracelulární proteinázu a aminopeptidázu a obsahu spoustu intracelulárních peptidů, ty přispívají k proteolýze, která probíhá na povrchu zrajících sýrů. *Penicillium roqueforti* produkuje extracelulární aspartyl, metaloproteinázy a různé peptidázy, které mají podstatný vliv na proteolytické změny, které probíhají v sýrech s vnitřní plísní. *Penicillium camemberti* sekretuje aktivní aspartyl a metaloproteinázy, které přispívají k proteolýze v sýrech typu Camembert a Brie.

Konečným produktem proteolýzy jsou aminokyseliny a jejich koncentrace je závislá na typu sýra. Koncentrace aminokyselin v sýru při daném stadiu zrání je výsledkem uvolnění aminokyselin z kaseinů proteolýzou a jejím katabolismem nebo přeměnou na jiné aminokyseliny pomocí mikroflóry sýrů. Střední a malé peptidy přispívají k chuti mnoha druhů sýra. Krátké hydrofobní peptidy jsou hořké. Některé aminokyseliny ovlivňují sýr sladkou chutí (např. glycin, serin, threonin, prolin a alanin) nebo kyselou chutí (např. histidin, glutamová a asparagová kyselina), případně hořkou chutí (arginin, valin, leucin, methionin, fenylalanin, tyrosin, izoleucin a tryptofan). Zrychlení proteolýzy není nutné k urychlení vývoje chuti, z čehož plyne, že produkce aminokyselin není omezující krok ve vývoji chuti sýra [8, 9, 10].

## 2.2 Mikrobiální faktory

Nejvýznamnější vliv na kvalitu sýrů má kvalita mléka. Mléko má téměř neutrální pH. Mléko slouží jako extracelulární médium pro vybranou skupinu mikroorganismů, které jsou používány při výrobě sýra. Totéž platí ale i pro kontaminující MO včetně těch, které způsobují znehodnocení potravin, a to i těch, které jsou patogenní pro lidský organismus. Mléko vylučované do vemene je prakticky sterilní, kontaminace pochází až z infekce z prostředí nebo krmiva, ale také z dojícího zařízení. Kontaminace mléka má závažný vliv i na kvalitu sýra vyráběného z tohoto mléka. Mikroorganismy obsažené v mléce způsobují negativní změny v organoleptických vlastnostech sýrů vyvolané enzymatickou změnou složek mléka. Kromě kontaminace z mléka mohou kontaminanty proniknout do sýru během jeho výroby nebo během jeho zrání, a následkem toho dochází k znehodnocení sýra [11, 12].

### 2.2.1 Bakterie

Hlavním kontaminantem sýrů jsou bakterie. Mikroflóra spojená se sliznicí strukového kanálu se skládá především ze streptokoků, mikrokoků a stafylokoků, v menším množství pak z korynobakterií a koliformních bakterií. Některé MO, a to včetně laktokoků, pseudomonád a kvasinek, jsou přirození obyvatelé strukové kůže, čímž dochází během dojení ke kontaminaci mléka spolu s kontaminací z vnějšího povrchu struků, ke které dochází z krmiva, podestýlky nebo výkalů či půdy. Základní ochrannou mikroflóru vemene tvoří bakterie mléčného kvašení. Mezi ně patří bakterie rodů *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* a *Streptococcus* a také bakterie rodů *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Brevibacterium* a další. Jejich přidání je nezbytné k výrobě sýra a k tomu, aby měl sýr dobrou chuť, protože u sýra bez přidaných bakterií se během zrání nevyvíjí chuť. Vývin chuti závisí na typu bakterií, které se podílí na dozrávání sýrů, a také na jejich katabolických schopnostech, které také vede k přítomnosti aromatických složek v sýru [11, 12].

Významné změny způsobují mikrokoky, které jsou schopné přežít některé tepelné ošetření mléka včetně vnitřní pasterace, takže mohou být přítomny i v tepelně ošetřeném mléce a sýrech. Mikrokoky mohou mít i negativní i pozitivní vliv na kvalitu sýrů, to závisí na použitých kmenech. Negativní vliv, který se projevil nepříjemným zápachem, byl prokázán u sýrů s mikrokoky, které byly použité jako doplněk při výrobě sýrů. Pozitivní význam je, že přispívají k vývoji chuti ve starých sýrech. Bylo zjištěno, že zvýšená chuť u sýra

obsahujícího mikrokoky nemusí být způsobena mikrobiální enzymatickou aktivitou mikrokoků, ale také symbiotickou aktivitou laktobacilů a streptokoků.

Dalšími významnými zástupci působícími na kvalitu mléka jsou streptokoky, které byly také nalezeny v pasterovaném mléce, protože i ty jsou schopny přežít vysoké pasterační teploty. Streptokoky mají negativní vliv, zejména rod *Streptococcus thermophilus*, který je schopen produkovat dostatek oxidu uhličitého při výrobě sýru Gouda, který způsobuje nepříjemnou kvasinkovou chuť. V pasterovaném mléce jsou schopny přežít i enterokoky. Účinky vysokých koncentrací enterokoků v potravinách nejsou prozkoumány natolik jako jejich proteolytická a lipolytická aktivita, která se liší dle kmene. Enterokoky pozitivně přispívají ke zrání a aroma velkého množství zejména středomořských sýrů. Další výhodou enterokoků je, že produkují bakteriociny, které pomáhají kontrolovat výskyt patogenů jako je *Listeria monocytogenes* [11, 12].

Velmi nebezpečná je kontaminace mléka bakteriemi *Salmonella* a *Campylobacter*, která jsou častým důvodem nákazy z potravy. *Salmonella* je schopná přežít fermentaci mléka, kterou způsobují *lactobacilli* u měkkých a jiných sýrů. V případě bakterie *Campylobacter* je častý výskyt u ovčího mléka a způsobuje nemoc kampylobakteriózu. Dalším nebezpečným patogenem je *Staphylococcus aureus*, který do mléka přechází zejména z vemene, ale také prostřednictvím lidí nebo kontaminované startovací kultury.

*Staphylococcus* produkuje enterotoxiny, které jsou tepelně stabilní, tzn., že jsou odolné vůči teplu. *Listeria monocytogenes* je velmi nebezpečným kontaminantem mléka a u oslabených jedinců může způsobit i smrt. V mléce se nachází také psychrotrofní mikroorganismy, mezi jejichž zástupce patří například *Pseudomonas fluorescens*, *fragi* a *putida* a jeho rody, které se do mléka dostávají ze vzduchu nebo vody. V mléce se také mohou vyskytovat sporulující MO, které mohou způsobovat znehodnocení mléčných výrobků, a tudíž i sýru. Mezi jejich zástupce patří obligátně anaerobní *Clostridium* a aerobní *Bacillus* [13].

### 2.2.2 Kvasinky a plísně

Ačkoliv kvasinky se nachází v čerstvě nadojeném mléce, způsobují spolu s plísněmi kažení mléka. K jejich kontaminaci dochází vlivem postpasteračních úprav, protože jsou přítomné ve vzduchu v běžné mlékárně. Kvasinky a plísně v mléce mohou zapříčinit zatuchlost. V sýru tyto mikroorganismy mohou způsobovat metabolizaci kyseliny mléčné,

ale také hydrolyzovat protein. Některé vzdušné kvasinky, jako je *Debaryomyces hansenii*, *Candida spp.* nebo *Kluyveromyces marxianus* var. *Lactis*, mají pozitivní vliv na chuť vybraných sýrů. Jiné kvasinky mohou produkovat ethanol a také oxid uhličitý. Proteolýzou v kvasinkách můžou také vznikat pachy, které připomínají zkažená vejce. Lipolytická aktivita může vést ke žluknutí tuků. Přítomnost halotolerantní kvasinky *Debaryomyces hansenii* v syrovém mléce nebo v solném nálevu může být příčinou hnědých skvrn na modrém sýru [12].

Plísně potřebují pro svůj růst kyslík, a proto rostou na většině sýrů vystavených vzduchu. Rostou i na špatně vakuovaných sýrech. Tak jako kvasinky i plísně mohou mít pozitivní význam a být používány při výrobě sýrů, a to např. *Geotrichum candidum*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti*. Ale i přes přítomnost těchto rodů plísní se mohou stále vyskytovat vady sýra. Např. nedostatečné množství soli kombinované s nedostatečným odvodněním může vyvolat zastavení růstu plísně *Geotrichum candidum* nebo zabránit implantaci *Penicillium camemberti*, což vede k vadě, která je nazývána ropuší kůže. Běžné kontaminující plísně jsou *Cladosporium cladosporioides*, dále pak *Aspergillus*, *Scopulariopsis*, *Mucor*. Kontaminující může být i modrá plíseň *Penicillium commune* a dále také *Penicillium palitans* a *solitum*. *Penicillium funiculosum* může produkovat hnědé skvrny a *Cladosporium herbarum* způsobuje černé skvrny. Plíseň *Fusarium* je příčinou slizovitých žlutých výrůstků. Nežádoucí růst plísní způsobuje i zatuchlý pach a hořkou chuť [12].

### 2.3 Průběh zrání sýra

Některé druhy sýra, většinou kyselinově/tepelně koagulované, jsou konzumovány čerstvé, ale většina ostatních sýrů, které jsou sýřené, musí zrát na požadovanou texturu a chuť. Některé sýry zrají dva týdny jako např. Mozzarella, ale jiné až 2 roky jako např. velmi vyzrálý Čedar nebo Parmazán. Zrání sýra probíhá v několika fázích, při nichž dochází k mnoha biochemickým i biofyzikálním změnám. V první fázi se vyrábí sýřenina ze syrového mléka za použití syřidel. Dále se pak specifickými enzymy během zrání sýra vytváří jeho chuť a vůně. Tyto enzymy buď přidáváme ve volné formě, nebo ve formě startovacích či nstartovacích kultur, případně také jako sekundární kulturu. Ve všech druzích sýrů probíhá proteolýza. Ta je důležitá pro správný vývoj chuti, kterou můžeme regulovat použitím již zmíněných enzymů [7, 8].

## 2.4 Urychlení zrání sýra

Hlavním cílem urychlení zrání sýra je zvýšení rychlosti proteolýzy sýra a souvisejících reakcí pomocí jednoho nebo kombinace více postupů. Příkladem může být zrání sýra při zvýšené teplotě nebo přidavek exogenních enzymů, ale také fyzikálně, geneticky nebo chemicky modifikované startovací kultury nebo také doplňkové kultury.

Zvýšení teploty je jednoduchá a levná metoda urychlení zrání sýrů, ale při jejím použití mohou nastat problémy jako je tvorba nepříjemné chuti a vůně. Ale například geneticky modifikované startovací kultury lze snadno přidat do sýra, čímž získáme specifickou chuť. Nevýhodou je, že použití těchto kultur může být limitováno zákonem. Značný zájem byl použit nestartovací bakterie mléčného kvašení jako kultury doplňkové, a to z důvodu vysokého počtu, kterého mohou dosáhnout, a také kvůli možnému zlepšení chuťových vlastností v sýru, který je vyroben ze syrového mléka. Sýry z mléka syrového zrají rychleji než sýry z mléka pasterovaného a mají intenzivnější chuť. Tato vlastnost je důvodem přidání nestartovacích bakterií mléčného kvašení do mléka. Dalším důvodem je, že přidání vybrané kultury do sýra z pasterizovaného mléka může zlepšit jeho chuť a zrychlit proces zrání. Ale i v tomto případě hrozí vznik negativních účinků. Modifikované startovací kultury jsou v dnešní době obecně přijaty jako doplňkové kultury při výrobě sýrů [11].

## 2.5 Faktory ovlivňující intenzitu změn v průběhu zrání

### 2.5.1 Doba a teplota zrání

Teplota zrání je významný faktor, který ovlivňuje zrání a kvalitu sýra. Obvykle sýr zraje ve zracích sklepech při konstantní teplotě. Teplota zrání se liší podle druhu sýra. Například u Čedaru je teplota zrání 6-8 °C, Gouda má teplotu zrání 12-14 °C, Parmazán 18-20 °C. Ementál je specifický tím, že nejdříve zraje při 6 °C po dobu 2 týdnů a pak při 22 °C po dobu asi 4-6 týdnů, dokud nedojde k růstu bakterií propionového kvašení, které začnou produkovat oxid uhličitý. Ten způsobuje u Ementálu tvorbu ok a sýr následně zraje při teplotě 4 °C, a to několik měsíců, než dojde k dokončení zrání. Ementál je specifický tím, že nejdříve zraje při 6 °C po dobu 2 týdnů a pak při 22 °C po dobu asi 4-6 týdnů, dokud nedojde k růstu bakterií propionového kvašení, které nezačnou produkovat oxid uhličitý, který způsobuje tvorbu ok Ementálu a následně zraje při teplotě 4 °C, a to několik měsíců, než dojde k dokončení zrání. Camembert zraje 2 týdny při teplotě 14 °C, aby došlo k růstu plísně

*Penicillium camemberti*. Zrání můžeme urychlit zvýšením teploty zrání, ale urychlíme tím všechny reakce, a to žádoucí i nežádoucí, čímž může dojít k vývinu vad chuti, vůně a dalších. Chuť sýra může být modifikována změnou teploty zrání, ale to se obvykle neprovádí. Mezi výjimky patří sýry švýcarského typu [9].

### 2.5.2 Mikroorganismy

#### 2.5.3 Startovací bakterie

Jedná se především o bakterie mléčného kvašení. Jejich hlavní funkcí je fermentovat laktózu za vzniku kyseliny mléčné při výrobě sýra k redukování pH sýra na určitou úroveň. Jejich funkcí také je přispívat k zrání sýrů, protože se jejich enzymy podílí na proteolýze, lipolýze a také na přeměně aminokyselin na aromatické sloučeniny. Některé mohou být přidány do startéru nebo jako sekundární startér za účelem dosažení lepší chuti a textury. Jiné bývají přidávány i za účelem produkce antimikrobiální látky, které způsobují inhibici některých mikroorganismů v sýru [9, 10, 14].

#### 2.5.4 Nestartovací bakterie

Sýr není vhodné prostředí pro růst mikroorganismů a jen málo bakterií je schopno přežít uvnitř sýra. Jedná se tedy o bakterie, které přežijí pasteraci nebo se dostanou do sýra kontaminací a ovlivňují vlastnosti sýra. U nestartérové mikroflóry sýru Čedar dominují zejména heterofermentativní mezofilní laktobacily jako jsou například *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* nebo *Lactobacillus plantarum*. V sýru vyrobeném z pasterovaného mléka nestartovací bakterie mléčného kvašení na začátku výroby rostou obvykle v několika stovkách na gram, ale do 2–3 měsíců jich roste až  $10^7$ - $10^8$  bakterií na gram. Takže zatímco populace startovacích bakterií mléčného kvašení klesá, populace nestartovacích bakterií mléčného kvašení roste a převládá v mikroflóře sýra. V sýrech Ementál, Parmazán a Gouda převládají mezofilní *lactobacilli* jako je např. *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus rhamnosus*. Význam nestartovacích bakterií mléčného kvašení na kvalitu sýru jako je Čedar a holandských sýrů je nejistý. Studie o sýrech vyrobených za aseptických nebo neaseptických podmínek s použitím bakterie *Lactococcus* jako startéru, a to buď samostatně, nebo v kombinaci s bakterií *Lactobacillus*, naznačují, že tyto přidané kultury zlepšují chuť, případně zrychlují zrání sýra. V sýrech Čedar, Gouda nebo Ementál se vytváří jemná chuť i bez nestartovacích bakterií mléčného kvašení. Z toho plyne, že



nestartovací bakterie mléčného kvašení nejsou nezbytné pro zrání sýra, ale částečně ovlivňují jeho kvalitu a zrání [9, 10, 14].

Do sýra přidáváme také bakterie rodu *Lactobacillus*, a to kvůli zlepšení vlastností sýra, například zintenzivnění chuti. Dalším důvodem je urychlení zrání sýra. Tyto bakterie můžeme přidávat, abychom docílili identifikovatelných chuťových vlastností sýra vyráběného konkrétním výrobcem. Očkování mezofilními *Lactobacilli* také potlačuje růst náhodných laktobacilů. Termofilní laktobacily jsou účinnější než mezofilní laktobacily, protože mezofilní laktobacily rychleji hynou pomocí lýze a intracelulárních enzymů. *Lactobacillus*, a to mezofilní i termofilní kmeny, se používá jako doplňková kultura pro Čedar a další sýry. Nejpoužívanější je *Staphylococcus thermophilus*, protože zlepšuje resistenci kultury vůči působení fágů a také nám umožňuje lepší kontrolu nad složením sýrů a jejich zráním a kvalitou. Přidávat můžeme také bakterie rodu *Leuconostoc* spp., které obvykle produkují aceton a diacetyl z citrátu. Vzniklý oxid uhličitý je zodpovědný za tvorbu ok v sýru holandského typu. Dalším typickým zástupcem bakterie, která se může vyskytnout v sýru, je *Enterococcus*. Obyčejně se vyskytuje v gastrointestinálním traktu, proto není v sýru žádoucí a bývá vnímána jako indikátor špatné hygieny. V sýru se mohou vyskytovat také bakterie *Pediococcus*, které bývají přidávány jako doplňkové kultury, které mají zlepšit chuť sýrů jako je Čedar nebo Feta [9, 10, 14].

### 2.5.5 Enzymy

Mléko obsahuje velké množství heterogenní populace různých enzymů, přibližně 60-70 původních enzymů. Některé z těchto enzymů, například kyselá fosfatáza, lineární fosfatáza nebo xantinová oxidoreduktáza, se nachází v membráně tukové globule. Další, jako je plazmin a lipáza, jsou adsorbovány na kaseinové micely, ale většina ostatních jsou ve fázi séra. Sýry mohou být obohacovány o řadu enzymů. Některé enzymy v mléce jsou tepelně stabilní vůči UHT (ultra high temperature) ohřevu. Nejvýznamnější z původních enzymů mléka z hlediska zrání sýrů jsou následující: plazmin, který významně přispívá k proteolýze zejména u vysoce dohříváných sýrů, ve kterých je koagulant částečně nebo i úplně inaktivován. Plazmin je tak zodpovědný za hydrolýzu  $\beta$  – kaseinu ve většině sýrů. Přestože je úroveň aktivity toho enzymu variabilní, není pravděpodobné, že by tato variabilita způsobovala změny v kvalitě sýra, ale ovlivňuje výtěžnost a složení sýra. Dalším významným enzymem je katepsin D, což je lysozomální proteináza, která má specifickou

aktivitu, jež se podobá chymozinu a vyskytuje se hlavně v sérové fázi mléka. Je tepelně nestálá, a to je důvod pravděpodobně malé aktivity tohoto enzymu v sýru. Mnohem větší aktivitu má právě chymozin, který se používá jako syřidlo. Jedná se o neúčinnější mléčný koagulant. Chymozin může být geneticky modifikován, a to pro zlepšení vlastností zrání sýra prostřednictvím zvýšení účinku na některé peptidové vazby, aby se zabránilo některým vadám sýra (např. zhořknutí). Dalším významným enzymem je lipáza, která se částečně nebo úplně deaktivuje UHT ohřevem, a proto má malý nebo žádný vliv na kvalitu sýra. Dále se v mléce vyskytuje enzym xanthin oxidáza, který redukuje dusičnany na dusitany, jež aktivně působí proti klostridiím a koliformním bakteriím v sýru [9, 15, 16].

### 2.5.6 Sůl

Mléko obsahuje organické i anorganické soli, nicméně z hlediska výroby sýra jsou nejdůležitější ionty vápníku a fosfátu. Vápník a fosfor tvoří asi polovinu celkového obsahu minerálů v mléce. Na průběh zrání sýra má však největší vliv kuchyňská sůl neboli chlorid sodný. Solení chloridem sodným je metoda vhodná k uchování potravin. Je založena na principu snižování aktivity vody sýra. Koncentrace soli je významný faktor. V sýru by mělo být možné dosáhnout reprodukovatelné hladiny soli. V praxi toho však není vždy dokonale dosaženo a změny v koncentraci soli jsou významnou příčinou, která způsobuje odchylky v kvalitě sýra. Díky účinkům mikroflóry sýra má sůl hlavní vliv na zrání, kvalitu a chuť sýra. Mezi hlavní účinky soli v sýru patří čtyři faktory. Prvním je inhibiční účinek na růst mikroflóry sýra. Dalším faktorem je účinek na aktivitu některých enzymů. Dále má pak sůl významný vliv na chuť sýra a nakonec také na zdraví konzumenta, protože ve velkém množství nepříznivě ovlivňuje lidské zdraví (způsobuje např. hypertenzi nebo osteoporózu) [9, 12].

### 3 BIOGENNÍ AMINY

Biogenní aminy jsou sloučeniny dusíku s nízkou molekulovou hmotností. U zvířat a lidí jsou nezbytné pro různé metabolické funkce. Produkci biogenních aminů ovlivňuje mnoho faktorů, např. podmínky skladování, výrobní postupy a procesy, distribuce, přítomnost různých mikroorganismů (zejména těch, které jsou pozitivní na produkci dekarboxylázy), dostupnost volných aminoskupin jako prekurzoru pro jejich tvorbu apod. Produkce je dále ovlivňována fyzikálně-chemickými vlastnostmi jako je obsah NaCl a pH. Nejdůležitějšími zástupci biogenních aminů v potravinách jsou histamin, kadeverin, tryptamin, spermidin, spermin, putrescin. Tyto aminy jsou tvořeny zejména dekarboxylací aminokyselin.

Některé biogenní aminy jsou neurotransmitery, což jsou látky, které vznikají v nervové soustavě u živočichů a přenáší vzruchy. Nervová soustava obsahuje speciální receptory, které jsou citlivé na přítomnost určitého specifického neurotransmiteru. Tři z těchto neurotransmiterů jsou katecholaminy: noradrenalin (norepinefrin), dopamin a adrenalin (epinefrin). Všechny katecholaminy (jsou takto pojmenované, protože mají stejnou katecholovou část) jsou odvozeny od prekurzoru, který mají společný, a to je aminokyselina tyrosin. Dalšími neurotransmitery jsou histamin a serotonin [17, 18].

#### 3.1 Charakteristika biogenních aminů

Biogenní aminy mohou být děleny podle dvou kritérií. První z nich je podle chemické struktury, kde rozlišujeme tři skupiny. První skupinou jsou alifatické aminy, tzn. aminy bez aromatického uhlovodíku, např. kadaverin, putrescin a agmatin. Dále jsou to aromatické aminy, tedy obsahující aromatické uhlovodíky, např. tyramin a 2-fenyletylamin. Třetí skupinou jsou heterocyklické aminy a sem řadíme histamin a tryptamin.

Další způsob dělení je podle počtu aminových skupin, a i v tomto případě jsou rozděleny do tří skupin. První skupina obsahuje monoaminy, kam patří histamin, 2-fenyletylamin, tryptamin a tyramin. Druhou skupinou jsou diaminy; sem řadíme putrescin a kadeverin. A poslední skupinou jsou polyaminy, které zahrnují spermidin a spermin. Speciální skupinou jsou katecholaminy, které se díky své struktuře také řadí mezi biogenní aminy a obsahují struktury jako o-difenyly. Patří mezi ně hormony jako adrenalin, noradrenalin a dopamin.

Biogenní aminy objevující se v potravinách mohou mít ve větším množství vliv na organismus člověka. Například histamin, tyramin a fenyletylamin jsou častým důvodem

bolesti hlavy a migrén. Histamin způsobuje bolesti hlavy po podkožním a nitrožilním podání. Bolesti hlavy spojené s požitím potravin obsahující histamin jsou spojené s nedostatkem enzymu diaminoxidázy, která je inhibována alkoholem. Konzumace potravin, které obsahují biogenní aminy v nadměrném množství, může mít nežádoucí vliv na lidský organismus. Příkladem je hypertenze (vysoký tlak), nevolnost, průjem, zánět, návaly horka. V extrémních situacích může mít fatální následky.

Stupeň intoxikace při konzumaci biogenních aminů je závislý na typu a množství požitého biogenního aminu a správné funkčnosti systému detoxikace u člověka. Poté, co zkonzumujeme potravinu, se velmi malá část biogenních aminů metabolizuje v tlustém střevě na formy méně aktivní pomocí enzymů oxidujících monoamin, diamin a amin oxidáz. Je velmi náročné stanovit hladinu toxicity požitého aminu, protože je závislý na zdravotním stavu spotřebitele a dalších faktorech [19, 20].

### 3.1.1 Katecholaminy

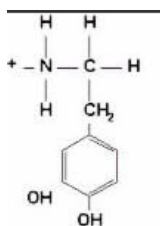
Jsou to hormony dřeně nadledvin, které díky jejich struktuře také řadíme mezi biogenní aminy. Mají totiž strukturu o-bifenylů. Řadíme mezi ně adrenalin a noradrenalin, které se někdy díky své funkci nazývají stresové hormony a také mezi ně řadíme dopamin, která je neuropřenašeč, protože umožňuje přenášení nervových impulsů v mozku [21].

#### Dopamin

Je produkován působením dihydroxyfenylalanin dekarboxylázy na dopamin. Ačkoliv je dopamin v mnoha oblastech mozku, vyskytuje se zejména v oblasti *corpus striatum*, což je oblast šedé hmoty v hemisféře koncového mozku, která hraje důležitou úlohu při koordinaci tělesných pohybů. U Parkinsonovy choroby dopaminergní neurony degenerují *substantia nigra* (černá substance, struktura v oblasti středního mozku), což vede k dysfunkci jemné motoriky. Dopamin prochází hematoencefalickou bariérou těžce, ale jeho prekurzor levodopa prochází snadněji. Levodopa je absorbována v tenkém střevě, ale pak je velmi rychle katabolizována v trávicím traktu a v periferních tkáních. Parkinsonovu chorobu můžeme tedy léčit podáváním levodopy s inhibitorem dekarboxylázy dopaminu (*karbidopou*) a inhibitorem monoaminoxidázy (*selegilinem*). Dopamin se například uvolňuje při podání kokainu, potom se váže na specifické receptory dopaminu a také na p-

adrenergní receptory. Dopamin není jen neurotransmitter, ale hraje i roli v sympatických gangliích [18, 21].

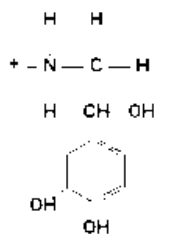
Obr. 1: Dopamin [18]



### 3.1.1.1 Noradrenalin

Noradrenalin (norepinefrin) je produkován dření nadledvin a patří také mezi katecholaminy. Jeho syntéza vyžaduje  $\beta$ -hydroxylázu, která poté katalyzuje produkci noradrenalinu z dopaminu. Syntetické gangliové buňky jsou nejvýznamnější neurony, které syntetizují noradrenalin, protože noradrenalin je hlavní vysílač ve viscerálním motorickém systému. Noradrenalin je i vysílačem *locus coeruleus* (jádro mozkového kmene), který vysílá signály do různých míst předního mozku a ovlivňuje mnohé funkce, např. spánek a bdění, ale i chování a pozornost [18, 21].

Obr. 2: Noradrenalin [18]

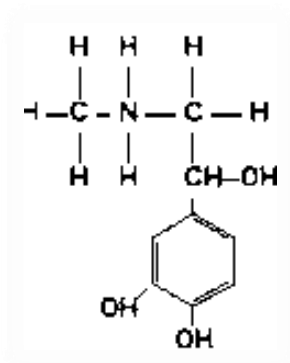


### 3.1.1.2 Adrenalin

Adrenalin je produkován dření nadledvin a také patří mezi katecholaminy. Je to hormon a neurotransmitter. Je významný při fyzické činnosti a také se podílí na řízení

stresové situace v organismu, a to tak, že spolu s kortizolem pomáhají udržet tělo při životě. Při jeho působení dochází ke zrychlení srdeční činnosti, pocení, rozšíření zornic a také v těle snižuje hladinu inzulínu, takže zvyšuje krevní glykémii. Je syntetizován pomocí enzymu fenylethanolamin-N-methyltransferázy a jeho přítomnost se vztahuje pouze na neurony, které vylučují epinefrin. Neurony obsahující tento amin se v centrální nervové soustavě nachází pouze ve dvou skupinách v rostrální dřeni, jejíž funkci neznáme [18, 21].

Obr. 3: Adrenalin [18]



### 3.1.2 Monoaminy

#### 3.1.2.1 Histamin

Histamin je organická dusíkatá sloučenina, která se vyskytuje v potravinách a může vyvolávat alergické reakce. Předpokládá se, že jiné biogenní aminy, jako např. putrescin a kadeverin, zesilují toxicitu histaminu. Intolerance histaminu vzniká následkem nahromaděného množství histaminu a také schopnosti histaminu degradovat.

Histamin se vyskytuje v potravinách v různém množství. U zdravých osob je histamin rychle detoxikován amin oxidázami, ale u osob s nízkou aktivitou amin oxidázy se riziko toxicity zvyšuje.

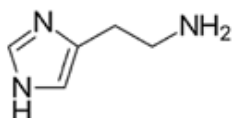
Diamin oxidáza je primárním enzymem pro metabolismus histaminu. Diamin oxidáza má funkci jako sekreční protein, může být zodpovědná za vylučování extracelulárního histaminu po uvolnění mediátoru.

Na druhou stranu histamin N-methyltransferáza je enzym inaktivující histamin a je to cytosolický protein, který přeměňuje histamin jen v intracelulárním prostoru buněk.

Degradace histaminu na základě nižší aktivity enzymu diamin oxidázy a výsledný přebytek histaminu mohou způsobit řadu zdravotních problémů.

Mezi nejčastější symptomy patří průjem, bolesti hlavy, arytmie, kopřivka, hypertenze, astma a spousta dalších příznaků. Ty mohou být odstraněny buď dietou, kdy není vhodné přijímat potraviny obsahující histamin, nebo mohou být eliminovány léky (antihistaminiky). [18, 22, 23].

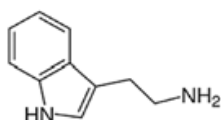
Obr. 4: Histamin [24]



### 3.1.2.2 Tryptamin

Tryptamin se také řadí mezi heterocyklické biogenní aminy a monoaminy. Jeho systematický název je 3-(2-aminoethyl)indol. Vzniká enzymovou dekarboxylací tryptofanu. Je odvozený od aromatické heterocyklické sloučeniny indolu. Některé jeho deriváty jako např. serotonin a melatonin jsou neurotransmitery. Většina jeho derivátů jsou psychoaktivní halucinogeny. Má také negativní účinek v potravinách, kde je produktem mikrobiální degradace [25].

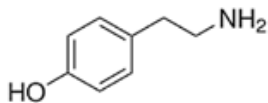
Obr. 5: Tryptamin [24]



### 3.1.2.3 Tyramin

Tyramin je biogenní amin vznikající dekarboxylací aminokyseliny tyrosinu. Řadíme ho mezi aromatické aminy a mezi diaminy. Jeho systematický název je 2-(4-hydroxyfenyl)etylamin. Nachází se v tkáních savců a různých rostlinách. Jedná se o produkt mikrobiální činnosti střeva. Má vliv na hnilobu živočišných produktů a při zrání sýra. Konzumace potraviny kontaminované tyraminem zvyšuje krevní tlak a způsobuje migrény [25, 26].

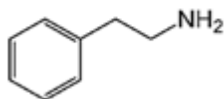
Obr. 6: Tyramin [24]



#### 3.1.2.4 2-fenylethylamin

2-fenylethylenamin je stejně jako tyramin biogenní amin aromatický. Jedná se také o monoamin. Je rozpustný ve vodě, ethanolu a éteru. Je dráždivý pro kůži. Funguje jako neurotransmitter. Může být syntetizován z fenylalaninu enzymatickou dekarboxylací. Vyskytuje se v čokoládě a dalších potravinách [27].

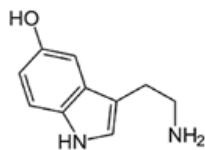
Obr.7: 2-fenylethylamin [24]



#### 3.1.2.5 Serotonin

Serotonin se také řadí mezi biogenní aminy. Je to látka, která má řadu funkcí v lidském těle, ale i v těle zvířat a rostlin. Někdy bývá nazýván také hormonem štěstí. Jeho systematický název je 5- hydroxytryptamin. Najdeme jej v některých druzích tropického ovoce jako je banán a ananas. Je to neurotransmitter, vyskytuje se v periferní a centrálním nervové soustavě, ale i v krevních destičkách, žírných buňkách a trávicím traktu. Řídí kontrakce hladkého svalstva, přispívá k dobré náladě a štěstí, ale podílí se i na řízení strachu a úzkosti. Je to substrát monoamin oxidázy. [25, 26]

Obr. 8: Serotonin [24]





### 3.1.3 Diaminy

#### 3.1.3.1 Kadeverin

Kadeverin se řadí k alifatickým biogenním aminům a je to diamin. Nazývá se též 1,5-diaminopentan nebo pentan-1,5-diamin. Vzniká dekarboxylací lysinu, která probíhá během hydrolýzy proteinů, a to např. při hnití masa. Může mít toxické účinky. Má roli rostlinného metabolitu, metabolitu *Escherichia coli* a myšního metabolitu [28].

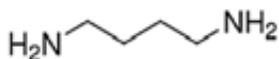
Obr. 9: Kadeverin [24]



#### 3.1.3.2 Putrescin

Putrescin je také metabolit a antioxidant. Je to diamin, který je toxický, protože se tvoří hnilobnou dekarboxylací argininu a ornitinu. Spolu s kadeverinem je tedy zodpovědný za hnilobný zápach masa, ale např. i za zápach z úst [26].

Obr. 10: Putrescin [24]

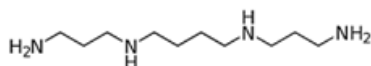


### 3.1.4 Polyaminy

#### 3.1.4.1 Spermin

Jeho systematický název je N,N-bis(3-aminopropyl)-1,4-diaminobutan. Nachází se v prokaryotických a eukaryotických buňkách. Má velké účinky na buněčný metabolismus. Je to antioxidant, metabolit a imunosupresivní látka (potlačuje funkci imunitního systému) a působí také jako základní růstový faktor. Nachází se ve velkém množství potravin a způsobuje jejich znehodnocení [25, 26].

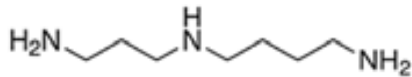
Obr. 11: Spermin [24]



### 3.1.4.2 Spermidin

Jeho systematický název je N-(3-aminopropyl)-1,4-diaminobutan. Je to polybazický amin. Spermidin je základní metabolit. Nachází se v prokaryotických a eukaryotických buňkách. Ovlivňuje strukturu nukleových kyselin a aktivitu enzymů a hraje roli při syntéze bílkovin v bakteriích. Je nezbytný pro replikaci bakteriofágů. Také se vyskytuje v různých potravinách, kde způsobuje jejich znehodnocení [26, 27].

Obr. 12: Spermidin [24]



## 4 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PRODUKCI A REGULACI BIOGENNÍCH AMINŮ V POTRAVINÁCH

### 4.1 Mikrobiologické faktory

K akumulaci a biosyntéze BA v mléčných výrobcích jsou potřeba bakterie s dekarboxylační aktivitou a vhodné prostředí pro aktivitu a růst dekarboxyláz. Je nutná také přítomnost substrátových aminokyselin [29].

#### 4.1.1 Role produkce BA mikroorganismy

Přítomnost mikroorganismů, které produkují BA, je podmínkou, bez které by nemohla biosyntéza těchto sloučenin probíhat. Akumulace BA ve velkých koncentracích závisí na přítomnosti MO, které produkují BA. Dále pak závisí na tom, jestli MO dosáhnou minimálního množství a na shodě různých faktorů, které proběhnou během zpracování a také skladování mléčných výrobků. Je obtížné najít souvislost mezi přítomností vysokých koncentrací BA v sýrech a přírůstkem specifické skupiny bakterií mléčného kvašení. Způsobují to hlavně dva faktory: zaprvé skutečnost, že schopnost produkce BA souvisí více s kmenem než s druhem bakterie, a zadruhé to souvisí s použitím nesespecifických metod identifikace bakterií.

Přítomnost schopnosti produkce BA v kultuře bakterií mléčného kvašení byla charakterizována získáním horizontálního genového přenosu spojeného s plazmidy nebo mobilními elementy. V některých situacích lze však tuto vlastnost považovat za charakteristickou pro určitý druh, např. produkci tyraminu u bakterií rodu *Enterococcus* nebo produkci putrescinu u bakterií rodu *Lactococcus*. V případě laktokoků se zdá, že prostředí mléka a empirický selektivní tlak, který je vyvíjen v důsledku použití startérů mléčného kvašení, vedl k ztrátě schopnosti produkce putrescinu, který způsoboval nežádoucí chuť.

Molekulární metody, které umožňují specifickou detekci a kvantifikaci kmenů, které produkují BA v mléčných výrobcích, nám dovolily navázat přímý vztah mezi počtem MO, které produkují BA, a konečnou koncentrací BA [29].

#### 4.1.2 Startovací kultury

Startovací kultury se používají k zajištění standardní kvality cílového výrobku. Často využívané bakteriální kmeny jsou *Lactobacillus delbrueckii* susp. *bulgaricus*, dále pak *Lactobacillus helveticus* a *Staphylococcus thermophilus*. Komerčně používané kultury musí být pečlivě charakterizovány, a to zejména kvůli využívání galaktózy a kvůli jejich proteolytickým vlastnostem.

Některé bakterie mléčného kvašení mohou mít specifickou aktivitu, a to sice buď proteolytickou nebo dekarboxylázovou, a tudíž i možnost syntetizovat BA, které by mohly ohrozit mléčné výrobky. Mezi MO s touto specifickou aktivitou patří bakterie rodů *Streptococcus*, *Lactococcus* a *Lactobacillus*. Riziko kontaminace kmeny, které produkují BA, lze snížit použitím dobrých startovacích kultur s vyloučením kmenů s nežádoucí produkcí BA. Bylo zjištěno, že někteří zástupci kmenů *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus brevis* a *Lactococcus lactis* jsou producenti histaminu, putrescinu a tyraminu. Protože tyto rody jsou používány jako startovací kultury, jedná se o závažnou informaci. Možností snížení hromadění BA je i použití doplňkové kultury, která obsahuje i bakterie se schopností degradovat BA. [29, 30].

#### 4.1.3 Pasterace

V mléce se vyskytují různé skupiny bakterií, nejčastěji to jsou bakterie mezofilní, jako např. *Lactococcus*, *Lactobacillus* nebo *Leuconostoc*, dále potom bakterie rodu *Enterobacteriaceae* a psychrotrofní MO jako je *Pseudomonas* a *Acinetobacter*. Členové všech těchto skupin bakterií byli popsáni jako producenti BA. Pasterizace mléka je proces zahřívání mléka nebo mléčného výrobku na danou teplotu a udržení této teploty nebo teploty vyšší na dobu minimálně potřebnou ke snížení počtu MO v mléce, přičemž probíhá v určitém provozním zařízení. Pasterizace také snižuje počet producentů BA. Takže sýry, které se vyrábějí z mléka pasterovaného, mají menší počet BA než sýry z mléka syrového. V některých případech je i v pasterovaných sýrech vysoká koncentrace BA, a to jednak z důvodu kontaminace kvůli nedostatečným hygienickým podmínkám, a jednak kvůli resistenci některých rodů vůči pasterizaci. Příkladem jsou bakterie rodu *Lactobacillus* a *Enterococcus*. Z tohoto důvodu není pasterizace dokonalý způsob, jak odstranit BA. Možným řešením je kombinace pasterace s použitím vysokého tlaku. U výběru mléka je velmi důležitý výběr startovací kultury s ohledem na její schopnost produkovat BA. [29, 31].

#### 4.1.4 Proces zrání a proteolýza

Zrání sýrů zahrnuje mnoho biochemických reakcí, mezi které patří degradace laktózy, lipolýza a také proteolýza. Zrání probíhá pomocí startéru, ale také nestratovacích bakterií mléčného kvašení, bakterií kyseliny propionové, kvasinek a plísní. Za rozklad proteinů jsou zodpovědné startovací bakterie, naopak nestratovací bakterie jsou zodpovědné za štěpení peptidů a uvolňování volných aminokyselin. Zrání a proteolýza jsou důležité faktory, které ovlivňují akumulaci BA v sýrech. Rychlost proteolýzy stoupá se zvyšující se dobou zrání, následkem toho dochází k hromadění některých volných aminokyselin, které slouží jako substrát pro dekarboxylační aktivitu, což nakonec vede k hromadění BA. Obecně platí pravidlo, že čím delší je proces stárnutí, tím větší je obsah BA. Dlouho zrající sýry mají velmi rychlou proteolýzu, takže hladina BA je vyšší než u sýrů zrajících kratší dobu. Řešením je přidání proteináz, které urychlují proces zrání sýra, ale také dostupnost malých aminokyselin a peptidů, což má významný účinek na produkci BA [29, 32].

## 4.2 Fyzikálně-chemické faktory

Růst MO produkujících BA a dekarboxylační aktivitu během výroby mléčných výrobků ovlivňuje mnoho fyzikálně-chemických faktorů jako je pH, teplota a koncentrace NaCl [29].

### 4.2.1 pH

Sýry mají pH v kyselé oblasti okolo pH 4,5-6,5, to závisí na typu sýra. Nízké pH je způsobeno mléčnou fermentací, která probíhá v prostředí s nízkou hodnotou pH. Snížení pH je způsobeno rozkladem laktózy na kyselinu mléčnou. Ačkoliv se může fyziologická role odlišovat, a to v závislosti na BA a MO, byl navržen systém pro neutralizaci kyselého extracelulárního pH, který zvyšuje přežití za podmínek kyselého prostředí. Nejrozšířenější teorií je, že kmeny bakterií se specifickými aminokyselinovými dekarboxylázami produkují BA, aby působily proti kyselému pH některých prostředí, jako je to u mléčné fermentace. Tato teorie je podporována vztahem mezi poklesem pH a produkcí BA pozorovaných u bakterií mléčného kvašení. Nízké pH je faktorem, který rozhoduje o aktivitě některých aminokyselinových dekarboxyláz. Nízké pH je faktorem, který rozhoduje o aktivitě některých aminokyselinových dekarboxyláz a je stále klíčovým parametrem představujícím

riziko akumulace BA ve finálním výrobku. Je ovšem velmi složité na tento faktor působit, když je součástí procesu fermentace sýrů [29, 34].

#### 4.2.2 Teplota

Teplota je významný faktor při zpracování sýrů a také ovlivňuje akumulaci BA v mléčných výrobcích. Produkce BA se zvyšuje s teplotou během výroby, ale také s teplotou během skladování. Řada studií ukazuje, že nízké teploty, např. 5 °C, snižují produkci BA jako je např. kadeverin, tyramin, histamin a dalších. S vyššími teplotami však jejich obsah roste. I když skladujeme sýry v chladu, akumulace BA může stoupnout nad bezpečné limity. Nejlepší způsob regulace BA je zmrazení na teplotu asi -18 °C, což výrazněji zhoršuje akumulaci BA, a to z důvodu zastavení mikrobiální aktivity. U mléka chlazeného na 15-21 °C dominují mezofilní mikroorganismy, zejména *Lactococcus* a *Enterococcus*. U mléka, které má 4 °C, se zpomalí růst mikroorganismů a rostou tam zejména psychrotrofní bakterie jako je *Pseudomonas* nebo *Flavobacterium*. Pasterací se zničí většina vegetativních mikroorganismů, ale přežívají spóry bakterií rodu *Bacillus* a *Clostridium* [29].

#### 4.2.3 NaCl

Dalším faktorem ovlivňujícím akumulaci BA je koncentrace NaCl ve fermentovaném výrobku. NaCl je používán ke kontrole růstu různých patogenů jednak během procesu fermentace, dále během zrání mléčných výrobků a zejména u výrobků ze syrového mléka. Cílem je zabránit otravě potravinami. Většina sýrů vyrobených ze syrového mléka obsahuje rod *Enterococcus* spp., který je jedním z hlavních producentů BA v sýrech. Přidáním vysoké koncentrace NaCl do mléka, které bylo naočkované bakterií *Enterococcus faecalis*, snížilo produkci 2-fenylethylaminu a tyraminu na minimum. Snížení produkce BA je způsobeno inhibičním účinkem vysoké koncentrace soli na rychlost růstu MO produkujících BA [29].

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce bylo posoudit vliv použitých kmenů na vybrané parametry sýrů zabalených v potravinářském vosku. Pro naplnění hlavního cíle byly vytyčeny následující dílčí cíle:

- Založit skladovací experiment s modelovými šaržemi sýrů, které byly vyrobeny za použití různých kultur.
- V předem stanovených odběrových dnech provést analýzy sýrů z jednotlivých šarží.
- Získané výsledky porovnat a vyvodit závěry.



## 6 METODIKA PRÁCE

V praktické části bakalářské práce byly vyrobeny modelové šarže sýru holandského typu s nízkodohřívanou sýřeninou v celkovém počtu 3 šarží. První šarže byla se smetanovým zákysem, což byla kontrolní šarže (v textu značená jako Kv). Druhá šarže byla vyrobena se smetanovým zákysem a s producentem BA (v textu značená jako Pv) a třetí šarže byla se smetanovým zákysem, producentem BA a s degradérem BA (v textu značená jako Dv). Všechny šarže byly zabaleny do potravinářského vosku. Postupy výroby a základní kultury (smetanová kultura) byly pro všechny šarže stejné. U sýrů, které obsahovaly producenta biogenních aminů, byl použit jako producent biogenních aminů kmen *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CCDM 946. U vzorků, které obsahovaly degradéra, byl použit jako degradér kmen *Lbc. casei* CCDM 198.

Původním cílem bakalářské práce bylo srovnávat obsahy biogenních aminů v jednotlivých šaržích sýrů, které byly vyrobené s použitím již zmíněných kultur. Tento cíl bohužel nemohl být splněn, a to z důvodu pandemie způsobené onemocněním covid-19, protože nebylo možné včas doměřit obsahy biogenních aminů a prezentovat je v bakalářské práci.

Použité chemikálie a přístroje

- mléko syrové kravské
- lyofilizovaná smetanová mezofilní kultura (MILCOM a.s., Česká republika)
- syřidlo Chymax 200 (Chr. Hansen, Dánsko)
- potravinářská sůl (Herold řeznické potřeby s.r.o., Česká republika)
- roztok  $\text{CaCl}_2$  nasycený 36 % (MILCOM a.s., Česká republika)
- 8 % peroctová kyselina Divosan Activ (Diversey, Česká republika)
- antimykotický přípravek Delvocid (O. K. Servis BioPro s.r.o., Česká republika)
- výrobce sýrů (Driml, Česká republika)
- laboratorní odstředivka FT15 (Armfield Inc., Velká Británie)
- zrací komora (Candy, Itálie)
- termostat Microbiological IL53 (VWR, Evropská unie)
- vakuová balička Mini Jumbo (Henkelman, Nizozemsko)
- analytické váhy (A&D GH-200 EC, LABICOM s. r. o., Česká republika)

- germicidní UV lampa NBVE 110/55 (Ultra Viol, Polsko)
- vyvíječ vodní páry
- lisovací vana a formy
- sýrařské plachetky, teploměr se sondou, odměrné válce, automatické pipety, kádinky, zkumavky, síto, mixér.

## 6.1 Výroba sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou ve výrobníku sýrů

Celá výroba sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou včetně přípravy materiálu trvala měla dobu trvání tři dny. Všechny předměty, které přišly do kontaktu se sýry, surovinou nebo meziproduktem, byly dezinfikovány včetně oplachu vodou. Bylo také nutné vysvítit. Nutné bylo i prostory germicidní lampou (UV-lampou), a to přes noc, před vlastní výrobou sýrů.

### 6.1.1 Příprava provozního zákysu

První den byly provedeny přípravy na výrobu sýra. Pro výrobu sýrů z 35 l mléka je nutno použít celkem 160 ml smetanového provozního zákysu smetanové kultury Laktoflora<sup>®</sup>, a to na výrobu kontrolní šarže. Pro výrobu šarže s producentem bylo použito 120 ml smetanového zákysu a 40 ml zákysu s producentem biogenních aminů, kterým byl kmen *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* CCDM 946. Na šarži s degradérem bylo použito 80 ml smetanového zákysu, 40 ml zákysu s producentem biogenních aminů a 40 ml zákysu s degradérem biogenních aminů, kterým byl kmen *Lbc. casei*. CCDM 198. Zákys byl připravován ve zkumavkách z plastu (vzorkovnice) o objemu 50 ml z vysoce pasterovaného mléka. Byly použity 4 vzorkovnice, v každé vzorkovnici bylo 40 ml mléka. Do vzorkovnice bylo dáno mléko, zkumavka byla uzavřena, označena kódem zákysu a následně byla vložena ve stojanu do vodní lázně. Po 30 minutách záhřevu bylo ponecháno mléko v uzavřené zkumavce k vychlazení asi na  $30 \pm 2$  °C. Smetanová kultura o hmotnosti asi 0,15 g na 40 ml mléka byla inokulována do mléka, které bylo vytemperované na teplotu  $30 \pm 2$  °C, a směs byla promíchána, aby se dokonale rozptýlily kultury v mléce. Zákys byl kultivován v termostatu při teplotě  $25 \pm 1$  °C po dobu 16-20 hodin. Zákys s vybraným kmenem (degradér/producent BA) byl připraven tak, že 5 ml živného média, které obsahovalo daný

kmen, bylo inokulováno do mléka o množství 40 ml. Kultivace probíhala stejně jako u smetanového zákysu.

### **6.1.2 Příprava prostor a pomůcek pro výrobu sýrů**

Vnitřní prostory standardizační nádoby a výrobníku včetně nerovností, výpustí a ventilů byly ošetřeny parou pomocí vyvíječe vodní páry; důvodem bylo odstranění případné kontaminace. Současně byla inaktivována přítomná mikroflóra, která by mohla být mikrobiálním kontaminantem. Parou byly ošetřeny také konve na mléko i s jejich víky, tak, aby došlo k ohřevu veškerého vnitřního povrchu, a tím k omezení přítomné mikroflóry. Prostory technologické laboratoře byly ponechány přes noc vysvítit germicidní lampou (UV-lampa) po dobu 4 hodin.

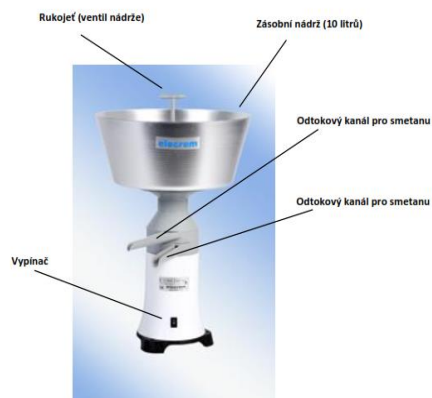
### **6.1.3 Ošetření mléka před výrobou sýrů**

Druhý den byla provedena výroba sýra, která byla provedena od počátečních úprav mléka. Všechny pomůcky, které přišly do styku s produktem, meziproduktem nebo surovinou, musely být dezinfikovány a dostatečně opláchnuty pitnou vodou pro zamezení přenosu reziduí inhibičních/ desinfekčních látek.

### Odstředění mléka

Laboratorní zařízení pro odstředění mléka je znázorněno na Obrázku 13. Syrové mléko bylo předeřháto v nádobě, a to na teplotu 37 °C. Následně byl zapnut motor, který poháněl buben odstředivky a byl ponechán, aby dosáhl plné rychlosti. Předeřhátým mlékem byla naplněna zásobní nádoba odstředivky. Mléko se následně dostalo přes přítokový kanál do rotujícího bubnu odstředivky. Účinkem odstředivé síly došlo k separaci mléčného tuku (smetany, která má obsah tuku asi 45 %) od mléčné plazmy (což je odstředěné mléko, které má obsah tuku asi 0,02 %). Obě frakce produktů byly sbírány odtokovými kanály do připravených nádob. Během odstředování byla doplněna zásobní nádoba odstředivky, a to postupně. Následně byl uzavřen ventil, motor odstředivky byl poté vypnut. Po ukončení odstředování musela být každá součást odstředivky po její demontáži pořádně vyčištěna neagresivním saponátem.

Obrázek 13: Laboratorní zařízení pro odstředění mléka



### Standardizace tuku mléka

Mléko bylo standardizováno ve standardizační nádobě navážením a smícháním odstředěného mléka a smetany podle vypočteného poměru. Požadovaný finální obsah tuku v mléce byl 3 % pro dosažení 45 % tvs.

### Pasterace mléka

Standardizované mléko bylo pasterováno diskontinuálním způsobem. Pasterace probíhala ve výrobníku sýrů při teplotě 72 °C, a to po dobu 30 s. Pak bylo mléko ochlazené a vytemperováno na sýřicí a inokulační teplotu 32±1 °C.

## **6.1.4 Výroba sýrů**

### Úprava mléka před sýřením

Mléko bylo inokulováno pomocí provozního zákysu. K mléku bylo přidáno 17,5 ml nasyceného roztoku chloridu vápenatého k lepšímu sýření. Směs mléka byla následně dostatečně promíchána a kultura byla ponechána k reaktivování po dobu 20 minut.

### Sýření mléka

Sýřicí teplota byla  $32\pm 1^\circ\text{C}$ . Bylo přidáno 5 400  $\mu\text{l}$  syřidla Chymax 200, které bylo ředěné v desetinásobku pitné vody. Směs byla promíchána a pak do minuty zklidněna a ponechána v klidu po dobu 30 minut.

### Zpracování sýřeniny

Po půl hodině sýření byla sýřenina prokrojena sýrařskou harfou příčně i podélně. Sýřenina byla ponechána asi 10 minut v klidu, aby došlo k uvolnění syrovátky. Následovalo drobení sýřeniny pomocí sýrařské harfy, a to po dobu pěti minut. Poté byla sýřenina míchána 30 minut. Pak byla přes síto odebrána syrovátka o objemu asi 10,5 l a k sýrovému zrnu bylo přidáno 7 litrů vody o teplotě  $60^\circ\text{C}$ . Docházelo k dohřívání sýrového zrna pozvolným způsobem, který trval jen několik minut. Bylo dosoušeno po dobu 30 minut za stálého míchání.

### Formování a lisování sýřeniny

Sýřenina byla slévána do vany, kde byla předlisována po dobu 20 minut. Předlisovaná sýřenina byla přesunuta do 12 lisovacích forem, které byly vyloženy plachetkou. Sýry byly lisovány pomocí 4 lisů ve stohu.

Tab. 1: lisování č. 1

Doba lisování	Zátěž na páce
30 min	5 kg
30 min	15 kg
30 min	25 kg

Následovalo otočení sýrů

Tab. 2: lisování č. 2

Doba lisování	Zátěž na páce
60 min	25 kg

Následně byly sýry uloženy do nádob a pak byly vloženy do lednice, aby prokysaly do druhého dne. Pak byly sýry soleny v solné lázni.

### 6.1.5 Solení sýrů

Třetí den byly provedeny finální úpravy sýra. Po třech blocích sýra byly vzorky umístěny do solné lázně o teplotě 8 °C a byly soleny po dobu 3 hodin. Solná lázeň byla připravována rozpuštěním 1,075 kg jedlé soli ve vodě, a to v objemu 4,3 litru. Solné lázně byly celkem čtyři.

### 6.1.6 Ošetření vylisovaných sýrů

Vylisované sýry byly ošetřeny antimykotickou suspenzí pomocí přípravku Delvocid. Následovalo ponoření sýrů do suspenze po dobu 4 sekund. Potom byly sýry ponechány k oschnutí 30 minut a byly baleny do potravinářského vosku.

### 6.1.7 Balení sýrů.

#### Potravinářský vosk

Byl připraven potravinářský vosk, a to v rozehrátém kotlíku. Sýr byl následně na kovovém držátku ponořen do vosku, aby došlo ke kompletnímu obalení sýru voskem. Případné nedostatky v obalení byly odstraněny ručním domazáním vosku. Sýry obalené v potravinářském vosku se ponechaly stát, aby došlo ke ztuhnutí vosku.

## 6.2 Chemická analýza

### 6.2.1 Stanovení pH

Bylo změřeno pH pomocí pH metru. pH se měřilo při každých odběrech, a to u každého vzorku 6krát pomocí vpichové elektrody.

### 6.2.2 Stanovení tuku v sušině

Obsah tuku byl stanoven metodou butyrometrickou. Byl navážen vzorek sýra v množství 3 g, sýr byl před navážením rozmixován. Navážený vzorek sýra byl následně převeden do butyrometru. K rozpuštění bílkovin, které se nachází v obalu tukových kuliček, byla použita kyselina sírová, a to v objemu 14 ml. Byla použita vodní lázeň s teplotou 65 °C, do které byl vložen butyrometr a následně byl promícháván. Vzorek byl rozpuštěn a pak byl přidán amylalkohol, aby bylo dosaženo ostrého rozhraní. Poté byla směs promíchána a byl odstředěn uvolněný tuk. Butyrometr má kalibrovanou část, v níž byl odečten obsah tuku.

Výpočet obsahu tuku v sušině:

$$\text{Obsah tuku v sušině [\%]} = \frac{100 \cdot t}{s}$$

s – sušina [%]

t – tučnost [%]

### 6.2.3 Stanovení sušiny

Byl stanoven obsah sušiny vázkovou metodou. Na začátek byly naváženy 3 g sýra, který byl rozmixován. Tento sýr byl navážen do předem vysušených misek. Misky obsahovaly křemičitý písek. Vzorky se sušily v sušárně po dobu 5 hodin při teplotě 105±1 °C. Po vysušení byly misky zváženy. Obsah sušiny byl vypočten jako hmotnostní úbytek po vysušení vzorku podle vzorce:

$$\text{Obsah sušiny [hm.\%]} = \frac{(m_3 - m_1)}{m_2}$$

$m_1$  – hmotnost misky s pískem [g]

$m_2$  – hmotnost misky před vysušením [g]

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

#### 6.2.4 Stanovení soli

Stanovení soli bylo provedeno titrací roztokem dusičnanu stříbrného. Nejprve byl navážen rozmixovaný vzorek sýra v množství 1 g na analytických vahách s přesností na 4 desetinná místa. Následně byl vzorek upraven rozmělněním pomocí tloučku v třecí misce, a to s 10 ml destilované vody, a následně byl kvantitativně převeden do kádinky. K rozmixovanému vzorku byla přidána kyselina dusičná v množství 2 ml a vzorek byl doplněn destilovanou vodou do takového množství, aby bylo možno do něj ponořit teploměr a elektrody. Vzorek byl titrován roztokem dusičnanu stříbrného a hodnoty napětí byly zapisovány vždy po 0,5 ml přidaného roztoku. Obsah soli byl vypočten z druhé derivace.

#### 6.2.5 Texturní profilová analýza

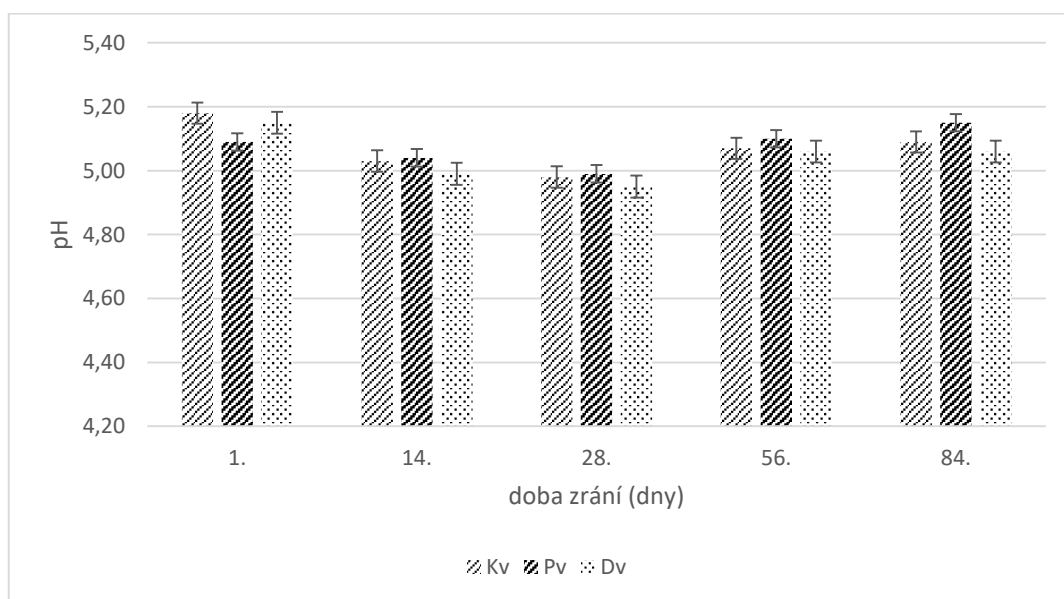
U vzorků sýra byla stanovena i texturní profilová analýza. Tato analýza byla provedena na analyzátoru textury s názvem TA.XT Plus. Nejdříve byly ze sýra vykrojeny vzorky tvaru válce o průměru asi 35 mm a jejich výška byla asi 20 mm. Pak byl proveden kompresní test, a to tak, že vzorek byl stlačen o 25 % výšky za použití cylindrické sondy o průměru 50 mm. Ze zátěžové křivky byla odečtena hodnota tvrdosti. Hodnota tvrdosti je maximální síla získaná měřením kompresního testu.



## 7 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 7.1 Stanovení pH

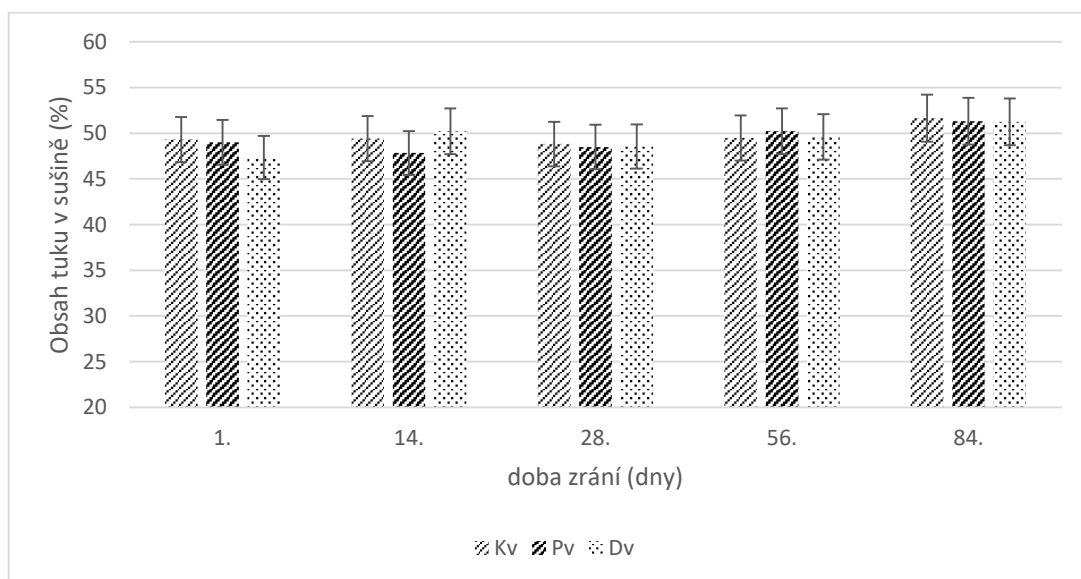
V průběhu zrání vzorků našeho sýra bylo měřeno pH a jeho postupný vývoj. Výsledky měření jsou zobrazeny v následujícím grafu (Obr.14). Průměrné pH v 1. dni měření vyšlo u šarže Kv 5,18, u šarže Pv 5,09 a u šarže Dv 5,15. Dále pak průměrné pH po 14 dnech zrání vyšlo u šarže Kv 5,03, u šarže Pv 5,04 a u šarže Dv 4,99. Následoval 28. den, kde průměrné pH vyšlo u šarže Kv 4,98, u šarže Pv 4,99 a u šarže Dv 4,95. Dále pak průměrné pH po 56 dnech zrání vyšlo u šarže Kv 5,07, u šarže Pv 5,10 a u šarže Dv 5,06. Nakonec průměrné pH po 84 dnech zrání vyšlo u šarže Kv 5,03, u šarže Pv 5,04 a u šarže Dv 4,99. U všech vzorků byl vývoj pH přibližně stejný - po 14 dnech zrání došlo ke snížení pH, a to mírně. Důvodem může být působení fermentace laktózy na kyselinu mléčnou. [33]. Po 28 dnech zrání pak došlo opět k mírnému poklesu pH u všech vzorků. Po 56 dnech pak u všech tří vzorků došlo k nárůstu pH, důvodem je pravděpodobně proteolýza, při které dochází k rozkladu bílkovin na aminokyseliny a uvolňuje se amoniak, který má zásaditý charakter [32]. Během zrání dochází také k produkci dalších látek zásadité povahy, jako jsou např. biogenní aminy, které rovněž mohou způsobit změnu hodnot pH [17]. K dalšímu nárůstu došlo následně po 84 dnech zrání. Celkové změny hodnot pH byly vcelku velké.



Obr.14: Změna pH u vzorků sýra ve stanovených dnech

## 7.2 Stanovení tuku v sušině

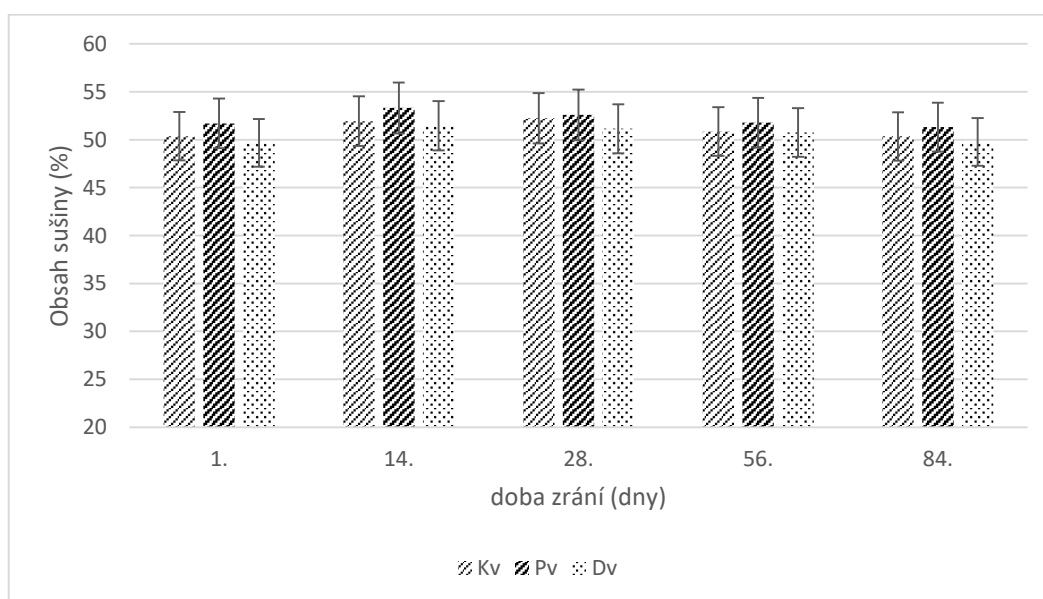
Byl stanoven obsah tuků v sušině u všech 3 vzorků (Obr.15). Průměrný obsah tuku v sušině vyšel v 1. dni u šarže Kv 49,31 %, u šarže Pv 49,00 % a u šarže Dv 47,33 %. Po 14 dnech zrání vyšel průměrný obsah tuku v sušině u šarže Kv 49,42 %, u šarže Pv 47,83 % a u šarže Dv 50,22 %. Po 28 dnech zrání vyšel průměrný obsah tuku v sušině u šarže Kv 48,82 %, u šarže Pv 48,49 % a u šarže Dv 48,55 %. Dále pak průměrný obsah tuku v sušině po 56 dnech zrání vyšel u šarže Kv 49,48 %, u šarže Pv 50,22 % a u šarže Dv 49,59 %. Průměrný obsah tuku v sušině po 84 dnech zrání vyšel u šarže Kv 51,65 %, u šarže Pv 51,32 % a u šarže Dv 51,24 %. Stanovované vzorky sýrů patří do skupiny plnotučných sýrů, které dle vyhlášky č. 397/2016 sb. musí obsahovat nejméně 45,0 % hm. tuku v sušině a méně než 60,0 % hm. tuku v sušině. U každého vzorku docházelo ke změně tuku v sušině během zrání jinak, nicméně tyto změny nebyly nějak výrazné. U šarže Kv po 14 dnech došlo k mírnému zvýšení tuku v sušině, zato u šarže Pv došlo k jeho snížení, a v neposlední řadě u šarže Dv došlo k mírnému zvýšení tuku v sušině. Po 28 dnech zrání u šarže Kv došlo opět ke snížení hodnoty, ale u šarže Pv došlo ke snížení tuku v sušině téměř na stejnou hodnotu jako na začátku zrání a u šarže Dv došlo naopak ke snížení tuku v sušině. Po 56 dnech zrání u všech vzorků došlo k malému zvýšení tuku v sušině. Po 84 dnech zrání došlo u všech vzorků ke zvýšení hodnoty tuku v sušině. Rozdíly v obsahu tuku v sušině v průběhu zrání nebyly nijak velké, takže nemohly být způsobeny špatnou standardizací mléka [2].



Obr.15: Změna obsahu tuku u vzorků sýra ve stanovených dnech

### 7.3 Stanovení sušiny

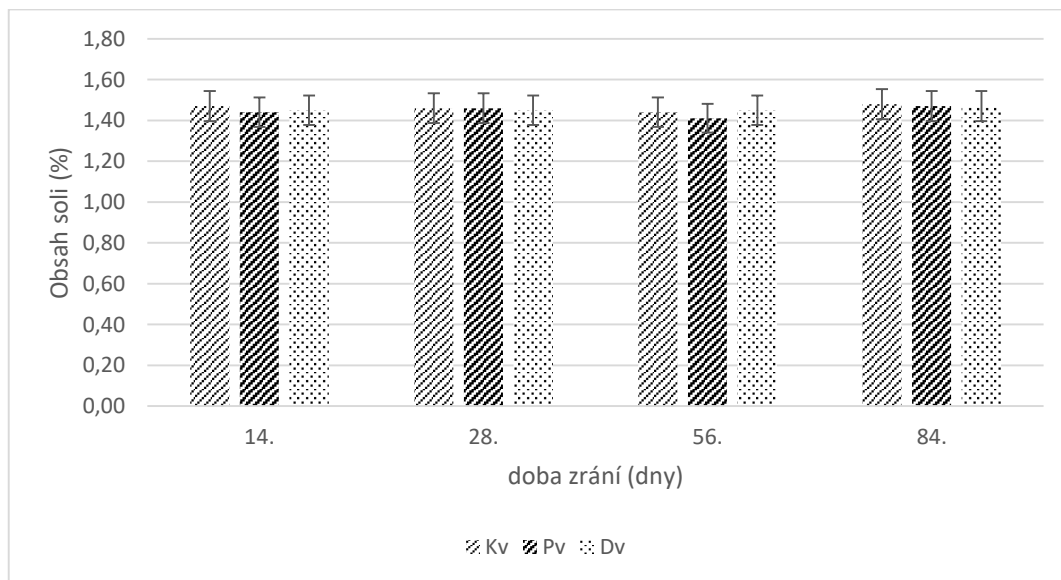
Byla stanovena sušina vyrobených vzorků sýra (Obr.16). Průměrný obsah sušiny vyšel v 1. dni u šarže Kv 50,36 %, u šarže Pv 51,7 % a u šarže Dv 49,66 %. Následně po 14 dnech zrání vyšel průměrný obsah sušiny u šarže Kv 51,94 %, u šarže Pv 53,31 % a u šarže Dv 51,44 %. Poté po 28 dnech zrání průměrný obsah sušiny vyšel u šarže Kv 52,24 %, u šarže Pv 52,59 % a u šarže Dv 51,15 %. Průměrný obsah sušiny pak po 56 dnech zrání vyšel u šarže Kv 50,86 %, u šarže Pv 51,78 % a u šarže Dv 50,75 %. Průměrný obsah tuku v sušině po 84 dnech zrání vyšel u šarže Kv 50,34 %, u šarže Pv 51,31 % a u šarže Dv 49,76 %. Byl také sledován průběh změn sušiny v průběhu zrání sýra. Po 14 dnech zrání došlo u všech 3 vzorků k relativně vysokému zvýšení sušiny, a to o přibližně 1,5 % u každého vzorku. Po 28 dnech u šarže Kv došlo k mírnému zvýšení sušiny sýra, ale u šarží Pv a Dv došlo naopak k mírnému snížení. Po 56 dnech došlo u všech 3 vzorků k mírnému snížení obsahu sušiny. Po 84 dnech zrání došlo k opětovnému zvýšení všech 3 vzorků o téměř 1 %. Prvotní zvýšení obsahu sušiny po 14 a 28 dnech je nejspíše způsobené snížením obsahu vody. **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** Opětovné snížení obsahu sušiny po 56 dnech mohlo být způsobeno biochemickými procesy, například lipolýzou, kdy dochází k rozkladu tuků na mastné kyseliny, nebo proteolýzou, kdy dochází k rozkladu bílkovin na aminokyseliny **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**[9, 10].



Obr.16: Změna obsahu sušiny u vzorků sýra ve stanovených dnech

## 7.4 Stanovení soli

Byl stanoven také obsah soli u vzorků sýra holandského typu. (Obr.17). Obsah soli byl průměrně stejný u všech vzorků sýra. U šarží Kv a Dv byl  $(1,46 \pm 0,01)$  % a u šarže Pv byl o 0,01 % menší, a to  $(1,45 \pm 0,01)$  %. Průběh změny obsahu soli se poprvé stanovoval až po 14 dnech zrání a byl mírně rozdílný u každého vzorku. Po 14 dnech zrání u šarže Kv byla hodnota po 14 dnech 1,47 %, následně po 28 dnech došlo k poklesu na 1,46 %, dále pak po 56 dnech k poklesu na 1,44 % a na závěr po 84 dnech došlo k nárůstu obsahu soli na 1,48 %. U šarže Pv byl obsah soli po 14 dnech 1,44 %, po 28 dnech vzrostl na 1,46 %, poté klesl po 56 dnech na 1,41 % a nakonec po 84 dnech opět vzrostl na hodnotu 1,47 %. Obsah soli u šarže Dv byl po 14, 28 a 56 stejný, a to s hodnotou 1,45 %. Po 84 dnech došlo k mírnému nárůstu obsahu soli na hodnotu 1,47 %. Mírné změny v obsahu soli mohly být způsobeny změnami sušiny.



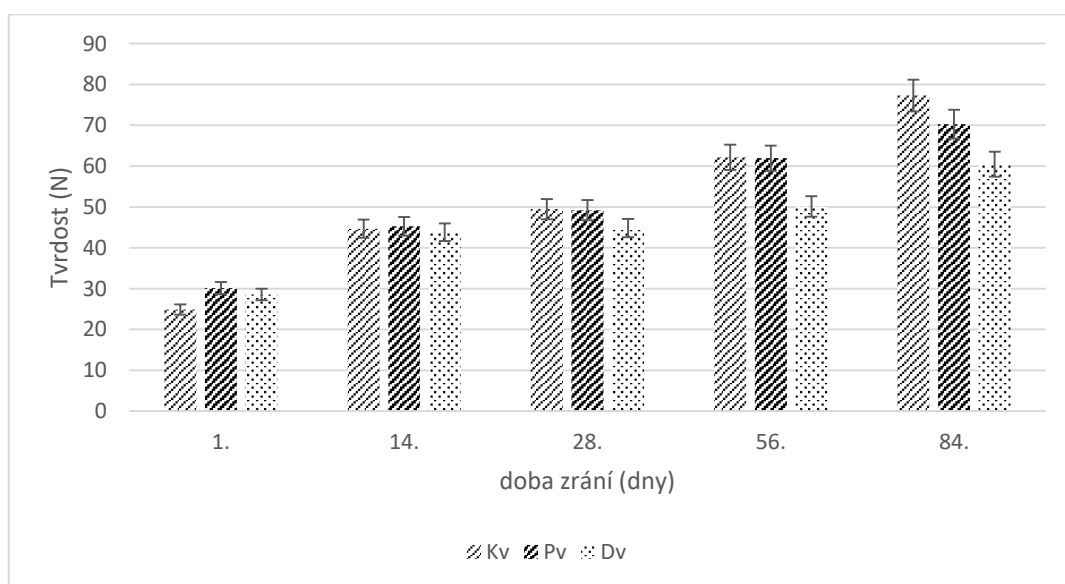
Obr.17: Změna obsahu soli u vzorků sýra ve stanovených dnech

## 7.5 Texturní profilová analýza

U všech 3 šarží sýra byla provedena texturní profilová analýza a byla stanovena tvrdost sýra. Tvrdost sýra je zobrazena na obrázku 18. Z grafu je patrné, že tvrdost sýra se

u všech šarží pravidelně měnila. U všech vzorků byl významný nárůst tvrdosti po 14 dnech, přičemž změna u šarže Dv byla jen nepatrná. Po 28 dnech následovala mírná stagnace. Po 56 došlo k opětovnému strmému nárůstu zejména u šarží Kv a Pv, ale u šarže Dv byla změna opět jen mírná. Ve srovnání s ostatními vzorky byl významně měkčí sýr ze šarže Dv. U šarže Kv byly zjištěny v 1. dnu zrání průměrné hodnoty tvrdosti 24,86 N. Po 14 dnech vzrostla tvrdost sýra na hodnotu 44,65 N. Po 28 dnech zrání opět vzrostla, a to na hodnotu 49,46 N. Následoval 56. den, kdy hodnota vzrostla na 62,17 N. Finální tvrdost po 84 dnech byla 77,29 N. U šarže PV pak byly zjištěny v 1. dnu zrání průměrné hodnoty tvrdosti 30,14 N. Po 14 dnech zrání došlo ke vzrůstu tvrdosti sýra na hodnotu 45,26 N. Po 28 dnech zrání vzrostla na hodnotu 49,19 N a po 56 dnech zrání na hodnotu 61,95 N. Finální tvrdost byla po 84 dnech 70,27 N. U šarže Dv byly změřeny po 1. dnu zrání průměrné hodnoty tvrdosti 28,57 N. Po 14 dnech měření následně vzrostla tvrdost sýra na hodnotu 43,81 N. Po 28 dnech zrání také vzrostla, a to na hodnotu 44,84 N. Pak po 56 den vzrostla na hodnotu 50,14 N. Na závěr po 84 dnech zrání jsme změřili hodnotu 60,47 N. Tvrdost sýra v průběhu zrání pravidelně rostla, což neodpovídá literatuře, podle které během zrání dochází ke snížení tvrdosti sýra, a to z důvodu sníženého množství intaktního kaseinu způsobeného proteolýzou [35].

Důvody zvýšení tvrdosti sýra tudíž byly způsobeny nejspíše úbytkem vody v průběhu zrání. Možným důvodem mohla být i rozdílná intenzita proteolýzy v jednotlivých šaržích s rozdílnou kulturou [8].



Obr.18: Texturní profilová analýza u vzorků sýra ve stanovených dnech

## 8 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo sledovat vliv použité kultury na vybrané parametry sýra zabaleného v potravinářském vosku. Tento sýr zrál po dobu 84 dní. V teoretické části byla popsána obecná charakteristika sýrů, následně některé faktory, které mohou ovlivňovat zrání sýra, dále obecná charakteristika biogenních aminů a v neposlední řadě i faktory, kterými lze jejich výskyt snížit.

V praktické části byly vyrobeny 3 šarže sýra s použitím různých kmenů bakterií, a to buď těch, které biogenní aminy produkují, nebo těch, které je degradují. Vzorek sýra zrál po dobu 84 dní a během této doby byly odebírány vzorky a byly stanovovány základní chemické parametry: stanovení pH, obsahu soli, obsahu tuku v sušině a sušiny. Byla provedena i texturní profilová analýza. Samotné stanovení biogenních aminů nemohlo být z důvodu pandemie způsobené onemocněním covid-19 dokončeno.

Byly zjištěny následující výsledky:

- Hodnota pH měla u všech šarží až do 28. dne klesající trend, a to pravděpodobně kvůli fermentaci kyseliny mléčné na laktózu, následně od 56. dne pH rostlo až do konce experimentu, důvodem byla pravděpodobně proteolýza,
- Obsah tuku v sušině byl v rozmezí 47,33 - 51,65 % z toho plyne, že standardizace byla provedena správně,
- Během zrání došlo také ke změnám v sušině, které u každého šarže probíhaly jinak u šarže Kv docházelo k růstu obsahu sušiny až do 28. dne a od 56. dne došlo k poklesu, u šarží Pv a Dv docházelo k růstu obsahu sušiny jen do 14. dne a od 28. dne došlo k poklesu. Důvodem k zvýšení obsahu sušiny bylo pravděpodobně snížení obsahu vody během zrání. Důvodem zvýšení obsahu sušiny byla pravděpodobně proteolýza nebo lipolýza,
- Změny obsahu soli v průběhu zrání byly minimální, mírné změny mohly být způsobeny změnami v obsahu sušiny,
- Byla změřena tvrdost sýra, která u všech vzorků v průběhu zrání rostla. Nejvíce rostla u šarží Kv a Pv. U šarže Dv tvrdost rostla jen mírně, takže sýr na konci zrání byl výrazně měkký. Zvýšení tvrdosti bylo způsobené pravděpodobně snížením obsahu vody v sýru.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

[1] ČESKO. § 2 písm. g) vyhlášky č.397/ 2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje – znění od 1.1.2020. In: Zákony pro lidi.cz [online]. © AION CS 2010-2020 [cit.30.1:2020]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-397/zneni-20200101?porov=2%170701#p2-1-g>

[2] WALSTRA, Pieter, Jan T.M. WOUTERS a T. J. GEURTS. Dairy science and technology. 2nd ed. Boca Raton: CRC/Taylor & Francis, 2006, 782 p. Food science and technology ISBN 9781420028010. Dostupné z: <http://marc.crcnetbase.com/isbn/9781420028010>

[3] Donnelly, Catherine W. (2014). Cheese and Microbes - 3.2 Towards a Global Classification System. (pp. 41). American Society for Microbiology (ASM). Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00TXCNX1/cheese-and-microbes/towards-global-classification>

[4] Fox, Patrick F. McSweeney, Paul L.H. Cogan, Timothy M. Guinee, Timothy P.. (2004). Cheese – Chemistry, Physics and Microbiology (3rd Edition) - 1.2.2 Classification Schemes Based on Method of Coagulation. (pp. 5-8). Elsevier. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt004R05A2/cheese-chemistry-physics/classification-schemes-based>

[5] International Food Information Service. (2009). Dictionary of Food Science and Technology (2nd Edition) - Pasta. (pp. 314). International Food Information Service (IFIS Publishing). Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt006QEDP4/dictionary-food-science/pasta>

[6] Talbot, Geoff. (2011). Reducing Saturated Fats in Foods - 9.4 Butter and Spreadable Fats. (pp. 186-187). Woodhead Publishing. Dostupné z:

<https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0094CTA2/reducing-saturated-fats/butter-spreadable-fats>

[7] ZULJAN, Federico Alberto, Pablo MORTERA, Sergio Hugo ALARCÓN, Víctor Sebastián BLANCATO, Martín ESPARIZ a Christian MAGNI. Lactic acid bacteria decarboxylation reactions in cheese. *International Dairy Journal* [online]. 2016, 62, 53-62 [cit. 2020-02-04]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2016.07.007. ISSN 09586946. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694616302199>

[8] Eskin, N.A. Michael Shahidi, Fereidoon. (2013). *Biochemistry of Foods (3rd Edition) - 8.7.1 Metabolism of Residual Lactose and Catabolism of Lactate and Citrate.* (pp. 340). Elsevier. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00C4JLC3/biochemistry-foods-3rd/metabolism-residual-lactose>

[9] McSweeney, Paul L. H. Fox, Patrick F. Cotter, Paul D. Everett, David W. (2017). *Cheese - Chemistry, Physics & Microbiology (4th Edition) - 25.4 Microbiological Quality.*(pp. 630-640). Elsevier. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00CX9BH1/cheese-chemistry-physics/microbiological-quality>

[10] Fox, Patrick F. McSweeney, Paul L.H. Cogan, Timothy M. Guinee, Timothy P. (2004). *Cheese - Chemistry, Physics and Microbiology (3rd Edition) - 12.5 Starter Bacteria.* (pp. 288-290). Elsevier. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt004QZWO3/cheese-chemistry-physics/starter-bacteria>

[11] Weimer, Bart C. (2007). *Improving the Flavour of Cheese - 8.1.2 Accelerated Cheese Ripening.* (pp. 178). Woodhead Publishing. Dostupné z:



<https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt005FUV54/improving-flavour-cheese/accelerated-cheese-ripening>

[12] Donnelly, Catherine W. (2014). Cheese and Microbes - 2.3.1 Acid Coagulation. (pp. 21). American Society for Microbiology (ASM). Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00TXCNF1/cheese-and-microbes/acid-coagulation>

[13] Toldrá, Fidel. (2017). Lawrie's Meat Science (8th Edition) - 6.4.2.2 Lactic Acid Bacteria.(pp. 196). Elsevier. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00CX3IB1/lawries-meat-science/lactic-acid-bacteria>

[14] Robinson, Richard K.. (2000). Encyclopedia of Food Microbiology, Volumes 1-3 - Starter Bacteria and Starter Adjuncts. (pp. 382). Elsevier. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0051JTT2/encyclopedia-food-microbiology/starter-bacteria-adjuncts>

[15] Griffiths, Mansel W.. (2010). Improving the Safety and Quality of Milk, Volume 1 - Milk Production and Processing - 1.3.2 Plasmin. (pp. 10). Woodhead Publishing. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0094CDB1/improving-safety-quality/plasmin>

[16] Chen, Jianshe Rosenthal, Andrew. (2015). Modifying Food Texture, Volume 1 - Novel Ingredients and Processing Techniques - 4.4 Enzymes in Cheese. (pp. 74). Elsevier. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00ULY8U1/modifying-food-texture/enzymes-in-cheese>

[17] SUZZI, Giovanna a Sandra TORRIANI. Editorial: Biogenic amines in foods. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2015, 6 [cit. 2019-11-16]. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00472. ISSN

1664-302X. Dostupné z:

[http://www.frontiersin.org/Food\\_Microbiology/10.3389/fmicb.2015.00472/full](http://www.frontiersin.org/Food_Microbiology/10.3389/fmicb.2015.00472/full)

[18] Waymire, Jack C., Neuroscience online: An Electronic Textbook for the Neurosciences [online]. 2016, [cit. 2019-11-16]. Dostupné z:

<https://nba.uth.tmc.edu/neuroscience/m/s1/chapter12.html>

[19] WÖBER, Christian a Çiçek WÖBER-BINGÖL. Triggers of migraine and tension-type headache. Headache [online]. Elsevier, 2010, 2010, s. 161-172 [cit. 2019-11-16]. Handbook of Clinical Neurology. DOI: 10.1016/S0072-9752(10)97012-7. ISBN 9780444521392. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0072975210970127>

[20] Frias, Juana Martinez-Villaluenga, Cristina Peñas, Elena. (2017). Fermented Foods in Health and Disease Prevention - 27.1 Classification, Biosynthesis, and Metabolism of Biogenic Amines. (pp. 625-626). Elsevier. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0112U1VG/fermented-foods-in-health/classification-biosynthesis>

[21] Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, et al., editors. Neuroscience. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2001. The Biogenic Amines. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11035/>

[22] SARA, Susan J. The locus coeruleus and noradrenergic modulation of cognition. Nature Reviews Neuroscience [online]. 2009, 10(3), 211-223 [cit. 2019-11-16]. DOI: 10.1038/nrn2573. ISSN 147-003X. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/nrn2573>

[23] MAINTZ, Laura a Natalija NOVAK. Histamine and histamine intolerance. The American Journal of Clinical Nutrition [online]. 2007, 85(5), 1185-1196 [cit. 2019-11-16]. DOI: 10.1093/ajcn/85.5.1185. ISSN 0002-9165. Dostupné z: <https://academic.oup.com/ajcn/article/85/5/1185/4633007>

[24] Galanakis, Charis M. (2019). Innovations in Traditional Foods- 9.3 Origin of amines in the wine. (pp.226). Elviesier. Dostupné z: <https://app.knoel.com/hotlink/pdf/id:kt0122DUQ1/innovations-in-traditional/origin-amines-in-wine>

[25] Cammack, R. Attwood, T. K. Campbell, P. N. Parish, J. H. Smith, A. D. Stirling, J. L. Vella, F. (2006). Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology (2nd Edition) (pp. 611,627,681,684). Oxford University Press. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt008ODG13/oxford-dictionary-biochemistry/schlesinger-test>

[26] International Food Information Service. (2009). Dictionary of Food Science and Technology (2nd Edition) (pp. 351,383,398,436). International Food Information Service (IFIS Publishing). Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt006QFDS1/dictionary-food-science/>

[27] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Phenethylamine, CID=1001, Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/phenethylamine> (cit.2020-01-29)

[28] National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Cadaverine, CID=273, Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cadaverine> (cit.2020-01-29)

[29] LINARES, Daniel M., Beatriz DEL RÍO, Victor LADERO, Noelia MARTÍNEZ, María FERNÁNDEZ, María Cruz MARTÍN a Miguel A. ÁLVAREZ. Factors Influencing Biogenic Amines Accumulation in Dairy Products. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2012, 3 [cit. 2020-02-05]. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00180. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2012.00180/abstract>

[30] McSweeney, Paul L. H. Fox, Patrick F. Cotter, Paul D. Everett, David W.. (2017). Cheese - Chemistry, Physics & Microbiology (4th Edition) - 40.5.1 Starter Cultures. (pp. 1055). Elsevier. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00CX9PV2/cheese-chemistry-physics/cheese-mic-starter-cultures>

[31] Chandan, Ramesh C. Kilara, Arun Shah, Nagendra P.. (2016). Dairy Processing and Quality Assurance (2nd Edition) - 5.8.3 Rapid Methods and Microbiological Testing Advances. (pp. 139). John Wiley & Sons. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011NBNL4/dairy-processing-quality/rapid-methods-microbiological>

[32] Weimer, Bart C.. (2007). Improving the Flavour of Cheese - 4.3 Proteolysis in Cheese.(pp. 72). Woodhead Publishing. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt005FUSXC/improving-flavour-cheese/proteolysis-in-cheese>

[33] Weimer, Bart C.. (2007). Improving the Flavour of Cheese - 12.5.2 Soft Ripened Varieties with Minimum pH < 5.0. (pp. 264). Woodhead Publishing. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt005FUX84/improving-flavour-cheese/soft-ripened-varieties>

[34] ČESKO. fragment #f5960775 vyhlášky č.397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. In: Zákony pro lidi.cz [online]. © AION CS 2010-2020 [cit.23.4.2020]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-397#f5960775>

[35] Skibsted, Leif H. Risbo, Jens Andersen, Morgens L. (2010). Chemical Deterioration and Physical Instability of Food and Beverages- 24.6.3 Case Study: Textural Changes in

Semi- Hard Cheese during Maturation. (pp.743) Woodhead Publishing. Dostupné z:  
<https://app.knovel.com/hotling/pdf/id:kt008HRKI1/chemical-deterioration/case>

## SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BA biogenní aminy

MO mikroorganismy

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr.1: Dopamin.....	26
Obr.2: Noradrenalin.....	26
Obr.3: Adrenalin.....	27
Obr.4: Histamin.....	28
Obr.5: Tryptamin.....	28
Obr.6: Tyramin.....	28
Obr.7: 2-fenylethylamin.....	29
Obr.8: Serotonin.....	29
Obr.9: Kadeverin.....	29
Obr.10: Putrescin.....	30
Obr.11: Spermin.....	30
Obr.12: Spermidin.....	30
Obr.13: Laboratorní přístroj pro odstředění mléka.....	38
Obr.14: Změna pH u vzorků sýra ve stanovených týdnech.....	42
Obr.15: Změna tuku v sušině u vzorků sýra ve stanovených týdnech.....	43
Obr.16: Změna sušiny u vzorků sýra ve stanovených týdnech.....	44
Obr.17: Změna obsahu soli u vzorků sýra ve stanovených týdnech.....	45
Obr.18: Texturní profilová analýza u vzorků sýra v stanovených týdnech.....	46

**SEZNAM TABULEK**

Tab.1: Průběh lisování č.1.....	39
Tab.2: Průběh lisování č.2.....	3



