

Možnosti biologické konzervace

Viktorie Pavlátová

Bakalářská práce
2009



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav potravinářského inženýrství

akademický rok: 2008/2009

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Viktorie PAVLÁTOVÁ**

Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**

Téma práce: **Možnosti biologické konzervace**

Zásady pro vypracování:

- Uvedte základní aspekty konzervace.
- Popište teorii fermentace a podmínky průběhu biologické konzervace.
- Zmiňte základní potraviny konzervované biologickou cestou.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] KYZLINK, V. **Základy konzervace potravin, Praha 1980.**

[2] DRDÁK, M. **Základy potravinářských technologií, Bratislava 1996.**

[3] INGR, I. **Základy konzervace potravin, Brno 1999.**

[4] VODRÁŽKA, Z. **Základy biochemie 3, Praha 1993.**

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Otakar Rop, Ph.D.

Ústav potravinářského inženýrství

Datum zadání bakalářské práce:

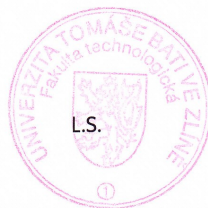
10. února 2009


Termín odevzdání bakalářské práce:

31. května 2009

Ve Zlíně dne 31. května 2009


doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan




prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
vedoucí katedry

ABSTRAKT

Abstrakt česky

Dále jsou zmíněny i ostatní aspekty, které rozhodují o údržnosti potravin, jako např. enzymatická činnost. Uvedeny jsou i konkrétní příklady konzervace vybraných rostlinných surovin.

Klíčová slova:

konzervace, fermentace, mikroorganismy, enzymy, kvašená zelenina

ABSTRACT

Abstrakt ve světovém jazyce

This work is focused with problem of usage microorganisms in preserving industry. More over there are mentioned other aspects which decides about durability of food for example enzymatic action. Concrete types of preservation of chosen vegetable materials are presented.

Keywords:

preservation, fermentation, microorganisms, enzymes, ferment vegetable

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu bakalářské práce Ing. Otakaru Ropovi Ph.D. za jeho odborné vedení, cenné rady a trpělivost při konzultacích. Dále patří mé poděkování rodině za jejich všestrannou pomoc při studiu.

Prohlašuji, že jsem na bakalářské/diplomové práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem citoval(a). V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uveden(a) jako spoluautor(ka).

Ve Zlíně

.....

Podpis studenta

OBSAH

ÚVOD	7
1)TEORETICKÁ ČÁST	8
1KONZERVACE POTRAVIN	9
1.1ÚDRŽNÉ A NEÚDRŽNÉ POTRAVINY.....	9
1.2ZMĚNY NEÚDRŽNÝCH POTRAVIN.....	10
1.2.1Mechanické změny neúdržných potravin.....	10
1.2.2Biochemické změny neúdržných potravin.....	11
1.3PŮVODCI BIOCHEMICKÝCH ZMĚN.....	11
1.3.1Nemikrobní biochemické změny.....	11
1.3.2Mikrobní rozklad potravin.....	16
1.4KONZERVAČNÍ METODY.....	21
1.4.1Rozdělení konzervačních metod.....	23
2BIOLOGICKÁ KONZERVACE	26
2.1MLÉČNÉ KVAŠENÍ.....	28
2.1.1Mechanismus mléčného kvašení.....	28
2.1.2Průběh mléčného kvašení.....	30
2.2ETANOLOVÉ (LIHOVÉ) KVAŠENÍ.....	32
2.2.1Mechanismus etanolového kvašení.....	33
2.3OCTOVÉ KVAŠENÍ.....	34
2.4MÁSELNÉ KVAŠENÍ.....	34
2.5MIKROORGANISMY.....	35
2.5.1Mikroorganismy s fermentačním metabolismem.....	35
2.5.2Skupiny mikroorganismů důležité z potravinářského hlediska.....	36
2.5.3Bakterie mléčného kvašení.....	36
2.6ENZYMY.....	43
2.6.1Rozdělení enzymů.....	43
2.6.2Enzymy uplatňující se v biologických oxidacích.....	45
3VYBRANÉ KONZERVÁRENSKÉ SUROVINY	50
3.1KVAŠENÉ ZELÍ.....	50
3.2KVAŠENÉ OKURKY.....	54
3.3HOUBY.....	55
3.4DALŠÍ KVAŠENÁ ZELENINA.....	56
ZÁVĚR	57
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	58
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	62
SEZNAM OBRÁZKŮ	63
SEZNAM TABULEK	64

ÚVOD

Vývoj potravinářství, zejména konzervace, je bezprostředně spojená se zabezpečením potravy jako základního prostředku pro fyzickou a duševní práci. Zabezpečování potravy v první etapě vývoje lidské společnosti byla hlavní činnost na zachování existence lidského rodu. S dělbou práce vzniká potřeba uschovávat potraviny a prodlužovat jejich použitelnost. Nejstaršími způsoby konzervace potravin jsou sušení, uzení, zahušťování. Postupně se začaly uplatňovat i kvasné procesy. Samovolné mléčné kvašení pomáhalo při zachování některých druhů zeleniny, především kapusty. Vznik konzervářského průmyslu se datuje již od dob napoleonských válek. V současnosti se na historii konzervačních metod uvádějí tři jména, a to Denis Papin, Nicolas Appert a Louis Pasteur. Papin vyvinul tlakový hrnec, aby se mohly potraviny uvařit v co nejkratším čase a co nejlevněji. Pařížský kuchař Appert začal jako první uchovávat potraviny v hermeticky uzavřených nádobách pro termosterilizaci. Vytvořil předpoklad na vznik nového potravinářského odvětví. Na skutečné příčiny kažení potravin přišel za dalších 50 let Louis Pasteur, který je považován za zakladatele vědeckých konzervačních metod. Dokázal, že okem neviditelné mikroorganismy jsou s viditelnými houbami a plísněmi příčinou rozkladu organické hmoty.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KONZERVACE POTRAVIN

Konzervací je každý úmyslný zákrok, popřípadě úprava potravin, prodlužující skladovatelnost (údržnost) suroviny a potraviny déle než dovoluje přirozená údržnost. Konzervací potravin jsou upravovány a zpracovávány zemědělské produkty na potraviny především tak, aby nepodlehly rozkladným procesům. Současně je třeba respektovat i další významná hlediska, především maximální možnou šetrnost vůči sensorickým vlastnostem a nutričním složkám potravin. Moderní konzervační postupy se snaží co nejvíce respektovat zachování typických smyslových vlastností potravin i jejich nutričně významných složek. [1]

Nejoptimálnější je samozřejmě konzumace potravin pokud možno v čerstvém stavu, kdy jakost a biologická hodnota nejvíce odpovídají potřebám člověka. Cílem konzervace není však jen prodloužení trvanlivosti, ale rovněž zachování hygienické a zdravotní nezávadnosti potravin. Potraviny jsou v častých případech příčinou alimentárních onemocnění, které mohou vyvolat u lidí závažná onemocnění epidemického charakteru, končící v řadě případů až smrtí. Výrobce potravin je povinen zajistit zdravotní nezávadnost potravin. Zdravotní nezávadnost je determinována především mikrobiologickou jakostí a dodržením požadavků na obsah chemických látek. [2] Mikrobiologické požadavky jsou vymezeny vyhláškou Ministerstva zemědělství ČR č. 132/2004 Sb. [3] Ve vyhlášce je uvedena skupina zdraví škodlivých mikrobů a povolené limity jejich přítomnosti v potravinách, rovněž povolené obsahy mykotoxinů (produkovaných mikroby) přítomných v potravinách. Onemocnění mohou způsobit i nežádoucí obsahy chemických látek, které se do potraviny mohou dostat v průběhu konzervačního procesu (konzervační látky, těžké kovy, přídatné látky aj). Jejich povolená množství stanovují vyhlášky Ministerstva zdravotnictví. [4]

1.1 Údržné a neúdržné potraviny

Výraz konzervace se většinou vztahuje na metody vedoucí k možnostem dlouhodobé úchovy potravin (např. termosterilace, zmrazování aj.). V řadě případů se spokojujeme se zákroky, které vedou jen k potřebnému krátkodobému prodloužení uchovatelnosti potravin (např. pasterace mléka). Jelikož se většina druhů potravin řadí svými vlastnostmi mezi potraviny neúdržné, tedy snadno podléhající zkáze, je aplikace metod pro jejich uchování (konzervaci) naprosto nezbytná. [1] Mluvíme-li o neúdržných potravinách máme většinou na mysli potraviny, které se rychle kazí, tedy dochází u nich k rychlému rozkladu hlavních živin,

sníží se podstatně jejich biologická hodnota, takže jejich senzorká a výživová hodnota je narušena a v krajním případě jsou pro spotřebitele bezcenné. [2] Příčiny kažení neúdržných potravin jsou různé, nejčastější jsou vlivy a následky mikrobiálního působení a oxidačních změn potravin. Velmi záleží na druhu potravin, na jejím látkovém složení a na jejích vlastnostech. [1]

1.2 Změny neúdržných potravin

Předmětem zájmu konzervářského průmyslu jsou neúdržné potraviny, charakteristické především vysokým obsahem vody, které lze bez cílených konzervačních opatření udržet v požitelném stavu jen krátkou, mnohdy nepostačující dobu. Jsou to např. ovoce, zelenina, vejce, mléko, maso teplokrevných zvířat, ryb a mnohé výrobky z těchto surovin. Nicméně hlavními konzervářskými surovinami se u nás myslí ovoce, zelenina, maso a houby. Změny neúdržných potravin lze rozdělit na mechanické a biochemické. [5]



Obrázek 1 - Ukázka kontaminace masa

1.2.1 Mechanické změny neúdržných potravin

Jako příklad mechanické změny ovoce a zeleniny uvádím například porušení povrchu, poškození hmyzem, požerky hlodavců, pádem ovocného plodu ze stromu, nešetrným zacházením při sklizni (brambory), dopravě, skladování apod. Živočišné produkty podléhají mechanickým změnám po poranění, ale hlavně po jejich jatečném zpracování. U konzumních vajec dochází často k mechanickému porušení celistvosti skořápky. Mechanické změny jsou především podnětem pro vznik a rychlý průběh nežádoucích biochemických změn, které mohou končit až úplnou zkázou potravin. [5]

1.2.2 Biochemické změny neúdržných potravin

Biochemické změny neúdržných potravin mohou mít příčinu v působení nemikrobních činitelů vnitřních či vnějších nebo v působení mikroorganismů. [5] Dochází k přeměně látek a k zásadnímu přerušení normálního sledu enzymových reakcí, které charakterizují smrt tkáně, spojenou často s nežádoucími změnami vlastností. [6]

U rostlinných a živočišných tkání je výrazný rozdíl v biochemických vlastnostech. Pro rostlinné organismy je typický biochemický vývoj, který lze vyjádřit jako období vyspívání plodů, jejich zrání a případně až jejich přezrávání. V uvedených obdobích se dynamicky mění, tzn. respirační pochody, tedy relace mezi příjmem kyslíku a výdejem oxidu uhličitého. [5]

V živočišných tkáních (ve svalovině jatečných zvířat) představuje porušení původní dynamické rovnováhy radikální změnu okamžikem usmrcení jatečného zvířete, kdy dochází k přerušení krevního oběhu (zastavení příjmu kyslíku), a tím k okamžitému potlačení aerobní fáze dýchání. Následuje anaerobní přeměna glykogenu na kyselinu mléčnou, okyselení masa. [1] Toto okyselení je důležitým činitelem zvyšujícím údržnost. [5]

1.3 Původci biochemických změn

Z hlediska konzervace nás však bezprostředně zajímají ty biochemické změny, které probíhají v potravinách, kde již biochemické děje nemají svůj původní charakter. [6] Podle toho zda při nežádoucích změnách potravin převládají vnitřní či vnější nemikrobní činitelé nebo mikroorganismy, má zhoršení jakosti potravin různý charakter i rozsah. [1]

1.3.1 Nemikrobní biochemické změny

Mohou mít projevy pro spotřebitele nepozorovatelné (latentní) nebo naopak zcela zřetelné. Skryté změny nejsou postřehnutelné lidskými smysly, ale jen laboratorním měřením. Jedná se např. o ztráty některých nutričních složek potravin (ztráty cukrů a vitamínů, přeměny dusíkatých látek). Senzoricky pozorovatelné nežádoucí změny potravin znamenají často závažná zhoršení jakosti potravin v očích spotřebitele – změny zbarvení, chuti a vůně, konzistence aj. [1]



Obrázek 2 - Ukázka barevných změn ovoce

1) Původci nemikrobních změn

Jakost potravin je rovněž negativně ovlivněna celou řadou fyzikálně chemických faktorů, mezi něž patří vliv kyslíku, těžkých kovů, teplota, světlo, chemické látky vzniklé v důsledku rozkladu hlavních živin, kontaminanty, kyselost (pH), vodní aktivita (a_w) aj. [2]

● Kyslík

Jeho přítomnost je považována za pozitivní v případech fyziologického dozrávání ovoce, zeleniny, obilí, průběhu fermentace kakaových a kávových bobů aj. Na druhé straně způsobuje kyslík a jeho reaktivní formy oxidační žluknutí tuků a olejů, oxidační procesy alkoholů, polyfenolických látek ve víně, konzervářských výrobcích, oxidativní změny masa, což je příčinou vzniku závažných sensorických vad. [2]

● Kovy

Má-li se projevit změna, jde o tak značná množství kovů, že se musela do zpracovávaných potravin dostat buď ze zbytků postřikových preparátů ochrany rostlin, z vody, z málo vhodného kovového nářadí, s nímž přichází potravina do styku. Nejdůležitější kovy jsou cín, měď, železo, hliník, vápník. Zdrojem železa a cínu jsou špatně odvodňené konzervy, vápník je přirozenou minerální složkou pitné vody a všech konzervářských surovin. [6]

● Kyselost

Vyšší kyselost potravin prodlužuje obecně údržnost potravin. Kyselost je charakterizována u většiny potravin jako hodnota pH. (záporný dekadický logaritmus koncentrace vodíkových iontů). [2] Kyselost potravin souvisí s množstvím kyselin, respektive oxoniových iontů. Jako nositelé kyselé chuti mají v potravinách hlavní význam nedisociované formy organických

kyselin, především citronové a jablečné. Často se vyskytuje např. i kyselina L-askorbová u většiny druhů ovoce, kyselina vinná u hroznů, isocitronová u ostružin, šťavelová u reveně, mléčná u některých mléčných výrobků, např. jogurtů, mléčně kysaných okurek, zelí a oliv, octová u konzervářských zeleninových výrobků, propionová u sýrů typu Ementál. [7]

Tabulka 1 - Hodnoty pH vybraných druhů ovoce a zeleniny [8]

	pH		pH
Česnek	5,9	Broskev	3,7
Cibule	5,9	Brusinky	0,33
Fazole zelená	5,9	Borůvky	3,1
Fazole žlutá	5,4	Angrešt	3,1
Hrášek zelený	6,3	Hrozno	3,42
Kapusta bílá	5,5	Hrušky	3,6
Kapusta červená	5,2	Jablka	3,2
Meloun	5,4	Lesní jahody	3,2
Mrkev	5,0	Zahradní jahody	3,6
Petržel	5,3	Maliny	3,3
Rajčata	4,2	Mirabelky	3,4
Rebarbora	3,2	Rybíz červený	3,1
Hlávkový salát	5,9	Rybíz černý	3,2
Špenát	5,9	Rynglůty	3,1
Okurky	5,4	Višně	3,2

Proces okyselení je žádoucí a nutný u celé řady potravinářských výrobků pro zvýšení jejich údržnosti a odpovídající sensorické jakosti např. přechodné okyselení masa kyselinou mléčnou vzniklou rozkladem glykogenu jako důsledek postmortálních změn, přítomnost kyseliny vinné ve víně aj. Zvýšení kyselosti s cílem prodloužení trvanlivosti je součástí technologického procesu např. u fermentovaných masných výrobků, kysaných mléčných výrobků, tvarohů, sýrů, kysaného zelí apod. Podstatné zvýšení kyselosti může mít i nežádoucí

účinky jako zvýšení kyselosti během skladování mouky, překysání těsta, zkvašení konzumního mléka, rozklad tuků, což má za následek okyselení olejů a tuků apod. [2]

- **Teplota**

Je jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících rychlost rozmnožování a existenci buňky. Teplota může mikroorganismy stimulovat nebo inhibovat jejich růst, měnit metabolismus s morfologií buněk. Vysoké teploty mají potom sterilizační efekt. U každého mikroorganismu rozlišujeme tři základní teploty:

- 1) Minimální teplota – nejnižší teplota, při níž se daný druh rozmnožuje ještě zjizitelnou rychlostí.
- 2) Optimální teplota – teplota, při níž se rozmnožuje mikroorganismus maximální rychlostí.
- 3) Maximální teplota – teplota, při které je ještě schopen se rozmnožovat.

Chceme-li zabránit rozvoji nežádoucích mikrobů, musíme volit teploty, které jsou mimo jejich životní optimum, to jsou teploty velmi nízké nebo naopak teploty nad 70 °C, při nichž dochází k inaktivaci mikrobů a současně i jimi produkovaných enzymů.

Podle vztahu k teplotě jsou mikroorganismy:

- 1) Psychofilní – optimální teplota pod 20 °C.
- 2) Mezofilní – optimální teplota pod 20 – 40 °C.
- 3) Termofilní – optimální teplota pod 45 °C. [2,9]

- **Světlo**

Viditelné světlo (380–760 nm) využívají především plísně jako zdroj energie. Většina bakterií roste nejraději ve tmě. Světlo indukuje tvorbu některých pigmentů, především karotenoidů. [9]

- **Vodní aktivita**

Je považována za rozhodující faktor ovlivňující údržnost potravin. [2] Plísně se většinou rozmnožují za nižší vodní aktivity oproti většině bakterií a kvasinek. Výjimkou jsou, jen tzn. vodní plísně. Snížení vodní aktivity v prostředí a tím i zabránění činnosti mikroorganismů lze dvěma způsoby. Odstraněním vody sušením nebo odpařením se zvýšením koncentrace

rozpuštěných látek v prostředí přidavkem vhodných chemikálií. V potravinách se nejčastěji používá sacharóza nebo chlorid sodný. [9]

- **Chemické látky vzniklé rozkladem živin**

Bílkoviny podléhají při mikrobiální kontaminaci proteolytickou mikroflórou hluboké proteolýze až na aminokyseliny, které dále podléhají rozkladu za vzniku degradačních produktů aminokyselin a plynů (CO_2 , H_2S , NH_3). Degradací produkty spolu s plyny jsou sensoricky nepřijatelné, vyvolávají u konzervovaných potravin v hermeticky uzavřených obalech jejich deformování, bombáže. Rozklad aminokyselin je označován jako hnití. Vzniklé produkty kvašení, kyselina mléčná a další organické kyseliny při enzymatickém rozkladu cukrů (především laktosy), také můžou vyvolat kažení potravin, pokud toto mléčné kvašení není součástí technologického postupu. [5]

- **Další chemické látky**

Zřetelné změny potravin způsobují také rozličná chemická činidla. Např. sůl, cukr, kyseliny mění chuť, často ovlivňují barvu, aroma. Některá chemická konzervovadla působí rovněž nepříznivě. Benzoová kyselina dodává nepříjemnou chuť, mravenčí „zostřuje chuť“, oxid siřičitý velmi nepříjemně páchne. Dusičnany, jimiž je obohacena některá nadměrně hnojená zelenina, mohou reagovat při konzervaci v cínových plechovkách jako škodlivé depolarizátory, mohou vést k produkci škodlivých karcinogenních nitrosaminů. V potravinách vznikají jen nepatrná množství. [5]

2) Ochrana potravin před nemikrobními změnami

Škodlivým účinkům kyslíku se i moderní konzervační technologie brání poměrně obtížně. Účinkům kyslíku je možno čelit balením, především neprodyšnými obaly, např. plechovkami, sklenicemi, víčky, zátkami, kovovými fóliemi apod. Určité impregnace obalového papíru nebo zbarvení skla lahví na tmavě hnědou či černou barvu brání prostupu světelných paprsků, které obzvlášť podporují oxidace aktivováním kyslíku. Z obalů se vzduch vytěsňuje tak, že se plní vrchovatě od vzdušněnou potravinou a mezery mezi pevnými částicemi se vyplňují kapalinou, např. nálevem z kompotů a zeleniny určeným k termosterilizaci a mražení. Další zbytek vzduchu je odstraňován inertními plyny (dusík, oxid uhličitý, oxid dusný). [6] Ovšem obaly nejsou vždy vzduchotěsné a při uzavírání v nich zpravidla ještě vzduch zůstává. Proto se některé potraviny inaktivují předehřátím, zahřátím, sterilací. Přídavek antioxidantu, látky, která může oxidační děje zpomalovat či potlačovat, může být např. kyselina L-askorbová pro

choulostivé látkové systémy ovoce. Velmi důležitými, přirozenými antioxidanty v ovoci jsou tokoferoly, některá flavonová barviva, která vážou kovové katalyzátory škodlivých reakcí. [5] Dále pektiny jsou vysokomolekulární látky, již při malých koncentracích zvyšují viskozitu, čímž brání pronikání kyslíku. Sůl v tučných potravinách brzdí aktivitu lipas (enzym pro rozklad tuků), ale jinak působí zejména na povrchu potravin, protioxidačně. [6] Jindy se do konzervačních obalů přidávají koncentráty enzymů, které způsobí rychlou vazbu kyslíku na zdraví nezávadné sloučeniny (např. glukosaoxidasu váže kyslík na glukosu). Ochrana před kovy použitím ocelovým nožů místo železných, často se osvědčuje i postříbená měď (nejde-li o uchování kyseliny L-askorbové). [1]

1.3.2 Mikrobiální rozklad potravin

Způsobují jej různé druhy mikroorganismů a je nejzávažnější formou nežádoucích změn neúdržných potravin. Mikrobiální rozklad potravin je provázen změnami sensorických vlastností vedoucích velmi rychle k nepřijatelnosti a tedy nepoživatelnosti potraviny, k podstatným ztrátám živin a může vyústit až ke zdravotní závadnosti potravin pomnožením patogenních mikroorganismů nebo obsahem toxických látek vytvořených mikroorganismy. [1] Změny bývají obvykle shrnovány pod označení rozklad, nebo kažení potravin, mohou být způsobovány nejrůznějšími mikroorganismy, resp. enzymy, které tyto mikroorganismy produkují. Jde přitom buď o bakterie, nebo organismy patřící mezi houby tedy kvasinky a plísně. Každá z těchto skupin vyžaduje od prostředí, ve kterém má žít trochu jiné podmínky, zejména pokud se to týká teploty, osmotického tlaku, přítomnosti kyslíku, kyselosti, obsahu živin aj. Plísní a kvasinek se nemusíme obávat v prostředí zbaveném kyslíku. Protože úkolem konzervace není zničení zdravotně závadného materiálu, nýbrž jen prodloužení trvanlivosti, mohou pak být zvláště nebezpečnými škůdci lidského zdraví choroboplodné bakterie a choroboplodné viry. Suroviny musí být tedy v okamžiku konzervačního zákroku stejně nezávadné jako potraviny určené k přímému požívání. [5]

1) Původci nemikrobiálních změn

Mikroorganismy enzymaticky rozkládají a přeměňují organickou hmotu úplně nebo na látky energeticky chudší, z nichž některé použijí a některé uvolňují do prostředí. Obtíže i prospěch přináší při konzervaci neúdržných potravin poměrně značná přizpůsobivost mikrobů. Obtíže se objevují tehdy, když mikroby přivyknou protimikrobiálním zákrokům a začnou je snášet, aniž by je to nějak negativně postihlo. Nejspolehlivější jsou tedy konzervační metody, kterými se

mohou mikroby nejméně snadno přizpůsobit (zasáhnutím jejich životně důležitých funkcí). Saprophytičtí i parazitičtí původci mikrobiálních změn potravin se řadí do říše *Procarvotae* (bakterie), do rostlinné říše mezi *Protophyta* (*Sporophyta*) čili výtrusné rostliny a mezi *Fungi* čili houby (kvasinky, plísně). [6]

Bakterie zahrnují velmi rozsáhlý počet rodů a druhů. Z hlediska konzervace potravin jsou mezi mnoha jinými důležité zejména rody *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*. [1] Velice významným znakem některých bakterií (bacilů nebo klostridií) je schopnost vytvářet odolná stadia, zvaná spory. [6]

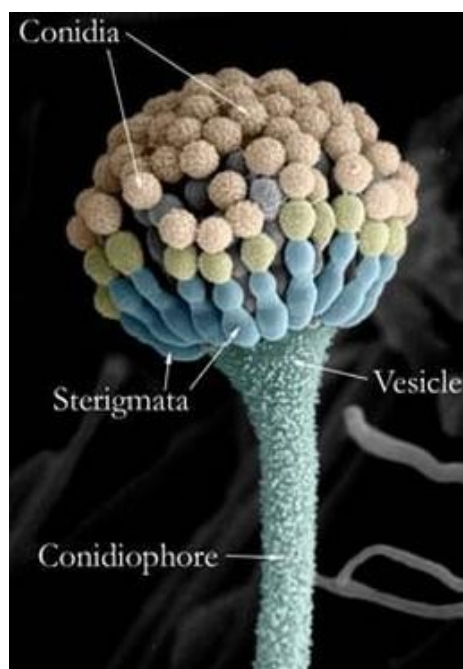


Obrázek 3 - Spory rodu *Clostridium*

Spory umožňují bakteriím přežít nepříznivé životní podmínky, jako jsou vysoký var, zvýšená odolnost k chemikáliím, rezistence k ultrafialovému záření, k hladovění, vysychání a jiným nepříznivým podmínkám, které jsou výsledkem prakticky nulové metabolické aktivity spory vlivem nízkého obsahu vody, menšího enzymového vybavení a nízké aktivity přítomných enzymů. [9] Spory se jeví jako obtížně barvitelná tělíska uvnitř buňky, obsahují hmotu, v níž je voda vázána konstitučně, takže jsou fyziologicky suché a odolné. Koky většinou nesporulují. Bakterie dělíme na grampozitivní a gramnegativní. [6]

Plísně patří z hlediska botanického do skupiny pravých hub stejně jako kvasinky, ale z technologického hlediska jsou v potravinářství zachovány pojmy a členění na plísně a kvasinky. [1] Každá z obou skupin má dosti odlišné nároky na vegetační podmínky a reaguje odlišně na konzervační zákroky. Jejich společným znakem jsou nepatrné až značné nároky na kyslík, malá odolnost spor k vysokým záhřevům (neschopnost tvořit termorezistentní endospory). Teploty jejich optimálního růstu jsou v nižších teplotách a ve srovnání s

bakteriemi i v užším teplotním pásmu vegetačních možností. [6] Plísně preferují prostředí s převahou sacharidů a s oblastí pH 3 až 6. Potravinářsky významné jsou plísně náležející do tříd *Zygomycetes*, *Ascomycetes*, *Deuteromycetes*. Některé plísně vytvářejí velmi toxické zplodiny (mykotoxiny).



Obrázek 4 - *Aspergillus sp.* – významný producent mykotoxinů

Kvasinky jsou jednobuněčné organismy a patří do tříd *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* nebo *Deuteromycetes*. Kvasinky vyžadují kyselé prostředí a alespoň minimum kyslíku. Jsou náročné na zdroje energie (cukr, jehož druh si často vybírají), potřebují i amoniakální dusík, aminokyseliny, některé vitaminy a minerální látky. [1]

2) Formy mikrobiálního kažení

Při mikrobiálních rozkladných procesech dochází téměř vždy ke tvorbě zapáchajících, nepříjemně chutnajících a i zdraví škodlivých látek, které činí potraviny nepoživatelnou. Bránění mikrobiálním změnám je proto nejvýznamnějším úsekem jejich konzervace. Navenek se projevují převládající procesy např. těmito formami. [1]

• Povrchové změny potravin

Do této skupiny patří plesnivění, houbové (plísněvé) hniloby a barevné povrchové změny potravin. Jako plesnivění se označuje prorůstání povrchu potravin koloniemi plísní. Hlavními původci jsou příslušníci rodu *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*. [10] Projevy plesnivění

nebývají příliš žřetelné, závažnost se příkládá toxickým látkám produkovaným plísněmi. [1] Houbové, bakteriální a plísňové choroby se projevují u skladovaných plodin, většinou po jejich poranění ještě před sklizní. Mohou být napadeny nejčastěji rody *Botrytis*, *Rhizopus*. Projevy jsou zelená, černá nebo šedá hniloba ovoce, brambor, rajčat, cibule. Z barevných bakteriálních změn jsou nejznámější nepřirozeně červené skvrny na nekyselých potravinách způsobené bakteriemi *Serratia*. Žluté skvrny na potravinách vyvolává *Micrococcus luteus*, modré skvrny na mase *Pseudomonas synchyaneae*. [10]



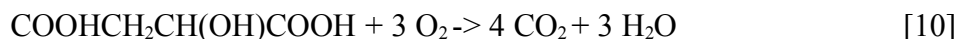
Obrázek 5 - *Penicillium expansum* na nektarince

- **Křísovité povlaky**

Na povrchu alkoholických nebo mírně kyselých tekutin jsou tvořeny aerobními askosporogenními kvasinkami. [6] Za přístupu vzduchu tvoří tyto kvasinky na povrchu vína s nízkým obsahem alkoholu a při skladování v neplných nádobách souvislou vrstvu, snadno se rozpadající na šedobílé vločky. Původcem jsou kvasinky rodu *Candida*, *Pichia* a *Hansenula*, které oxidují etanol na vodu a oxid uhličitý a tvoří těkavé kyseliny a aldehydy. Vína s obsahem alkoholu přes 12,5 % objemových nekřisovají. Nejvýznamnějším opatřením proti této chorobě je držet nádoby s vínem zcela plné, popřípadě prázdný prostor v nádobě zasytit. [11]

- **Odkyselování hmot**

Organické kyseliny v různém ovoci se mohou působením mikroorganismů štěpit a tím zmenšují kyselost substrátu. Pochody probíhají v aerobních i anaerobních podmínkách. K aerobnímu odkyselování dochází u jablečné kyseliny podle schématu:



Při anaerobním odkyselování vznikají z různých ovocných kyselin jiné kyseliny, méně okyselující, popř. etanol a voda. U jablečné kyseliny dochází ke vzniku kyseliny mléčné a CO_2 podle rovnice:



Biologické odkyselování je významné především u vína, kdy může docházet k vláčkovatění, hořknutí a ke vzniku myšního zápachu vína. [10]

Vláčkovatění vína je způsobeno bakterií *Bacillus viscosus mini*. Ve vínech s nízkým obsahem kyselin a vyšším zbytkem cukru se může přemnožit do škodlivého počtu. To lze poznat podle vysoké viskozity vína a řetízkového zákalu. „Vláčkovité“ víno se napraví silným provzdušněním při stáčení, přetočením do silně zasyřeného sudu a překvašením zdravými kvasnicemi.

Pachut' po myšíně patří k nejnepříjemnějším chorobám vína. Prevence je založena na dostatečném síření moštu a mladého vína, kvašení při nižších teplotách a včasném stažení mladého vína z kvasnic do zasyřeného sudu. Nemoc je častá v jižních vinařských oblastech nebo obecně u vín skladovaných v teple. Příčinou jsou bakterie manitového kvašení, které rozkládají cukr na kyselinu mléčnou a alkoholický cukr manit a CO_2 . Pachut' lze zmírnit čířením mlékem, kaseinem nebo aktivním uhlím. [11]

- **Plynuprosté kysnutí konzerv**

Nastává u nedokonale sterilovaných zeleninových konzerv, nejčastěji hrášku a nedochází při něm k bombážím. [6] Vyvolávají jej termofilní bakterie, nejčastěji *Bacillus stearothermophilus*, který má velmi odolné spory vůči teplotám. U napadených konzerv se mění chuť, vůně a klesá pH (na 4,2 až 4,5). Nebezpečí tohoto procesu hrozí tehdy, nebyly-li konzervy po nedostatečné sterilaci rychle a dokonale vychlazeny. [10]

- **Hnití a tlení**

Hnilobné bakterie, nejčastěji rodu *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium* vyžadují vždy prostředí s dostatkem bílkovin, vyšší vegetační teploty a nekyselé prostředí. Hnití masa nastupuje po fázi zrání masa, kdy se pH přesouvá k neutrální oblasti. Nejdříve dochází k osliznutí, dále k povrchové a hloubkové hnilobě. Zvláštní formou je zapaření a hnití masa od kosti. Hnití je v potravinářství složitý, většinou tedy anaerobní rozklad. Projevuje se zápachem, barevnými změnami, měknutím, vznikem plynů apod. Při hnití může docházet ke

vzniku toxických diaminů. Velmi nebezpečný mikroorganismus, který produkuje specifické toxiny bez obvyklých příznaků hniloby a vyvolává prudké otravy nebo střevní onemocnění je *Clostridium botulinum*. Hniloba se začíná projevovat osliznutím, může jí předcházet i plesnivění. [10]

1.4 Konzervační metody

Metody umožňují ochranu proti rozkladné činnosti. Intenzita rozkladných procesů je přímo závislá na virulenci a počtu mikroorganismů a nepřímo závislá na odolnosti prostředí. Schematicky je tento vztah vyjádřen takto:

$$R \text{ (rozklad)} = \frac{\text{virulence} \cdot \text{počet mikroorganismů}}{\text{odolnost prostředí}} \quad [1]$$

Je-li hodnota činitele uvedeného ve jmenovateli (odolnost prostředí) nepoměrně vyšší než hodnota součinu činitelů (počet mikroorganismů a virulence) uvedených v čitateli, může být rozklad pomalý, popřípadě k němu prakticky vůbec nedojde. Zlomek současně naznačuje, že ne všechny mikroby, které kontaminují potraviny, mají možnost se v nich pomnožit a způsobit rozklad. Odolnost prostředí je charakterizována zejména složením, fyzikálně-chemickými vlastnostmi, vodní aktivitou (a_w), pH, přítomností antimikrobiálních látek v potravinách a též vlastnostmi zevního prostředí, kterým je potravina vystavena.

Konzervační metody působí v praxi tak, že zmenšují nebo úplně potlačují činitele uvedené v čitateli nebo naopak zvětšují hodnotu jmenovatele. Roztřídit je můžeme takto:

- 1) Vylučování mikroorganismů z prostředí zahrnuje veškerá preventivní opatření, která se snaží o snížení počtu mikroorganismů ve zpracovávané potravíně.
- 2) Přímá inaktivace mikroorganismů, kdy se jedná o usmrcování mikroorganismů, sterilaci potravin.
- 3) Nepřímá inaktivace mikroorganismů je taková úprava prostředí mikroorganismů, která jim brání v množení a vykonávání enzymatických funkcí. [1]

Dělení protimikrobních stavů podle přirozených principů:

- 1) Na principu eubiosy, kdy živý a zdravý organismus, ať jde o užitkové zvíře nebo o neoddělené části rostliny (jablko na stromě), dovede do značné míry udržovat dynamické rovnováhy své životní činnosti a odolávat za normálních okolností jakýmkoli rozkladným mikrobům.
- 2) Na principu hemibiosy (popř. jen biózy) je založena protimikrobiální odolnost čerstvých plodin nebo částí organismů po sklizni.
- 3) Na principu anabiosy, kdy se prostředí mikrobů, tj. potravina upraví tak, aby se stalo odolným. Nezajímá nás, zda mikroorganismy hynou či nikoli, neboť jde jen o zvyšování činitele uvedeného ve jmenovateli rovnice rozkladu.
- 4) Na principu abiosy působí přímo proti mikroorganismům, které se inaktivují nebo odstraňují, popř. se snižuje jejich virulence. [6;10]

Za abiotický nebo biotický původ lze pokládat citlivost plodin na kritické podmínky (tzn. stresory). Produkty biotického stresu, vzniklé např. vlivem napadení se někdy označují jako fytoalexiny. Druhy a odrůdy citlivé na stres mohou jeho vlivem měnit své chuťové nebo vzhledové vlastnosti.

Jde např. o stresy:

- **Chladový stres.**

Nastává po překročení dolní hranice, která se pohybuje od $-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (okurky) do $-4,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (hrozny). Velmi citlivé na chlad jsou citróny, banány, okurky, paprika, rajčata, ananasy, pomeranče.

- **Anaerobní stres.**

Je kritická koncentrace kyslíku (obecně nižší než 1 až 5 %) a oxidu uhličitého (vyšší než 0 až 10 %) podle druhu a odrůdy. Vůči zvýšenému obsahu CO_2 jsou velmi citlivé např. zralé hrušky, švestky, cibule. Vysoká citlivost na nízký obsah kyslíku se projevuje zejména u pomerančů, jablek, papriky, zralých banánů, citrónů.

- **Mechanický stres.**

Způsobuje zhoršení jakosti všech plodin, kromě ořechů. Pádová výška u mechanizovaných manipulací nemá přesáhnout 0,3 metrů. [12]

1.4.1 Rozdělení konzervačních metod

1) Odstraňování mikroorganismů z prostředí.

Prevence kontaminace potravin mikroorganismy lze provádět péčí o čistotu nářadí a pracovních místností, čistotu vzduchu, čistotu vody, čistotu technického pomocného materiálu, čistotu pracovníků, čistotu surovin a přísad. Ochuzování potravin o mikroorganismy během zpracování – jedná se o procesy, které zbavují materiál nečistot. Jde o praní surovin a polotovarů, odstředování kalových látek ze šťáv odstředivkami, filtrace šťáv. Úplné vylučování mikroorganismů z potravin prozatím připadá v úvahu jedině při mikrobiální filtraci šťáv, vín. Oba tyto způsoby se snaží o maximální zbavení potravin jakýchkoliv mikroorganismů.

2) Přímá inaktivace mikroorganismů (usmrcování mikroorganismů, sterilace).

Vždy jde o konzervační princip abiosy. Protože se při sterilaci nemění odolnost prostředí vůči mikroorganismům, trvají její účinky jen do doby, než vniknou do potravin nové zárodky. V praxi se při sterilaci rozlišují zákroky fyzikální a chemické: [5;10]

Fyzikální zákroky.

Sterilace zvýšenou teplotou.

Přívodem tepla (obvyklým zahříváním).

Přívodem elektrického proudu ze sítě.

Vysokofrekvenčním ohřevem.

Ionizujícím zářením.

Sterilace ultrazvukem. [13]

Grafický symbol pro značení potravin
ozářených ionizujícím zářením



Obrázek 6 - Symbol potravin
ozářených ionizujícím zářením

Chemické zákroky (chemosterilace).

K chemosterilaci řadíme jen ty konzervační zákroky, při nichž se rozkladné formy mikroorganismů v obvyklém skladovacím čase přímo a trvale inaktivují. Provádí se sterilace kyslíkem (ozonem, peroxidem vodíku), sterilace stříbrem, sterilace chemikáliemi. [5]

3) Nepřímá inaktivace mikroorganismů.

Jde o takovou úpravu prostředí, aby se v něm mikroorganismy nemohly množit a vykonávat své enzymatické funkce. Jde o konzervaci principem anabiosy. Metody nepřímé inaktivace lze rozdělit podle povahy účinku na fyzikální, chemické a biologické.

Fyzikální zákroky, popřípadě fyzikálně chemická úprava potravin.

Odnímání vlhkosti, vysušování.

Jde o xeroanabiosu, popř. osmoanabiosu, zákroky mohou být přímé nebo nepřímé a to prosté sušení, zahušťování v odparkách, vymrazování vody ve tvaru ledových krystalů nebo její odvádění osmosou, proslazování, konzervace jedlou solí. [6]

Snižování teploty.

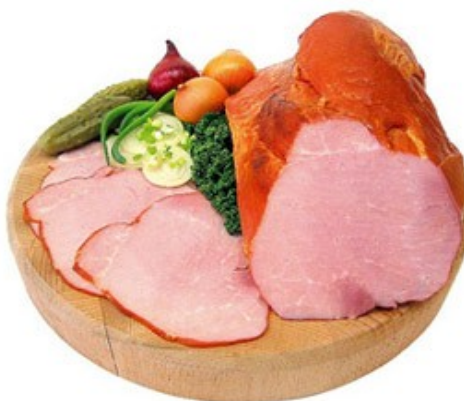
S klesající teplotou se zpomalují biochemické procesy a činnost mikrobů. Při teplotách pod 0 °C mrzne v potravinách voda, čímž dochází k vysušení prostředí. Jsou rozlišovány dva způsoby a to chlazení nad bod mrznutí (psychroanabiosa) a zmrazování hluboko pod 0 °C (kryoanabiosa).

Odnímání kyslíku.

Metody, které zde patří, jsou účinné pouze ve spojení s některým dalším přirozeným či uměle zavedeným činitelem, který zabrání činnosti anaerobů. Patří zde mechanická evakuace okolí potravin, konzervace potravin v prostředí netečných plynů (CO₂), konzervace potravin prosycením olejem. [1]

Chemické zákroky (chemoanabiosa).

Tyto metody se rozdělují hlavně podle původu a stupně účinnosti činidel. Chemická konzervace prováděná poměrně nepatrnými přísadami uměle vyrobených chemikálií, které by ve větším množství byly nepoživatelné, ale lidskému organismu neškodí. I slabé koncentrace mikroby ochromují či usmrcejí. Patří zde konzervace chemikáliemi a konzervace uzením, která záleží z větší části na chemickém účinku antiseptik kouře.



Obrázek 7 - Maso konzervované uzením

Konzervace umělou alkoholizací a okyselováním.

Metody využívají protimikrobních účinků látek, které bývají v poměrně značných koncentracích přirozenými složkami potravin a to etanolu a běžných organických kyselin.

Konzervace antibiotiky

Konzervace fytoncidy

Po relativně vysokých dávkách většiny chemických činidel se mikroorganismy usmrcují, takže lze v praxi těžko vystihnout rozdíl mezi chemoanabiosou a chemosterilací. Organické kyseliny, etanol a antibiotika jsou látkovými činiteli konzervace principem chemoanabiosy. [6]

Biologické zákroky (chemoanabiosa).

V tomto případě vznikají konzervující chemická činidla ve vhodně upraveném prostředí biologickou cestou. Jde o produkty činnosti přirozeně přítomných nebo naočkovaných mikrobů:

Konzervace kvašením sacharidů – alkoholickým kvašením, mléčným kvašením.

Přeměny za převládající účasti proteolýzy.

Jednotlivé konzervační metody se při výrobě často neúmyslně či záměrně kombinují. [10]



Obrázek 8 - Sýr vyrobený mléčným kvašením

2 BIOLOGICKÁ KONZERVACE

Biokonzervací nazýváme konzervační metodu, při které využíváme činnosti živých mikroorganismů na rozdíl od jiných metod, kde je jejich činnost nežádoucí. Mikroorganismy se vyznačují obrovskou rozmnožovací schopností, vysokou enzymatickou aktivitou nejrůznějších druhů enzymů. Těmito enzymy jsou katalyzovány nejrůznější chemické pochody, které štěpí složité látky postupně až na nejjednodušší zplodiny. Některé vzniklé produkty ve vyšších koncentracích tlumí činnost svých původců, popřípadě je usmrcují a inaktivují. Na tomto poznatku je založena konzervace níže popsány metodami. [13]

Tabulka 2 - Nejnámější typy fermentace [14]

Fermentace	Produkty	Mikroorganismy
etanolová	etanol, oxid uhličitý	kvasinky <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
mléčná	kyselina mléčná	bakterie <i>Streptococcus sp.</i> , <i>Lactobacillus delbrückii</i> a <i>Lactobacillus bulgaricus</i>
smíšená kyselinotvorná	kyselina mléčná a octová, etanol, oxid uhličitý, vodík	střevní bakterie <i>Escherichia</i> , <i>Salmonella</i>
aceton-butanolová	aceton, butanol, etanol	některá klostridia <i>C. acetobutylicum</i> , <i>C. butylicum</i>
butandiolová	butandiol, etanol, octová a mléčná kyselina, oxid uhličitý, vodík	<i>Serratia</i> , <i>Aerobacter aerogenes</i> , <i>Bacillus polymyxa</i> , <i>B. subtilis</i>
propionová	kyselina propionová	rod <i>Propionibacterium</i>
glycerolová	glycerol	rod <i>Bacillus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

Kvašení (fermentaci) a buněčné dýchání jsou katabolické procesy poskytující energii. Buněčné dýchání je proces aerobní, kvašení (fermentace) – částečné odbourávání sacharidů probíhá bez účasti kyslíku. [15]

Aby byla fermentace možná, musí být splněny tři podmínky:

- 1) Zdroj energie musí být rozložitelný na dvě molekuly, tak aby jedna byla donorem a druhá akceptorem elektronů, přičemž rozdíl elektrodoových potenciálů musí být dostatečný k tomu, aby vznikla molekula ATP.
- 2) Zdroj energie musí katabolizovatelný tak, aby vzniklo tolik donorů a akceptorů, aby každé dehydrogenaci byla protiváhou redukce, aby každé vzniklé NADH mohlo být reoxidováno na NAD^+ .
- 3) Bakterie musí mít geny pro enzymy, které fermentaci katalyzují. [16]

Kvašení je prodloužením glykolýzy, která je schopna vytvářet ATP jen fosforylací na substrátové úrovni a to tak, dokud má dostatečný přísun NAD^+ jakožto příjemce elektronů.

Kyselina pyrohroznová (dále jen pyruvát) konečný produkt glykolýzy slouží jako příjemce elektronů při oxidaci NADH zpět na NAD^+ , který pak může být znovu použit pro glykolýzu. Existují různá kvašení a jejich různé produkty. [15]

Průběh anaerobního štěpení glukosy na pyruvát cestou glykolytickou neboli Embden-Mayerhof-Parnasovou (EMP) drahou může být pro zjednodušení vyjádřen ve třech základních krocích:

1. Fosforylace glukosy: glukosa - 2 ATP -> fruktosa-1,6-bisfosfát
2. Štěpení na dva triosafosfáty: fruktosa-1,6-bisfosfát -> glyceraldehyd-3-fosfát
-> dihydroxyaceton-fosfát
3. Spojení následné hydrolyzy reaktivních látek se syntézou ATP:
2 tiosa-fosfát -> pyruvát + 4 ATP

Takto se získají dva moly ATP na mol oxidované glukosy a přitom se redukuje dva moly NAD. [17]

2.1 Mléčné kvašení

Mléčné kvašení je rozklad cukrů mléčnými bakteriemi za vzniku kyseliny mléčné a různého množství vedlejších produktů. Většina druhů mléčných bakterií zpracovává na rozdíl od alkoholického kvašení, všechny běžné cukry – hexosy, pentosy, monosacharidy, disacharidy i vícemocné alkoholy jako glycerol, manitol apod. Nezkvašují škrob, inulin a dextriny. Vzniklá kyselina mléčná chrání prostředí před ostatními mikroby, které nesnáší kyselé prostředí a tím prodlužuje skladovatelnost mléčně vykvašených potravin. Samotná kyselina mléčná by však nestačila konzervovat, proto je výhodné, když současně s ní vznikají určitá množství kyseliny octové, etanolu a antibiotik. Z hlediska tvorby mléčné kyseliny a vedlejších produktů se mléčné kvašení rozděluje na tři typy:

- 1) Čisté (homofermentativní).

Typické mléčné kysání, způsobují jej hlavně tyčinky z rodu *Lactobacillus*. Vzniká při něm z glukosy nebo jiných sacharidů mléčná kyselina podle rovnice:



- 2) Smíšené (heterofermentativní).

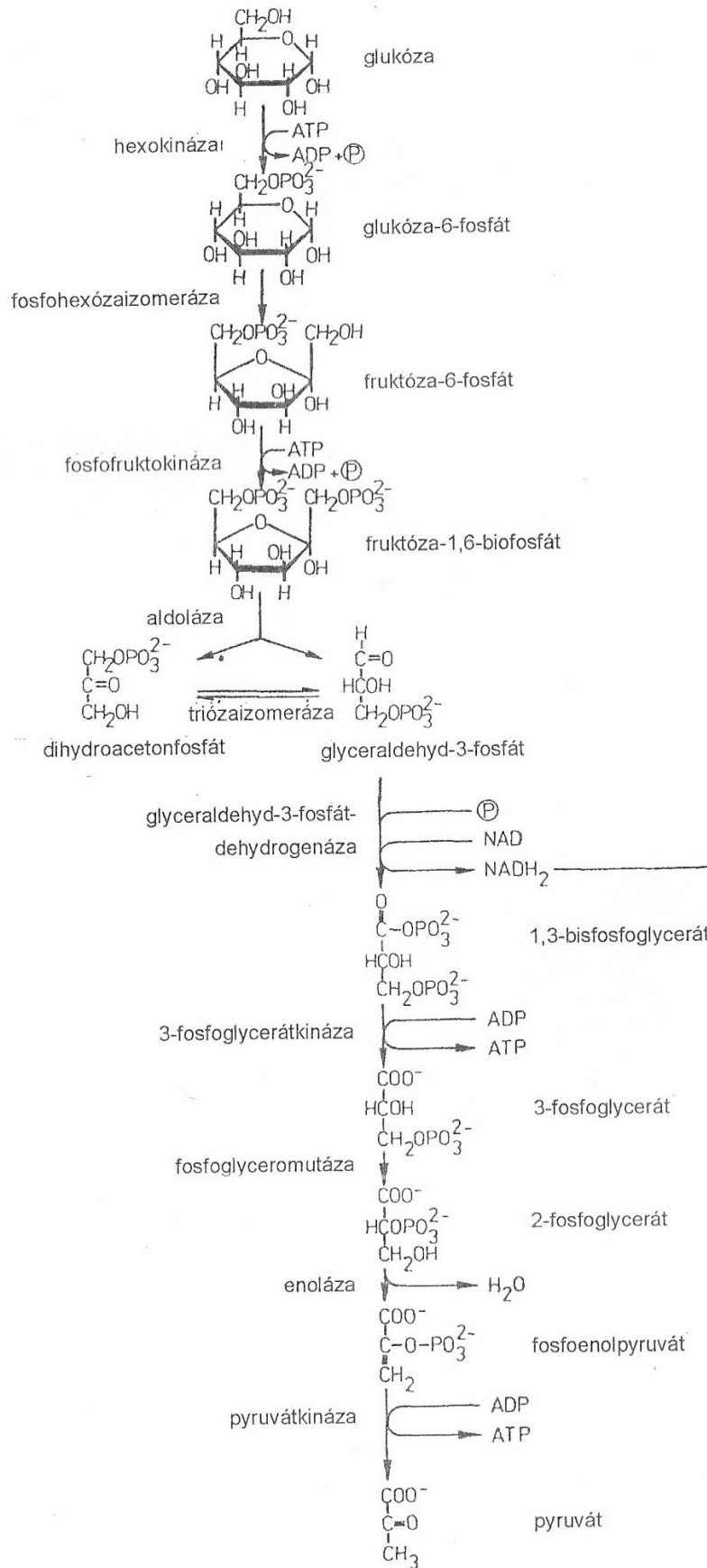
Vedle kyseliny mléčné vzniká i oxid uhličitý, kyselina octová a etanol. Původci těchto procesů jsou z rodu *Lactobacillus*, *Leuconostoc* a *Enterobacter*.

- 3) Nečisté.

Vedle kyseliny mléčné vzniká také kyselina octová, vodík, oxid uhličitý a jiné mnohdy páchnoucí látky. Původci jsou hlavně příslušníci rodů *Escherichia* a *Enterobacter*. [6]

2.1.1 Mechanismus mléčného kvašení

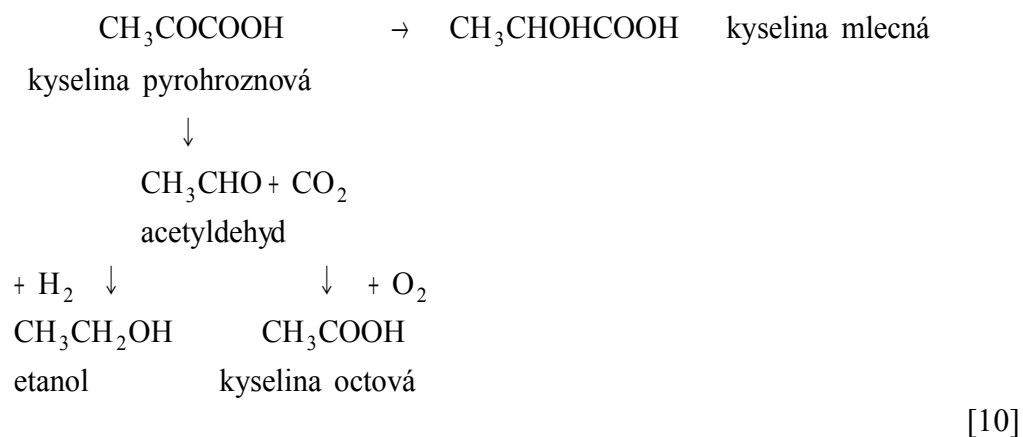
Mechanismus vzniku kyseliny mléčné je shodný s etanolovým kvašením až po vznik kyseliny pyrohroznové a to cestou glykolýzy. [6]



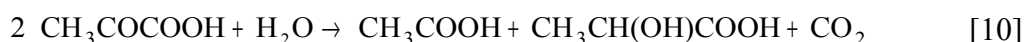
Glykolyza.

Obrázek 9 - Glykolyza [16]

Pyrohroznová kyselina se při mléčném kvašení převede na kyselinu mléčnou. Za vhodných okolností, např. za aerobních podmínek se může vytvořit větší či menší podíl acetaldehydu a z něj dále vedlejší zplodiny. Záleží také na tom, jak jsou mikroby, které se za daných okolností mohou uplatnit, vybaveny enzymy. Z vedlejších produktů mléčného kvašení nás z technologického hlediska zajímá zejména kyselina octová. Její produkce je nutným předpokladem úspěšné konzervace. Dále je to etanol, který se podílí na tvorbě esterů, jež doplňují aroma výrobku. Z plynů má význam jedině oxid uhličitý, ten pomáhá vytvářet a udržovat anaerobní podmínky v kvasící hmotě i na jejím povrchu. Zkrácené schéma mechanismu je následující: [6]



Mléčná a octová kyselina vznikají také ze dvou molekul pyrohroznové kyseliny:



2.1.2 Průběh mléčného kvašení

Uplatňují se tři způsoby kvašení. Smíšeným a částečně nečistým kvašením proces začíná, s postupující kyselostí vzrůstá převaha čistých mléčných bakterií, které tvoří podstatnou část mléčné kyseliny. [10] Na to, jak se které mikroby uplatní, má vliv především složení a úprava zpracovávaného materiálu. [6]

1) Předběžná (přípravná) fáze

V této fázi se rozmnožují všechny druhy mikroorganismů, kterým vyhovují podmínky prostředí. Jsou to jak mléčné bakterie (homofermentativní i heterofermentativní), tak bakterie ze skupiny *Escherichia Coli* a *Enterobacter aerogenes* (dále jen Coli-aerogenes). Nálev se začíná kalit, na povrchu se tvoří pěna, vzniklá vytěsňovaným vzduchem a oxidem uhličitým, který ještě vydýchává odumírající rostlinná tkáň. Rozvojem mléčných bakterií se zvyšuje kyselost prostředí a činnost doprovodné mikroflóry slábne. Nejnebezpečnější je rozvoj bakterií máselných, které jsou obligátně anaerobní a snášejí kyselé prostředí až do pH 4,2. Jejich přítomnost se vyznačuje tvorbou plynu, odporným zápachem a nepřírozonou barvou např. u zeleniny. Potlačit tyto bakterie můžeme rychlým zvýšením kyselosti, dodržením čistoty. Při dosažení kyselosti vhodné pro rozvoj kvasinek nastává symbiosa mléčných bakterií s kvasinkami. Činností kvasinek vzniká etanol a oxid uhličitý. Současně se tvoří vonné estery k vytvoření typické chuti. [10]

2) Hlavní fáze mléčného kvašení

Tato fáze nastává, když se prodýchaly zbytky kyslíku, vlivem zvýšené kyselosti se potlačí rozvoj doprovodné mikroflóry, nad ostatními pochody převládlo typické homofermentativní mléčné kvašení. Mléčné bakterie za vhodných podmínek kvasí až do koncentrace 2 % kyseliny mléčné. [13] Důležitým chuťovým a regulujícím činitelem je přítomnost chloridu sodného, který brání rozvoji některých hnilobných mikroorganismů, ale nepotlačuje činnost mléčných bakterií. Proběhla-li úspěšně první fáze procesu, spočívá pak tato fáze jen v udržování teploty a anaerobních podmínek. [6]

3) Škodlivá, odkyselující fáze

Po dokvašení mohou v prostředí vegetovat především aerobní odkyselující mikroorganismy, které rozkládají kyselinu mléčnou. Snižováním kyselosti se vytváří podmínky pro rozvoj máselných a hnilobných mikroorganismů. K odkyselujícím mikroorganismům patří zejména plísně *Oospora lactis*, *Penicillia* a křisovité kvasinky. Tyto mikroby odbourávají kyselinu mléčnou, octovou, plísně i kyselinu máselnou a křisovité kvasinky odbourávají dokonce i alkohol a bílkoviny. Jejich rozvoj je potlačován zamezením přístupu vzduchu k zelenině uzavřením nádob, udržováním hmoty pod nálevem, nízkou skladovací teplotou. Škodlivost odkyselujících mikrobů je tím menší, čím je větší přítomnost kyselin. Proto je nepřímým zdrojem obrany proti nim také přislazování nebo přikyselování hotových výrobků. Dalším

stupněm rozkladu jsou mikroorganismy, které mohou vegetovat jen v omezeně kyselém prostředí (při pH vyšším než 4,2). Jsou to klostridia máselného kvašení, které mohou zkvašovat nejen cukry, ale i kyselinu mléčnou na máselnou. V třetí fázi procesů souvisejících s mléčným kvašením by se za zvláštních okolností mohly uplatnit bakterie octového kvašení. Nemají však obvykle dostatek živného substrátu (alkohol), a kromě toho mohou vegetovat jen za dokonalého přístupu vzduchu. V povrchové mikroflóře kvašené zeleniny se však octové bakterie vyskytují. [6;10]

2.2 Etanolové (lihové) kvašení

Původci etanolového (alkoholového) kvašení jsou zejména kvasinky rodu *Saccharomyces* a *Torula*, některé druhy mikroskopických hub (rod *Mucor*) a ojedinělé druhy bakterií. Etanolové kvašení se využívá ve vinařství, pivovarnictví, lihovarnictví a pekárenství. Kvasinky etanolového kvašení se rozdělují na kulturní (*Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*) a divoké (různé druhy rodu *Saccharomyces pastorianus*). Jejich odlišnost je v síle kvašení. [18] Jako skutečně čistá odrůda se používá kmen kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, který zkvašuje jen hexosy - glukosu, fruktosu, galaktosu, manosu, nikoli však sorbosu a cukerné alkoholy sorbitol a manitol. [19] Zkouší se i použití bakterie *Zymomonas mobilis*, což je fakultativně anaerobní tyčinka. Nevýhodou je však vyšší nárok na živiny, velká citlivost na kyslík a na nedostatek glukosy. Při kvašení je nutné zachovávat i sterilní prostředí. Tato bakterie se často používá v tropických zemích k přípravě palmového a kaktusového vína. Výhoda této bakterie je zejména při kontinuálních procesech, z nichž vyplývá, že při stejné vstupní koncentraci glukosy je produktivita etanolu při použití bakterií 4,1krát vyšší než při použití kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*.

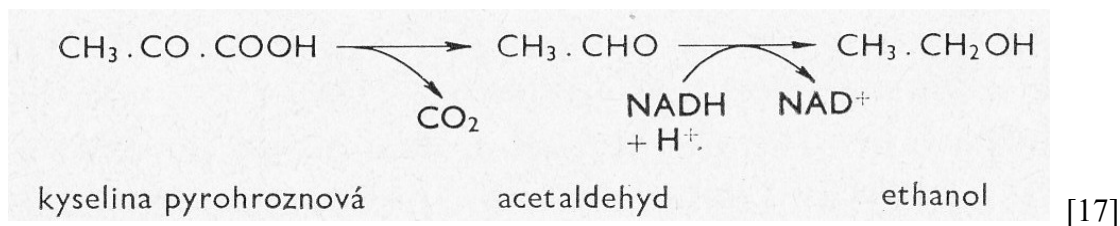
Při etanolovém kvašení vznikají z jedné molekuly glukosy (100 %) dvě molekuly etanolu (51,14 hm. %) a dvě molekuly CO₂ (48,6 %) za současného vzniku energie (dvě molekuly ATP) podle následující rovnice: [20]



2.2.1 Mechanismus etanolového kvašení

Mechanismus probíhá glykolytickou cestou. Žádná z reakcí nevyžaduje kyslík, ale nějakým mechanismem se musí regenerovat redukovaný NAD^+ a to takto: [17]

Pyruvát (produkt glykolýzy) je ve dvou krocích přeměněn na etanol. Během prvního kroku vzniká z pyruvátu odstraněním CO_2 acetaldehyd. Ten je ve druhém kroku redukován pomocí NADH na etanol. Takto je obnoven přísun NAD^+ pro glykolýzu. [15]



Na začátku kvašení, kdy je ještě v prostředí nedostatek acetaldehydu, vzniká určitý podíl glycerolu (asi 3 % glycerolu po přepočtu na vstupující glukosu). [19]

Dochází k němu spontánně i záměrně při zkvašování rmutů a šťáv za účelem konzervace. [10]

Při průmyslovém etanolovém kvašení vzniká kromě etanolu a malého množství glycerolu ještě více vedlejších produktů, které se vyskytují v poměrně nízkých koncentracích (6 %) mají poměrně velký technologický význam. Především jsou to vyšší jednosytné alkoholy (propanoly, butanoly, pentanoly), tzn. přiboudlina, především z aminokyselin odumřelých kvasinkových buněk. Během kvašení, ale především během zrání hotových alkoholických nápojů vznikají estery, které jsou nežádoucí v pivovarnictví, ale ve vinařství mají pozitivní význam (buket vína). Z kyseliny pyrohroznové, která vzniká v procesu glykolýzy, se při etanolovém kvašení tvoří malé množství dalších fermentačních produktů, které v malém množství výrazně nepříznivě ovlivňují chuť hotového výrobku (např. piva). Jde především o biacetyl, který vzniká kondenzací acetaldehydu s pyruvátem na acetylmléčnou kyselinu a potom jeho samovolným oxidačním rozkladem. Biacetyl je při dokvašení piva redukovaný na acetoin (3-hydroxy-2-butanon), který už nemá takový negativní vliv na chuť piva. [18] Při tomto kvašení dochází k hlubokým změnám ve složení potravin, proto se nedá etanolové kvašení hodnotit jako konzervační metoda. Zvláštní význam má při výrobě alkoholických nápojů a etanolu (lihu) a po této stránce patří k technicky nejdůležitějším mikrobiálním rozkladům. [10]

2.3 Octové kvašení

Představuje aerobní oxidaci etanolu na kyselinu octovou za přechodného vzniku acetaldehydu podle výsledné rovnice. [10]

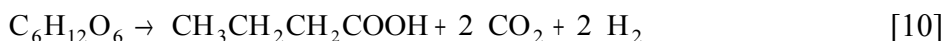


Tato rovnice neprobíhá při biokonzervaci, ale průmyslově se používá k výrobě kvasného octa, který obsahuje kolem 10 % kyseliny octové. [19]

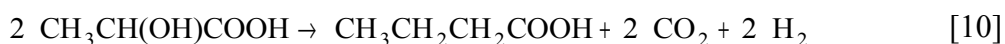
Suroviny k výrobě octa jsou etanol, voda a je třeba přidat potřebné živiny pro octové bakterie. Těmito živinami jsou glukosa a soli Na, K, Mg, Ca, NH_4^+ jako fosfáty, sulfáty nebo chloridy. Bakterie vyžadují i stopy např. železa, manganu, kobaltu, zinku. [21] Oxidační kvašení surového (melasového, bramborového nebo obilného) či technického lihu probíhá v automatizovaných velkoocetnicích s bukovými hoblinami, na nichž lpí octové bakterie. [22] Bukové piliny slouží jako vhodný nosič zaručující dobrý styk bakterií s živinami i kyslíkem. Ocetnicí vyplněnou hoblinami stéká shora octovina, tj. 4% roztok etanolu s určitým obsahem dalších živin a kyseliny octové, a od dna je vháněn vzduch, který zajišťuje dostatečný přísun kyslíku pro metabolizující buňky. Octovina je několikrát vracena nebo prochází postupně několika ocetnicemi, takže vlastně představuje kontinuální systém. [23] Výtěžnost kyseliny octové z lihu je asi 90 %. Všechny octové bakterie jsou aerobionti, rostou a množí se jen za dostatečného přístupu kyslíku. Proto se do ocetnic musí intenzívně vhánět vzduch. [24] Surový ocet se dále filtruje a plní do dubových kádí, kde se nechává tři měsíce zrát. Je třeba zamezit kontaktu se vzduchem. Ocet se v této fázi často i pasteruje. [21] Při výrobě alkoholických nápojů je octové kvašení nevídaným jevem (např. octovatění vína, původce *Acetobacter aceti*). [19]

2.4 Máselné kvašení

Při tomto kvašení vznikají z cukrů nebo z málo koncentrované kyseliny mléčné kyselina máselná a další látky např. podle rovnice.



nebo



Hlavními původci jsou obligátně anaerobní bakterie *Clostridium pasteurianum* a *Clostridium butyricum*, které zpracovávají cukr, pektiny, škrob i bílkoviny. Máselná kyselina škodí mléčným bakteriím, už při koncentraci 0,5 %. Produkty kvašení dodávají nepříjemnou chuť a vůni, způsobují značné škody při konzervaci mléčným kvašením, při výrobě moštů a vín a v technologii ovoce, zeleniny a masa. [6,10]

2.5 Mikroorganismy

Živé systémy jsou děleny podle nároků na výživu, na kyslík a podle způsobu získávání energie do skupin s různým typem metabolismu. Z hlediska získávání energie jsou děleny do tří základních skupin.

- 1) Mikroorganismy získávají energii oxidační fosforylací spojenou s respiračním řetězcem.
- 2) Mikroorganismy disponující pouze substrátovou fosforylací, tj. mikroorganismy s fermentačním metabolismem.
- 3) Fototrofní mikroorganismy provádějící fotofosforylaci. [14]

2.5.1 Mikroorganismy s fermentačním metabolismem

Fermentaci neboli kvašení provádějí chemoorganotrofy. Při tomto procesu se substráty oxidují jen částečně a uvolněná energie se použije na výrobu adenosintrifosfátu (ATP) procesem substrátové fosforylace. Oxidovaný uhlík se vyloučí jako CO₂ a vodíky redukovaných koenzymů NAD(P)H se přenášejí na zbytek substrátu vzniklý jeho částečnou oxidací (např. pyruvát, acetaldehyd).

Fermentující mikroby mohou být striktní i fakultativní anaeroby. Fakultativně anaerobním mikroorganismům, uskutečňujícím kvašení kyslík nevádí, v jeho přítomnosti však obvykle přecházejí na aerobní způsob rozkladu substrátu dýcháním. Takovými organismy jsou kvasinky. Přednost aerobnímu metabolismu za přítomnosti kyslíku dávají i jiné mikroby (např. bakterie *Escherichia coli*). Naproti tomu některé mléčné bakterie pokračují v kvašení i v aerobní atmosféře. Výchozí substráty slouží fermentujícím organismům jako zdroj energie. [14]

2.5.2 Skupiny mikroorganismů důležité z potravinářského hlediska

Mléčné kvašení u zeleniny způsobuje řada bakterií, které se liší jak morfológickými, tak fyziologickými znaky. V technické praxi se pod mléčné bakterie zahrnují mikroorganismy s následujícími znaky:

- a) z cukrů tvoří jako hlavní produkt kyselinu mléčnou,
- b) nesporulují, tvoří tyčinky nebo koky,
- c) barví se pozitivně dle Gramova barvení,
- d) jsou fakultativně anaerobní,
- e) netvoří hematinové enzymy (katalasu, cytochromoxidasu),
- f) obtížně se kultivují na syntetických půdách, při nedostatku růstových látek v prostředí nevegetují. [10]

Pravé bakterie mléčného kvašení tvoří skupinu nepohyblivých, nesporulujících grampozitivních koků a tyčinek, které fermentují sacharidy za fakultativně anaerobních podmínek a tvoří přitom kyselinu mléčnou. [25] Kyselina mléčná zajišťuje u výrobků chuť tvorbou biacetylu, který zajišťuje při výrobě aroma výrobků. [10]

2.5.3 Bakterie mléčného kvašení

Tyto bakterie zahrnují skupinu kokovitých i tyčinkovitých bakterií rodů: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* a *Bifidobacterium*. Dělení podle způsobů jejich rozkladu je následující:

1) Homofermentativní mléčné kvašení

Streptococcus, *Pediococcus*, *Lactococcus*, některé druhy *Lactobacillus*. Tvoří kyselinu mléčnou jako téměř jediný produkt metabolismu.

2) Heterofermentativní mléčné kvašení

Leuconostoc, některé druhy *Lactobacillus*. Tvoří kromě kyseliny mléčné také značné množství kyseliny octové, oxidu uhličitého a etanolu.[26]

- ***Enterococcus***

Jeho původní stanoviště jsou střeva lidí. Jsou vysoce tolerantní, rostou v bujónu s 6,5 % soli, při pH 9,6, s 40 % žluče, při 10 °C až 40 °C a přežívá teploty 60 °C po dobu 30 minut. Z potravinářského hlediska je významná odolnost vůči zvýšené koncentraci solí v potravinách. V potravinářství se ale enterokoky často považují za indikátory fekálního znečištění. [27] Fermentují sacharidy jako jiné bakterie mléčného kvašení. Významnou proteolýzu vykazuje *E. faecalis*, *E. faecium*. Enterokoky jsou součástí mikroflóry sýrů, syrových fermentovaných klobás, šunky a jiných rostlinných potravin. Důvodem jejich přítomnosti je zvýšený obsah soli a snížená aktivita vody. Ementálské sýry, které obsahovaly málo enterokoků, měly málo výraznou chuť. Enterokoky nejsou plynotvorné, ale rozkladné produkty proteolýzy jsou zdrojem dusíku pro jiné mléčné bakterie. [25]

- ***Bifidobacterium***

Grampozitivní striktně anaerobní tyčinky. Některé druhy snášejí přítomnost O₂ i CO₂. Ve svém sacharolytickém metabolismu produkují dva moly hexosy, tři moly kyseliny octové a dva moly kyseliny mléčné. Jako vedlejší produkty tvoří malá množství kyseliny mravenčí, kyseliny jantarové a etanolu. [23]

Mají významnou úlohu v intencionálním traktu dětí. Z fermentovatelných sacharidů produkují kyselinu octovou a mléčnou (v poměru 3:2), které inhibují nežádoucí bakterie a stimulují peristaltiku. V 1 g stolice kojených dětí byl stanoven celkový počet bakterií 10¹¹ KTJ, nejvíce druhu *Bifidobacterium bifidum* 10¹⁰ až 10¹¹ KTJ, potom následoval *Lactobacillus acidophilus* 10⁹ KTJ, koliformní mikroorganismy a enterokoky 10⁸ až 10⁹ KTJ. [25]

- **Rod *Lactobacillus***

Z potravinářského hlediska je velmi důležitým rodem *Lactobacillus*, který produkuje kyselinu mléčnou.

Vlastnosti: Je to rod grampozitivních nesporotvorných tyčinek. Tvoří dlouhé tyčinkovité nepohyblivé buňky, které jsou náročné na růstové látky. Jsou anaerobní, mikroaerofilní nebo dokonce fakultativně anaerobní povahy. Jejich fyziologickým znakem je zkvašování cukrů,



Obrázek 10 - Rod *Lactobacillus*
sp.

většinou kromě laktosy v mléčnou kyselinu. Některé druhy tvoří tuto kyselinu jako jediný produkt metabolismu a nazývají se proto homofermentativní mléčné bakterie. Heterofermentativní druhy produkují kromě kyseliny mléčné ještě octovou kyselinu, etanol, oxid uhličitý a jiné produkty. [28]

Význam: Jelikož kyselina mléčná zastavuje rozmnožování hnilobných bakterií, činnost mléčných bakterií se od dávna využívá na konzervování zeleniny. V mlékárenském průmyslu se laktobacily používají při výrobě sýrů. (např. *L. casei*, *L. lactis*, *L. helveticus*), některé druhy se používají na přípravu kvašeného mléka (*L. acidophilus* na přípravu acidofilního mléka, *L. bulgaricus* na přípravu jogurtů), některé druhy *L. fermentum* a *L. brevis* a homofermentativní druh *L. plantarum* jsou důležitou součástí pekárenského kvásku při výrobě chleba. *Lactobacillus delbruecki* a *L. bulgaricus* se používají při vlastní výrobě potravinářské kyseliny mléčné. [18] *Lactobacillus delbruecki* patří k těm druhům mléčných bakterií, které nejsou schopny zkvašovat laktosu. Některé heterofermentativní druhy (např. *L. fermentum* a *L. buchneri*) se vyskytují jako nežádoucí kontaminace ve vinařství a pivovarnictví, kde způsobují chuťové vady výrobku a v drožděarství, kde vedou ke ztrátám výtěžnosti. Při výrobě uzenin způsobuje kontaminace heterofermentativními bakteriemi (hlavně *L. viridescens*) zelenání polotovarů a hotových výrobků. Příčinou zelenání je peroxid vodíku a jiné peroxidy, které tyto bakterie tvoří při kvašení, neboť neobsahují enzym katalasu; peroxidy reagují s růžovými pigmenty uzeného masa za vzniku zeleného zbarvení. Vzdušný kyslík podporuje tvorbu peroxidu vodíku, a tedy i zelenání. Nepřítomnost katalasy umožňuje kvantitativní zjišťování mléčných bakterií v potravinách nebo v jiném prostředí. Mléčné bakterie jsou v přírodě velmi rozšířené. Vyskytují se v mléce, kde vyvolávají přirozené kysání, dále v půdě, na travinách, obilném zrní, ve vodě, v ústech i zažívacím traktu teplokrevných živočichů. [23]

- **Rod *Streptococcus***

Zahrnuje řadu patogenních druhů, které způsobují hnisavá onemocnění. Z potravinářského hlediska jsou důležité streptokoky vyskytující se běžně ve střevech savců (např. *S. faecium* a *S. faecalis*), které se nazývají enterokoky. [29] Jsou odolnější k nepříznivým podmínkám (např. při uzení) než ostatní střevní bakterie a proto se někdy nacházejí v uzeném masu a uzeninách. Dále jsou z potravinářského hlediska důležité druhy *Streptococcus lactis* a *Streptococcus cremoris*, které jsou součástí máslašské kultury používané k zakysání smetany. Některé druhy tvoří kromě kyseliny mléčné také antibiotikum nisin, které inhibuje rozvoj řady

gramnegativních bakterií. Toto antibiotikum se používá také jako pomocná látka při konzervaci některých potravin. V mlékařství slouží k potlačení klostridií. *Streptococcus cremoris* je producentem biacetylu, který dodává příjemné aroma. *Streptococcus thermophilus* s optimální teplotou 40 až 45 °C je součástí zákvasů při výrobě ementálského sýra a jogurtu. [30]

- **Rod *Pediococcus***

Je mikroaerofilní až anaerobní a jeho povrchový růst na tuhých půdách je většinou velmi slabý. Tvoří buňky ve dvojicích nebo v tetradách. Zahrnuje pět druhů, z nichž některé jsou velmi obávanými kontaminanty v pivovarnictví vzhledem k tvorbě biacetylu, který již ve velmi malých koncentracích ovlivňuje vůni a chuť piva. [28] Patří sem především *Pediococcus cerevisiae*, označovaný také jako „pivní sarcina“, který je nejčastější příčinou nežádoucí změny chuti piva, a *Pediococcus urinae-equi*, který se často nachází v pivovarských kvasnicích. [23] *Pediococcus cerevisiae* se používá v některých zemích (USA, Německo) k zaočkování při výrobě speciálních uzenářských výrobků. Buňky pak rychle tvoří kyselinu mléčnou, která silně inhibuje rozvoj hnilobných bakterií. Další rody *Pediococcus* se vyskytují v kysaném zelí, okurkách a jiné zelenině, v silážích a na jiném kvasícím materiálu. *Pediococcus halophilus*, který snáší až 15% koncentraci soli, se v Japonsku uplatňuje při výrobě sýra „miso“ ze sójové mouky. [30]

- **Rod *Leuconostoc***

Tvoří kulovité nebo čočkovité buňky spojené po dvou nebo v řetízích některé druhy vytvářejí značné množství slizu polysacharidové povahy. Sliz tvoří především *Leuconostoc mesenteroides*, jehož přítomnost může způsobit potíže v drožděrenství i ve slazených minerálních vodách (rosolovatění). *Leuconostoc cremoris* se pro silnou tvorbu biacetylu uplatňuje jako součást máslařské kultury. [28]

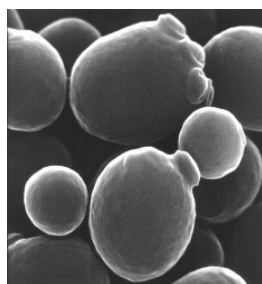
- **Kvasinky**

Vlastnosti: Jsou v přírodě velmi rozšířeny, mají většinou jen sacharolytické schopnosti, vyskytují se tedy na materiálech obsahujících cukry, např. ovoce. Způsobují zejména kažení ovocných moštů, slazených limonád slazených minerálních vod. Kontaminace kvasinkami má negativní účinek také v drožděrenství, kde nepříznivě ovlivňuje kvasné schopnosti (zhoršení kynutí) a trvanlivost pekařského droždí, a v pivovarnictví a vinařství, kde může nepříznivě ovlivnit chuť výrobku.

Význam: Hlavní průmyslový význam kvasinek spočívá v jejich použití pro výrobu alkoholických nápojů a pekařského a krmného droždí. [25] K výrobě pekařského droždí se nejčastěji používají kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, *S. uvarum*, *S. fragilis* nebo *Candida utilis*. [20]

Nejdůležitější a nejrozsáhlejší rod je *Saccharomyces* doslovně „cukerná houba“, který má silné kvasné schopnosti, zkvašuje většinu cukrů kromě rafinosy. Je to rod tvořící akospory. Druh *Saccharomyces cerevisiae* se uplatňuje nejčastěji a to jako kvasinka pekařská, lihovarská, vinařská nebo tzv. „svrchní“ pivovarská kvasinka. Vinařské kmeny, které mají protáhlejší buňky, jsou označovány jako samostatná varieta *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*. *Saccharomyces uvarum* zkvašuje i laktosu. [30] K tomuto druhu jsou dnes zařazovány také spodní pivovarské kvasinky *Saccharomyces carlbergensis*. Při spodním pivovarském kvašení klesají kvasinky po dokvašení mladiny ke dnu („sázejí se“), kvašená mladina je odtahována a promyté kvasinky jsou použity pro zakvášení nové várky. U svrchního pivovarského kvašení jsou kvasinky na konci kvašení vynášeny do pěny a sní sbírány pro zakvášení nové várky. Piva připravená spodním kvašením mají delší trvanlivost, neboť jejich spodní kvašení probíhá při 6 až 10 °C, což vyžaduje delší kvasnou dobu, kdy dojde k vyčeření zákalů. Toto kvašení probíhá v našich krajích a v některých evropských státech. Svrchní kvašení probíhá při 25 °C a používá se zejména v Anglii.

Přiboudlina, tj. vyšší alkoholy, které se získávají při rafinaci kvasného lihu, se používá jako rozpouštědlo laků. [23]



Obrázek 11 -
Saccharomyces
cerevisiae

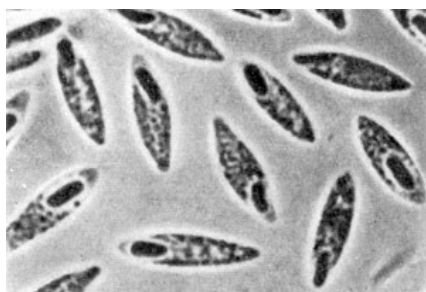
- **Bakterie octového kvašení**

Rod *Acetobacter* a *Glukonobacter* představují gramnegativní aerobní bakterie s výraznou schopností oxidovat etanol na kyselinu octovou. Používá se jich proto při kvasné výrobě octa.

Nepříznivě se tyto octové bakterie uplatňují při octovatění vína nebo piva, a také jako nežádoucí kontaminace při výrobě droždí. [27] Mají přísně aerobní metabolismus, takže již krátké přerušování dodávky kyslíku vede v přítomnosti etanolu k jejich usmrcení. Při poklesu koncentrace etanolu oxidují vzniklou kyselinu octovou až na oxid uhličitý a vodu (tzn. přeoctění). Využívají i jiné substráty, např. hexosy a mléčnan. Druh *Acetobacter aceti* *subspecies aceti* je v přírodě nejrozšířenější a používá se pro výrobu octa. Dále *Acetobacter aceti* *subspecies xylinum*, který tvoří silný kožovitý povlak na povrchu napadených kapalin (piva, vína). [25]

- **Bakterie máselného kvašení**

Hlavní původce máselného kvašení je rod *Clostridium*. Jedná se o grampozitivní, přísně anaerobní, sporotvorné bakterie. Mají silné proteolytické i sacharolytické vlastnosti. Při anaerobní oxidaci organických sloučenin tvoří velké množství plynu (CO_2 , H_2). Tvorba plynu se nepříznivě projevuje např. v sýrařství (duření sýrů), kde jsou klostridia nežádoucí také díky tvorbě nepříjemně páchnoucích sloučenin, především kyseliny máselné. Pro kvasnou výrobu kyseliny máselné je používán druh *Clostridium butyricum*. [30] Některé druhy produkují velmi nebezpečné toxiny. Např. *Clostridium botulium*, produkující botulotoxiny, které patří k nejúčinnějším jedům. [27] 1 mg představuje smrtící dávku pro 16 000 lidí. Botulotoxiny jsou bílkovinné povahy, inaktivují se zvýšenou teplotou. Příznaky otravy se projevují po 6 až 72 hodinách a spočívají v bolestech hlavy, nevolnosti, zvracení, dvojitém vidění, ochrnutí svalstva a končí ve 30 až 65 % smrti. Z konzervářského hlediska je důležitý *Clostridium thermosaccharolyticum*, jeho termorezistentní spory přežívají sterilační teploty používané u nekyselých konzerv. [23]



Obrázek 12 - *Clostridium*
butyricum

Tabulka 3 - Přehled některých průmyslově důležitých mikroorganismů [14]

	Rod	Druh	Produkt
Bakterie	<i>Acetobacter</i>	<i>A. aceti</i> , <i>A. oxydans</i>	kvasný ocet
	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. bulgaricus</i>	jogurtová kultura
		<i>L. lactis</i>	mléčná kyselina
		<i>L. brevis</i>	sýry
	<i>Streptococcus</i>	<i>S. cremoris</i> , <i>S. Lactis</i>	máselná kultura
<i>S. thermophilus</i>		jogurtová kultura, sýry	
<i>Leuconostoc</i>	<i>L. cremoris</i>	sýry	
Kvasinky	<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i>	alkoholické nápoje, etanol, droždí
	<i>Kluyveromyces</i>	<i>K. fragilis</i> , <i>K. lactis</i>	etanol, kefir, β -galaktosidasa
	<i>Schizosaccharomyces</i>	<i>S. pombe</i>	alkoholický nápoj z prosa „pombe“, odkyselování vín
	<i>Kloeckera</i>	<i>K. apiculata</i>	divoká vinná kvasinka
Plísně	<i>Mucor</i>	<i>M. javanicus</i> ,	spec. alkoholické nápoje, výroba
		<i>M. rouxii</i>	sýrů znehodnocování potravin,
	<i>Rhizopus</i>	<i>R. nigricans</i>	spec. alkoholické nápoje, tvorba mykotoxinů, kažení potravin, ovoce
	<i>Aspergillus</i>	<i>A. niger</i> , <i>A. oryzae</i>	proteolytické, amylolytické, pektolytické enzymy
		<i>A. flavus</i> ,	tvorba mykotoxinů, kažení potravin
		<i>A. parasiticus</i>	
	<i>Penicillium</i>	<i>P. chrysogenum</i>	antibiotika, citronová kyselina
<i>P. camamberti</i> ,		plísňové sýry	
<i>P. roqueforti</i>			
<i>Botrytis</i>	<i>B. cinerea</i>	tokajské víno, hniloba masa a ovoce	
<i>Endothia</i>	<i>E. parasitica</i>	mikrobní sýřidlo	

2.6 Enzymy

Enzymy neboli biokatalyzátory urychlují chemické přeměny. Enzymy nacházíme ve všech živých systémech, mohou být tvořeny buňkami mikroorganismů, rostlinami i živočichy. Jsou citlivé k řadě vlivů a velice rychle podléhají poměrně rychlému opotřebení.

[31] Enzymová reakce se odehrává v relativně malé oblasti enzymové molekuly, které říkáme aktivní centrum nebo aktivní místo. Aby došlo k samovolnému přechodu reaktantů na produkty, musí být do reakce dodána, tzn. aktivační energie. Za zdroj energie je pokládána energie uvolněná při vazbě substrátu na enzym. [32]

Enzymy vykazují značnou specifitu:

1. Reakční nebo účinková specifita.

Vykazují specifitu k typu katalyzované reakce. Tentýž substrát může být přeměňován několika enzymy s různou specifitou účinku na různé produkty.

2. Substrátová specifita.

Tato specifita je zajišťována na třech úrovních. Specifita absolutní, katalyzující přeměnu jen jediného substrátu. To je ale spíše výjimečné. Dále specifita skupinová, kdy enzym katalyzuje určitou reakci i celé skupiny substrátů téhož typu. Enzymy s relativní skupinovou specifitou katalyzují reakci jedné skupiny substrátů a ve zmenšené aktivitě je schopen působit i na jiné skupiny substrátů.

Většina enzymů je povahy složených bílkovin a skládají se z bílkovinné a nebílkovinné části. Nebílkovinná část enzymu povahy složených bílkovin se nazývá kofaktor. Jeho funkce spočívá v přenášení skupin jednotlivých atomů nebo elektronů. Je-li pevně vázán na bílkovinnou složku enzymu, nazýváme jej prostetická skupina. Jindy je kofaktor s bílkovinnou složkou vázán jen slabě, jde o apoenzym. Třídění kofaktorů probíhá podle typů reakcí, kterých se účastní (tj. podle jednotlivých tříd enzymů, jejichž jsou součástí). [33]

2.6.1 Rozdělení enzymů

Klasifikace vychází z typu enzymatických reakcí.

- **Oxidoreduktasy**

Katalyzují oxidačně redukční přeměny. Oxidoredukční děje realizují přenosem atomů vodíku (transhydrogenasy, dehydrogenasy) nebo přenosem elektronů (transelektronasy), případně

vestavěním atomu kyslíku do substrátu (oxygenasy). Konzervářensky velmi důležitá je L-askorbasa, která způsobuje oxidaci L-askorbové kyseliny v prostředí živé a odumírající zeleninové tkáně. V ovoci většinou chybí, oxidace probíhá nepřímo pomocí polyfenolas. Patří zde dále peroxidasy, katalasy (chrání buňku před smrtícím působením peroxidů), sukcinyldehydrogenasa, alkoholdehydrogenasa, cytochromoxidasa, glukooxidasa, galaktooxidasa.

- **Transferasy**

Realizují přenos skupin v aktivované formě z jejich donoru na akceptor. Do skupiny patří karbohydrasy (enzymy štěpící sacharidy – invertasa neboli sacharasa), amylasy (neboli diastasy – štěpí škrob přes dextriny na maltosu), glykosidasy, lipasy, proteasy, formyltransferasa, transketolasa, acetyltransferasa, glykosyltransferasa, aminotransferasa, CoA-transferasa.

- **Hydrolasy**

Štěpí vazby, které vznikly kondenzací, např. peptidové, glykosidové, esterové. Do skupiny jsou zařazeny enzymy lipasy, fosfatasy, amylasy, glykosidasy, nukleosidasy, proteasy, amidasy, ATP-asy, fosfoamidasy.

- **Lyasy**

Katalyzují nehydrolytické štěpení a vznik vazeb C-C, C-N, C-O, atd. Provádí to většinou tak, že odštěpují ze substrátu nebo do něj vnášejí malé molekuly (H_2O , CO_2 , NH_3). Patří zde karboxylasa, dekarboxylasa, aldolasa, dehydratasa, fumarasa, akonitasa, amoniaklyasa, argininsukcinasa.

- **Izomerasy**

Realizují vnitromolekulové přesuny atomů nebo jejich skupin, tedy vzájemné přesuny isomerů. Je to nejméně početná skupin enzymů. Např. racemasa, epimerasa, cis-trans-isomerasa, intramolekulární oxidoreduktasy, transferasy a lyasy.

- **Ligasy (syntetasy)**

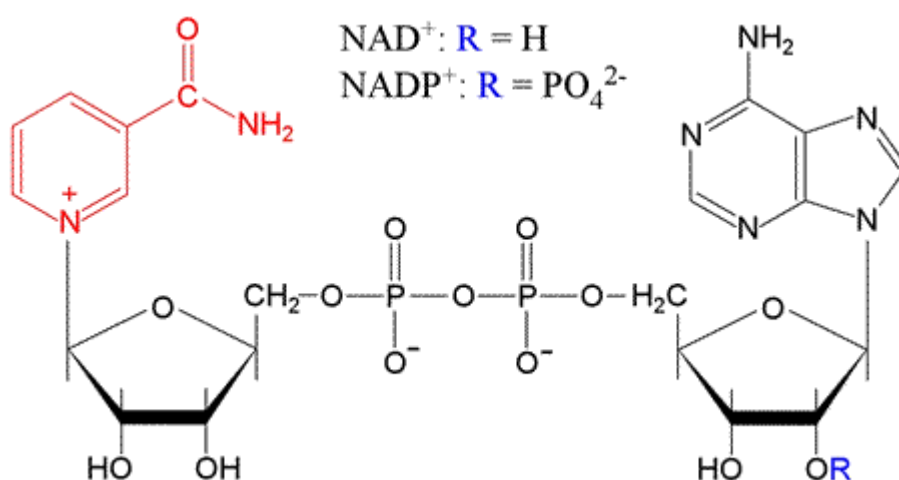
Katalyzují vznik energeticky náročných vazeb za současného rozkladu látky uvolňující energii, např. ATP. Zde jsou zařazeny Acyl-CoA-syntetasa, pyruvátkarboxylasa. [10;34;35]

2.6.2 Enzymy uplatňující se v biologických oxidacích

Většina mikroorganismů se vyznačuje také mimořádně vysokou plasticitou metabolismu, tj. přizpůsobivostí vnějším podmínkám. Je to způsobeno tím, že enzymové vybavení mikrobiální buňky je silně ovlivněno složením živného prostředí. [33] Enzymy provádějící biologické oxidace patří do třídy oxidoreduktas. Jejich nejdůležitější skupiny tvoří pět typů enzymů: [36]

1) Pyridinové (nikotinamidové) dehydrogenasy

Patří do skupiny kofaktorů oxidoreduktas, jsou to nejdéle známé kofaktory nikotiamidadenindinukleotid (NAD^+) a nikotinamidadenindinuleotidfosfát (NADP^+).



Obrázek 13 - NAD a NADP

Jejich molekuly jsou složeny z nikotinamidového a adeninového nukleosidu vzájemně spojených prostřednictvím kyseliny difosforečné. [31]

Odnímají substrátům (hlavně primárním nebo sekundárním alkoholům či aldehydům) dvojici atomů vodíku. Jeden atom vodíku se váže do polohy 4 na pyridinový kruh nikotinamidu a druhý jako proton na apoenzym. K regeneraci koenzymu pak dojde na druhém apoenzymu za odevzdání vodíku vhodnému akceptoru A: [37]



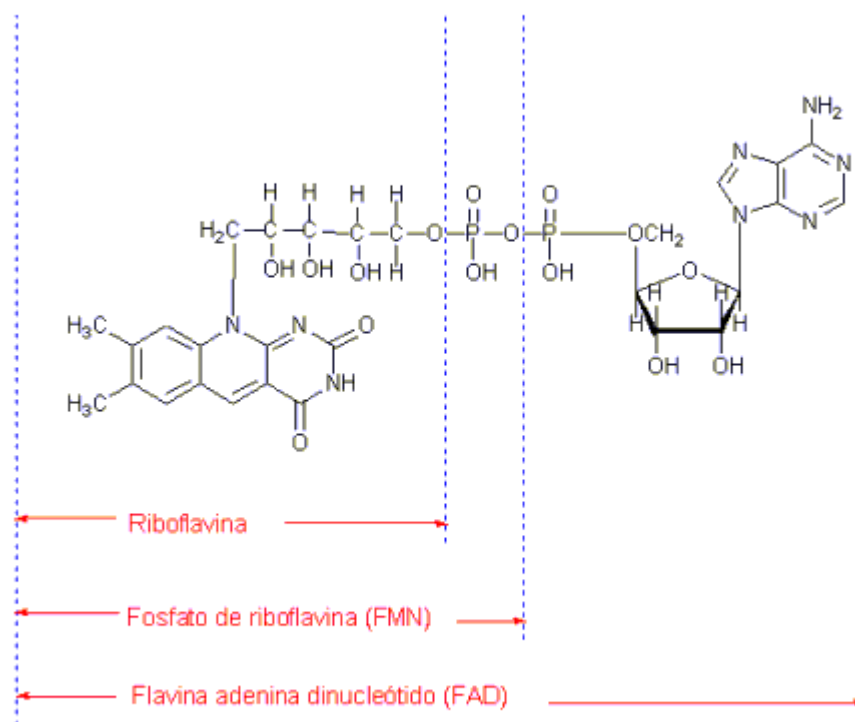
Vzniklá redukovaná sloučenina je poměrně bohatá na energii. Není již však využitelná daným mikroorganismem anaerobním způsobem a je vylučována do prostředí jako produkt anaerobního procesu. Vzniká velké množství energie, proces jejího ukládání do makroergické sloučeniny (tj. adenosintrifosfátu neboli ATP) se nazývá aerobní čili oxidativní fosforylace. Tato sloučenina vzniká při anaerobních katabolických procesech, slouží buňce jako zdroj

energie a mění se na adenosindifosfát (ADP). Energie se získává postupně, kdyby se substrát zoxidoval během jedné reakce, uvolnilo by se tolik tepla, že by došlo k poškození buňky. [23;38] Pyridinové dehydrogenasy nejsou schopné přenášet vodík přímo na kyslík, jsou proto součástí anaerobních dehydrogenas a v aerobních metabolických dějích předávají vodíky jiným transhydrogenasám, zejména flavinovým enzymům.

NAD^+ dehydrogenasy svádějí při dehydrogenačních reakcích získané vodíky na společnou cestu ke kyslíku, tím je začleňují do procesu ukládání energie. Úkol NADP^+ je jiný. Vodíkové atomy nejsou určeny pro sloučení s kyslíkem, ale slouží jako energetické redukovačlo při různých biosyntetických dějích. [39]

2) Flavinové oxidoreduktasy

Struktura flavinmononukleotidu (FMN) a flavinadeninidnukleotidu (FAD), její součástí je vitamin B₂ (riboflavin). Oba jsou pevně vázané (jako prostetická skupina) na bílkovinnou část. Jejich strukturu tvoří isoalloxazinový skelet (zahrnující pyrazinový a pyrimidinový kruh). [37]

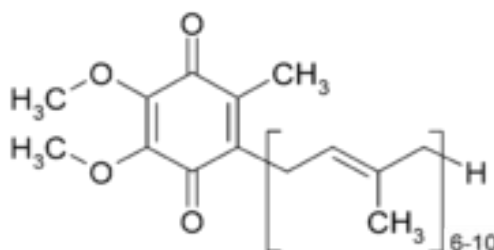


Obrázek 14 - FMN a FAD

Flaviny, podobně jako nikotinamidy jsou využívány k redoxním reakcím zahrnujícím přenos vodíku. Jsou to především akceptory vodíkových atomů z redukovaných forem pyridinových koenzymů a dále se účastní redoxních reakcí, při nichž jsou substrátům odebírány dva vodíky za vzniku dvojné vazby. Na rozdíl od nikotinamidů však mohou flaviny vstupovat i do reakcí, v nichž je přenášen kyslíkový atom stejně jako do reakcí s jednoelektronovým přenosem. V oxidované formě jsou flavinové enzymy žluté, po přijetí dvou atomů vodíku se vytváří bezbarvá leukoforma. [36]

3) Ubichinony (koenzym Q, CoQ, UQ)

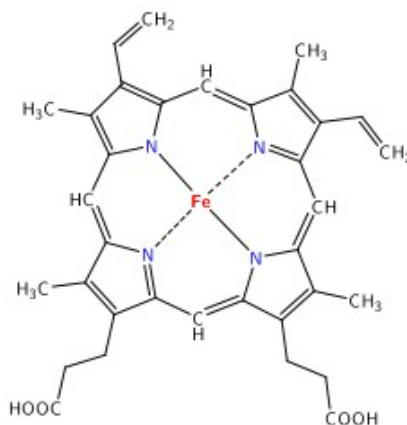
Jsou to žlutá až oranžová barviva, na jejichž benzochinonovém jádře je kromě jiných substituentů vázán dlouhý isoprenoidní řetězec, složený ze šesti až deseti jednotek. Přejíždějí přes semichinony na fenoly a představují velice reaktivní oxidačně redukční systémy. Zejména u rostlin a mikroorganismů jsou významnými přenašeči elektronů. V mitochondriálním řetězci funguje ubiquinon jako mobilní přenašeč.



Obrázek 15 - Ubichinon

4) Metaloproteiny

Důležitou skupinu oxidoreduktas tvoří transelektronasy, přenášející elektrony změnou oxidačního stupně kovových iontů v nich přítomných. Nejdůležitější z nich jsou hemové enzymy, obsahující ion železa chelátově vázaný uvnitř porfyrinového kruhu. Patří mezi ně cytochromy a hydroperoxidasy. [40]



Obrázek 16 - Hem

5) Enzymy s lipoátovým kofaktorem

Aktivní částí kofaktoru je cyklický disulfid, vázaný na uhlíkový postranní řetězec tvořící dlouhé ohebné raménko zakončené karboxylem, který umožňuje napojení kofaktoru kovalentní peptidovou vazbou na některou z aminoskupin apoenzymu.

Lipoát zprostředkovává vazbu a přenos vodíku, ale i acylů. V prvním případě vzniká dihydrolipoát, ve druhém acyllipoát, z něhož je pak převáděn acyl na koenzym A. Funkčně tedy patří lipoát mezi oxidoreduktasy i mezi transferasy. Účastní se hlavně komplikovaných reakcí jako oxidační dekarboxylace. [39;40]

Tabulka 4 - Přehled vlastností konzervářsky nejdůležitějších enzymů [13]

Enzymy	Katalyzovaná reakce	Výskyt
1. Redoxasy (oxidoredukční reakce) Askorbasa	oxiduje kyselinu askorbovou, oxidovaná forma přechází zpět na redukovanou nebo se dále oxiduje až na neúčinné složky	ovoce, zelenina, kde v přezrálých plodech rozklad kyseliny askorbové, některé ovoce (šípky, rybíz) obsahují málo askorbasy
Fenoloxidasa (tyrozinasa)	oxiduje fenoly, polyfenoly na tmavě zbarvené chinonové vazby	ovoce, zelenina, houby, některé plísně (Botrytis cinerea - hnědnutí vína)
Glukosooxidasa	katalyzuje rozpad glukózy na kyselinu glukonovou a peroxid vodíku, který se katalázou rozkládá na vodu	z plísně <i>Aspergillus niger</i> příprava technického preparátu k odstranění kyslíku, glukózy (při sušení vaječné hmoty)
Katalasa	rozkládá peroxid vodíku -> voda a molekulární kyslík, který vstupuje do oxidačních reakcí	rostlinné, živočišné orgány a aerobní mikroorganismy, tím se chrání před toxickými účinky peroxidu vodíku
Peroxidasa	rozkládá peroxid vodíku nebo jiné vhodné organické kyseliny	zelenina, zeleninové výrobky, kde způsobuje nežádoucí barvy, chuti, vůně

Enzymy	Katalyzovaná reakce	Výskyt
2. Hydrolasy (amyláza, diastáza)	štěpí amylosu a amylopektin postupně na nižší polysacharidy až na maltózu	ovoce, zelenina, živočichové, mikroorganismy, zkvašuje škrob, odbourává škrob při zrání ovoce
Celulasa	štěpí celulózu (buničinu) na disacharid celobiósu, ta se enzymaticky mění na glukózu	ovoce, zelenina, mikroorganismy, uplatnění při zrání plodů, umožní trávení celulózy v trávicím traktu
Fosfatasa (fosfoesterasa)	estery kyseliny fosforečné a voda -> kyselina fosforečná a alkohol	maso, kde se podílí na přeměně glykogenu během jeho zrání
Fruktosidáza (invertáza, sacharáza)	štěpí sacharózu na cukr invertní, tj. na glukózu fruktózu	ovoce, zelenina při zrání plodů, mikroorganismy (kvasinky), při zkvašování sacharózy na etanol
Glukosidasa (maltasa)	štěpí maltózu na glukózu	rostlinné tkáně, kvasinky, plísně
Lipasy	zmýdelňují tuky, triglycerid mastných kyselin a voda -> mastné kyseliny a glycerín	živočišné produkty, semena rostlin, plísně, způsobují žluknutí tuků, hlavně při zpracování masa
Pektinmethylesterasa (pektáza)	štěpí esterové vazby pektinu, pektin a voda -> kyselina pektinová a metanol	ovoce, ve vylisovaných šťávách spontánní rosolovatění - nepravý rosol, v plísňích, které je produkují, k čiření šťáv
Polygalakturonasa (pektináza)	štěpí řetězce makromolekul pektinu na kratší díly, tím ovoce a zelenina měknou, šťáva ztrácí viskozitu - řídne	rostliny, plísňové preparáty (filtrační enzymy), kde je spolu s předešlým enzymem
Proteolytické enzymy (proteasy)	štěpí bílkoviny na jednodušší látky, peptidy a voda -> aminokyseliny	živočišné, méně rostlinné orgány, účastní se zrání masa, trávení potravin

3 VYBRANÉ KONZERVÁRENSKÉ SUROVINY

Rostlinné produkty konzervované mléčným kvašením jsou typické pro oblast Balkánu, kde se tímto způsobem zpracovává ovoce i zelenina, naopak např. v zemích západní Evropy jsou takto zpracovávané výrobky poměrně neznámé. [41]

V našich podmínkách jsou nejznámějšími výrobky této konzervace mléčně kysané zelí a okurky a houby. Výroba je levná, jednoduchá a výrobky jsou vhodné i pro diabetiky a makrobiotiky. Neobsahují ocet, cukr ani koření, takže jejich konzum odpovídá zásadám správné výživy. [42] Technologie je tradiční a spočívá ve správném vedení kvasného procesu v nakrouhaném, prosoleném, upěchovaném zelí nebo okurkách zalitým slaným nálevem tak, aby se ve zpracovávaném materiálu co nejrychleji vytvořilo dostatečné množství kyseliny mléčné. V konečném produktu by mělo být asi 1,5 % o hodnotě pH 3,4 – 3,5. Uchování takového produktu je poměrně dlouhou dobu při zachování anaerobních podmínek a nízkých teplot (0 – 10 °C). [41]

3.1 Kvašené zelí

Hlávkové zelí (*Brassica oleracea* var. *capitata*) patří mezi košťálovou zeleninu, což jsou dvouleté rostliny, které v prvním roce vytváří konzumní části a ve druhém roce vykvétají a přinášejí semena. Zelí hlávkové se používá k přímé spotřebě nebo se upravuje konzervací mléčným kvašením nebo sterilací. Může být zelí červené nebo bílé. [43]



Obrázek 17 - Hlávkové zelí

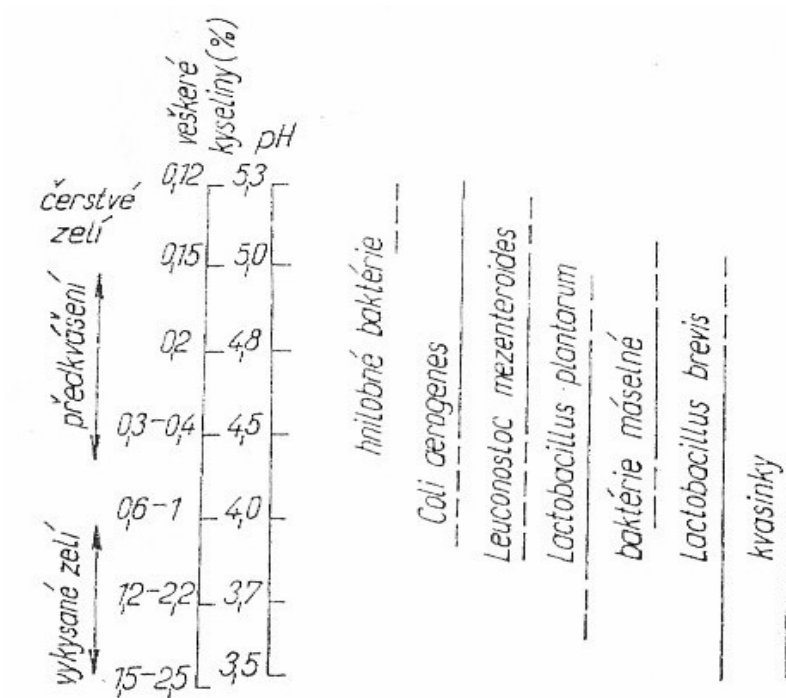
Kysané zelí je trvanlivý výrobek konzervovaný kyselinou mléčnou a jinými zplodinami vzniklými přirozeným mléčným kysáním. Vyrábí se z krouhaného hlávkového zelí zbaveného košťálů s přídavkem soli, kmínu, popřípadě dalších přísad. [13].



Obrázek 18 - Kysané zelí

1) Mléčné kysání

Konzervace zelí a jiných zelenin mléčným kysáním je známa jako jedna z nejstarších konzervačních způsobů. Je to komplexní mikrobiologický pochod, který je ovlivňován mnoha činiteli, jako koncentrace soli, teplota a vyloučení vzduchu. Nakládání do soli a kvašení představují původní metodu konzervace zeleniny zavedenou ještě před pasterací, sterilací s mražením. Po zavedení těchto metod do průmyslové praxe, jako i vytvoření podmínek (vhodné obaly, uzávěry, mrazničky), se využívají oba způsoby i v domácnosti. [44] Přídavkem soli se osmotickou silou uvolňuje buněčná šťáva z krouhaného zelí (tzn. krouhanka) obsahujícího cukry. Mléčné bakterie je za vhodné teploty přeměňují na kyselinu mléčnou. Vedle bakterií mléčného kysání jsou přítomny další četné mikroorganismy, které vytváří alkohol, kyselinu octovou a jiné látky. Různé druhy mikrobů se při mléčném kysání vyvíjí v určitém časovém postupu a podle zvyšující se kyselosti prostředí a hodnoty pH (číselně se však snižují), jak je znázorňuje obrázek. [13]



Obrázek 19 - Obr. Uplatnění mikrobů v různých fázích mléčného kvašení s různou kyselostí a pH prostředí
 ___ optimální vývoj ---mimořádný vývoj [13]

První stupeň pochodů začíná hned po řezání a dusání. Rozvíjejí se zejména aerobní organismy, které spotřebovávají kyslík ze vzduchu a z odumírajících pletiv (mikroorganismy skupiny *Coli aerogenes*). V této fázi se vytváří zejména aromatické a chuťové látky. [6]

V další fázi převládají heterofermentativní mléčné bakterie, které vedle mléčné kyseliny až do 1 % tvoří další již uvedené sloučeniny. Výrazným zástupcem je *Leuconostoc mesenteroides*. Obě fáze trvají až 10 dní podle teploty při kvašení. [13]

Následuje třetí a nejdůležitější stupeň kysání. Převládají zde homofermentativní bakterie, které netvoří plyny ani jiné zplodiny. Hlavním zástupcem je *Lactobacillus plantarum*, v 1 ml zelné šťávy jich bývá až několik miliónů. [44]

V poslední čtvrté fázi převládá *Lactobacillus brevis*, kvasinky a jiné heterofermentativní bakterie. Přeměňují poslední zbytky cukru na kyselinu mléčnou, alkohol a jiné látky. Celý kvasný proces trvá 3 až 6 týdnů. Při teplotě pod 15 °C může trvat i několik měsíců. [13]

2) Technologický postup

Hlávky zelí se odlišťují ručně nebo na speciálním odlišťovači se šnekem. Z hlávek se musí odstranit zvadlé, znečištěné, tvrdé uvolněné listy.

- **Krouhání a strouhání zelí**

Příčné odstranění vyčnívajícího košťálu je nutné vzhledem k jeho častému zahnívání. Očištěné a upravené zelí se vede na řezačky s ostrými nerezovými noži. Řez musí být jemný a 1 až 2 mm tlustý. [42]

- **Solení a dusání zelí**

Zelná krouhanka ve vrstvě 20 až 40 cm se prosolí nejodizovanou solí v množství 1,5 až 2 % na celkovou váhu a udusává se v čistých dřevěných, vhodné jsou železobetonové nádrže opatřené potravinářským nátěrem, v domácnostech to mohou být škopky, kameninové nádoby nebo sklenice od okurek. Během kvašení se tvoří plyny, nejvhodnější způsob odplynění jsou kanálky. Povrch se pokryje nepropustnou fólií z PE, na kterou se nalije 15 až 20cm vrstva vody, která zatěžuje zelí po celé ploše (vyčnívá jen kanálek). [44] Kvašení nejprve probíhá při teplotě 20°C po dobu 4 až 8 dní, potom následuje kvašení při teplotě max. 15 °C, kdy zelí dokvasí za 4 až 6 týdnů. Vykvašené zelí se plní do expedičních obalů. [45]

- **Plnění**

K plnění se používají speciální plničky, které plní odděleně pevný podíl a nálev, kterého může být max. 20 %. Nálev se připravuje ze zelné šťávy, nálevu z octu, soli a kyseliny askorbové. Správně vykvašené zelí je lahodné, obsahuje ještě zbytkový (nezkvašený) cukr a obsah kyselin max. 1,5 %. Zelí není však stabilní a po plnění zvláště do sáčků začíná znovu kvasit. Proto se před plněním nechává dokonale prokvasit, čímž se zvýší jeho trvanlivost na 10 až 14 dní. Další možností je pasterace zelí ve sklenicích při 60 až 65 °C vodní lázni. Pasterací si zelí uchovává své typické vlastnosti až na obsah CO₂ a přitom může obsahovat i vysoký zbytkový cukr. [13]

- **Význam kvašeného zelí**

Zelí je významným zdrojem vitamínu C, stejně jako zelná šťáva, proto se nevykládá, ale používá se jako nálev. Při zvýšených teplotách skladování obsah vitamínu C klesá. Dále zelí obsahuje zdravou kyselinu mléčnou, vlákninu potřebnou pro peristaltiku střev a jejich

vyprazdňování a důležité minerální látky, které jsou uvedeny v tabulce níže. [42]

Minerální látky	Množství [mg.kg ⁻¹] zelí
Vápník - Ca	530
Železo - Fe	8,9
Sodík - Na	150
Hořčík - Mg	160
Fosfor - P	275
Draslík - K	2270
Zinek - Zn	1,9
Jod - I	0,07
Mangan - Mn	4,0
Síra - S	648
Chlor - Cl	296
Měď - Cu	0,1

Tabulka 5 - Minerální látky v bílém zelí [46]

3.2 Kvašené okurky

Okurky (*Cucumis sativus*) jsou plodové zeleniny pocházející z tropických a subtropických krajin, jsou náročné na teplo a dostatek vláhy. Odrůdy se dělí na nakladačky, salátovky, skleníkové, pařeništní. [43]

Výroba těchto okurek se neustále snižuje, protože spotřebitel dává přednost okurkám sterilovaným, které jsou trvanlivější a chutnější. Pokud se nestačí okurky zpracovat sterilací, vyrábějí se z nich kvašené. Oprané okurky se musí píchat, aby při kvašení unikaly snáze plyny a nezpůsobovaly dutost okurek. Okurky se ukládají do sudů nebo kádí, prokládají se koprem, křenem, česnekem popř. jinou zeleninou a kořením. Pak se zalévají slaným nálevem s obsahem 5 až 9 % jedlé nejjodizované soli. Ke zlepšení kvasného procesu se do nálevu přidává kyselina sorbová. Tlumí rozvoj např. nežádoucí kyseliny máselné, propionové nebo mravenčí. Omezuje také tvorbu plynů a měknutí okurek. Optimální přídavek kyseliny je 0,2 až 0,25 % ve formě sorbátu sodného. Vyšší dávky brzdí bakterie mléčného kvašení. Hotové, již vykvašené okurky (asi po dvou týdnech) smí obsahovat max. 0,06 % kyseliny sorbové. Během kvašení teplota nesmí překročit 20 až 25 °C, aby biologický proces neprobíhal příliš

bouřlivě. Okurky se zalévají slankokyselým nálevem (2 % soli, 1 % kyseliny octové), aby nedocházelo k povrchovému hnití, měknutí nebo vláčkovatění nálevu. Napevno je uzavřeme víčkem. Ve sklenicích zůstane konzervující CO₂ a dovnitř nevnikne kyslík pro činnost mikrobů. Takto vyrobené okurky vydrží bez sterilace až do příští sezóny. [13;42]

3.3 Houby

Houbami se v potravinářství rozumí jedlé čerstvé plodnice vyšších hub. Dělí se na čerstvé houby volně rostoucí a čerstvé pěstované. Zástupce hub volně rostoucích je např. ryzec (*Lactaria*), klouzek (*Suillus*), václavka (*Armillaria*) apod. Mezi houby pěstované pak např. žampion dvouvýtrusý (*Agaricus bisporus*), hlíva ústřičná (*Pleurotus ostreatus*). [43]

- **Mléčné kvašení hub**

Mléčné kvašení (silážování) hub je málo používaný, ale výhodný způsob konzervace hub. Umožňuje uchovat houby přes zimu až do jarních měsíců. Používají se jako příloha nebo do zeleninových salátů. Ke kvašení se hodí většina hub, oblíbenější jsou ryzce.



Obrázek 20 - Ryzec pravý (*Lactarius deterrimus*)

Nakrájené očištěné houby blanšírujeme (vaříme) 5 – 8 min ve vřící vodě, pak je ochladíme, abychom odplavili slizovité látky. Do blanšírovací vody je vhodné přidat kyselinu citronovou nebo sůl. [42] Houby vložíme do skleněné nádoby a zalijeme nálevem, do kterého vmícháme 1 lžici zákvasu a to bílý jogurt nebo acidofilní mléko. Nálev si připravíme tak, že na 1 kg hub dáme 0,5 litru předvařené vody, 4 dkg soli a 1,5 dkg cukru. Uvedeným nálevem zalijeme

houby a nádobu uzavřeme víkem s uzávěrem. Houby necháme kvasit 2 – 3 týdny při teplotě 18 °C. Pro zvýšení trvanlivosti se mohou sterilovat při mírném varu po dobu 30 minu. [47]



Obrázek 21 - Sterilované
kvašené houby

3.4 Další kvašená zelenina

Upravená syrová zelenina se v kvašených nádobách (nejlépe v kompotových sklenicích s uzávěrem) zalije nálevem s obsahem soli 3 %. Nejčastěji se kvasí tyto druhy zeleniny:

- Paprikové lusky samostatně nebo plněné kvašeným zelím
- Cibule
- Zelená rajčata
- Květák
- Kořenová zelenina

Kvašená zelenina se konzumuje přímo nebo se z ní připravují nejrůznější směsi např. kvašené zeleninové saláty. [42]

ZÁVĚR

Jelikož se většina druhů potravin řadí mezi potraviny neúdržné, tedy snadno podléhající zkáze, je aplikace metod pro jejich uchovávání (konzervaci) naprosto nezbytná. Cílem mé bakalářské práce bylo vysvětlit podstatu a příčiny neúdržnosti potravin, zabývat se principy zvyšování jejich údržnosti a podat přehled o základních metodách konzervace potravin. Podrobné rozpracování je věnováno konzervačním metodám cestou biologickou a to zejména kvašení mléčnému, octovému a etanolovému. Pozornost byla věnována i nežádoucímu máselnému kvašení.

Kvašení (fermentace) je katabolický proces, který probíhá rozkladem sacharidů bez účasti kyslíku a poskytuje energii. Nejpodrobněji jsem se zaměřila na mechanismus a průběh kvašení mléčného. Je zde ve zkratce popsán mechanismus glykolytického procesu (glykolýzy), který je stejný u etanolového i mléčného kvašení až po vznik kyseliny pyrohroznové. U octového kvašení jsem ve zkratce zmínila průmyslovou výrobu octa. Jednotlivé typy kvašení probíhají podle toho, jaké mikroorganismy jsou přítomny. Naznačila jsem základní charakteristiku nejvýznamnějších bakterií a kvasinek. Každý mikroorganismus je vybaven různými enzymy, které katalyzují nejrůznější chemické reakce. Proto jsem popsala jak základní poznatky o enzymech všeobecně, tak i o enzymech, které se uplatňují v biologických oxidacích. Proces mléčného kvašení je velmi známý v průmyslové výrobě i v domácnostech. Uvedla jsem příklady kvašení vybraných základních konzervařenských surovin, a to konkrétně kvašení zelí, okurek a hub. Technologie výroby je tradiční a spočívá ve správném vedení kvasného procesu v nakrouhaném, prosoleném, upěchovaném zelí nebo okurkách a houbách zalitým slaným nálevem tak, aby se ve zpracovávaném materiálu co nejrychleji vytvořilo dostatečné množství kyseliny mléčné.

V podmínkách ČR se každoročně vyprodukuje stovky tisíc tun rostlinných plodin (ovoce, zeleniny, brambor), avšak došlo ke snížení produkce konzervařenských výrobků v porovnání s podmínkami před rokem 1989. Stále se hledají a rozvíjejí nové konzervační metody, které by byly nejen účinné z hlediska uchovatelnosti potravin a šetrné k jejich nutričním a sensorickým hodnotám, ale i maximálně ekonomicky prospěšné. Je zřejmé, že problém konzervování potravin bude člověka provázet neustále. Základním požadavkem je, aby se kvantitativní i kvalitativní ztráty neúdržných potravin minimalizovaly a aby se k této činnosti maximálně využívaly poznatky biologické, chemické, technické i ekonomické.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Ingr, I., *Základy konzervace potravin*. 1. vyd. Mendeleova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 1999. ISBN 80-7157-849-5 s. 130
- [2] Hrabě, J., Rop, O., Hoza, I., *Technologie potravin rostlinného původu*. 1. vyd. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. 2006. ISBN 80-7318-372-2 s. 182
- [3] Vyhláška č. 132/2004 Sb. O mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobů jejich kontroly a hodnocení.
- [4] Vyhláška č. 305/20004 Sb., kterou se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky významných látek a jejich přípustné množství potravinách
- [5] Čepička, J. a kolektiv, *Obecná potravinářská technologie*. 1. vyd. VŠCHT Praha. 1995. ISBN 80-7080-239-1 s. 246
- [6] Kyzlink, V., *Základy konzervace potravin*. 2. vyd. Státní nakladatelství technické literatury. Praha. 1980. s. 516
- [7] Velíšek, J., *Chemie potravin II*. 2. vyd. OSSIS. Tábor. 1999. ISBN 80-902391-4-5. s. 328
- [8] Kopec, K., *Uskladňovanie záhradníckych plodín*, 2. vyd. Priroda, Bratislava. 1977. s. 318
- [9] Čechová, L., Janalíková M., *Obecná mikrobiologie*. 1. vyd. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. 2007. ISBN 978-80-7318-516-9 s. 190
- [10] Ilčík, F., Vagunda, J., Čurdová, M., *Technologie konzervárenství*. 1. vyd. Nakladatelství technické literatury. Praha. 1980. s. 216
- [11] Rop, O., Hrabě, J., *Nealkoholické a alkoholické nápoje*. 1. vyd. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. 2009. ISBN 978-80-7318-748-4 s. 129
- [12] Kopec, K., Balík, J., *Kvalitologie zahradnických produktů*. 1. vyd. Mendeleova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 2008. ISBN 978-80-7375-198-2 s. 171
- [13] Balaščík, J., *Konzervace ovoce a zeleniny*. 1. vyd. Státní nakladatelství technické literatury. Praha. 1975. s. 360

- [14] Vodrážka, Z., *Biochemie 3*. 1 vyd. Academica. Praha. 1993. ISBN 80-200-0441-6 s. 191
- [15] Campbell, N., Reece, J., *Biologie*. 1. vyd. Computer Press. Brno. 2006. ISBN 80-251-1178-4 s. 1332
- [16] Dostál, J., Paulová, H., Slanina, J., Táborská E., *Biochemie pro bakaláře*. 1. vyd. Masarykova univerzita. Brno. 2003. ISBN 80-210-3232-4 s. 173
- [17] Aiba, S., Humphrey, A., Millis, N., *Biochemical Engineering*. 1. vyd. Univerzity of Tokyo. Japan. 1965. s. 380
- [18] Drdák, M., Studnický, J., Mórová, E., Karovičová J., *Základy potravinářských technologií*. 1. vyd. Malé centrum. Bratislava. 1996. ISBN 80-967064-1-1 s.495
- [19] Odstrčil, J., Odstrčilová, M., *Chemie potravin*. 1. vyd. Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů. Brno. 2006. ISBN 80-7013-435-6 s. 164
- [20] Rychtera, M., Uher, J., Páca, J., *Lihovarství, droždářství a vinařství*. 1. vyd. Státní nakladatelství technické literatury. Praha. 1986. ISBN 80-7080-117-4 s. 284
- [21] Kadlec, P., *Technologie potravin II*. 1. vyd. VŠCHT. Praha. 2007. ISBN 80-7080-510-2 s. 236
- [22] Kružliak, P., Schaller, R., Forró, A., *Potraviný a nápoje*. 5. vyd. Merkur. Praha. 1995. ISBN 80-7032-722-7 s.
- [23] Šilhánková, L., *Mikrobiologie pro potravináře*, 1. vyd. Státní nakladatelství technické literatury. Praha. 1983 s. 304
- [24] Iburg, A., *Lexikon octů a olejů*. 1. vyd. Rebo productions CZ. Dobřejovice. 2004. ISBN 80-7234-382-3
- [25] Görner, F., Valík, L., *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*. 1. vyd. Malé centrum, Bratislava. 2004. ISBN 80-967064-9-7 s. 528
- [26] Zelinka, J., *Bakteriálne a plesňové fermentace*. 1. vyd. Vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied Bratislava. 1960. s. 360
- [27] Rosypal, S., *Nový přehled biologie*. 1. vyd. Scientica, spol. s.r.o., pedagogické nakladatelství. Praha 2003. ISBN 80-7183-268-5 s. 797

- [28] Rosypal, S., Hoďák, K., Martinec, T., Kocur, M. *Obscná bakteriologie*. 1. vyd. Státní pedagogické nakladatelství. Praha. 1981. s. 749
- [29] Kolář, M. a spol., *Microbiology II*. 1. vyd, Univerzita Palackého v Olomouci. 2002. ISBN 80-244-0503-2 s. 84
- [30] Klaban, V., *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. 1. vyd. Nakladatelství Galén. 2005. ISBN 80-7262-341-9 s. 654
- [31] Masák, J., Pelechová J., Plachý J., *Speciální mikrobiální technologie*. 1. vyd. VŠCHT. Praha. 1992. ISBN 80-7080-142-5 s.
- [32] Ledvina, M., *Biochemie*. 1. vyd. Nakladatelství Gaudeamus. Hradec Králové. 1998. ISBN 80-7041-962-8 s. 273
- [33] Vodrážka, Z., Rauch, P, Káš, J., *Enzymologie*. 2. vyd. Praha. 1991. ISBN 80-7080-124-7 s. 245
- [34] Haľama, D., Drobica, E., Brozmanová, J., Hromec, M., Hronček, J. *Technická mikrobiológia*. 1. vyd. Slovenské vydavateľstvo technickej literatúry Bratislava. 1967. ISBN 63-004-68 s. 332
- [35] Ruttloff, H., Huber, J., Zickler, F., Mangold K.-H., *Industrielle enzyme*. 1. aufl. Steinkopff. Darmstadt. 1978. ISBN 3798505128 s. 407
- [36] Šicho, V., Vodrážka Z., Králová, B., *Potravinářská biochemie*. 2. vyd. Státní nakladatelství technické literatury. Praha. 1981. s. 360
- [37] Kodlíček, M., *Biochemické pojmy, výkladový slovník*. 1. vyd. VŠCHT. Praha. 2004. ISBN 80-7080-551. s. 171
- [38] Karlson, P., *Základy biochemie*. 1. vyd. Academia. Praha. 1965. s. 444
- [39] Murray, R., Granner, D., Mayes, P., Rodwell, V., *Harper's Biochemistry*, [elektronický zdroj] 26. vyd. McGraw-Hill. London. 2003. ISBN 978-0-07-138901-3 s. 693
- [40] Hoza, I., Kramářová D., Budínský, P., *Biochemie II*. 1. vyd. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. 2006. ISBN 978-80-7318-496-4 s. 150
- [41] Kadlec, P., *Technologie potravin I*. 1. vyd. VŠCHT. Praha. 2007. ISBN 80-7080-509-9 s. 300

- [42] Balaščík, J., *Konzervování v domácnosti*. 1. vyd. Boma Print. Kyjov. 2001. ISBN 80-86528-07-3 s. 229
- [43] Rop, O., Valášek P., Hoza, I., *Teoretické principy konzervace I*. 1. vyd. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. 2005. ISBN 80-7318-339-0 s. 130
- [44] Drdák, M., *Technológia rastlinných neúdržných potravín*. 1. vyd. Alfa. Bratislava. 1989. ISBN 80-05-00121-5 s. 304
- [45] Vlachová, L., *Zavařujeme ovoce, zeleninu a houby*. 1. vyd. Merkur. Praha. 1986. s. 282
- [46] Kopec, K., *Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny*. 1. vyd. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 2001. ISBN 80-86153-64-9 s. 72
- [47] Kosek, Oldřich: *100 a 1 jídel z hub a na houbách*. Merkur. Praha. 1983. ISBN 80-51-407-83

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

pH	kyselost
H ₂	vodík
a _w	vodní aktivita
CO ₂	oxid uhličitý
H ₂ S	kyselina sirovodíková
NH ₃	amoniak
UV	ultrafialové záření
O ₂	kyslík
ATP	adenosin trifosfát
NAD	nikotinamid adenin dinukleotid
NADH	redukováná forma NAD
EMP	Embden-Mayerhof-Parnasova dráha
NH ₄ ⁺	amonný iont
Ktj.	kolonii tvořící jednotka
CoA	koenzym A
NADP	nikotinamid adenin dinukleotid fosfát
FMN	flavin mono nukleotid
FAD	flavin adenin dinukleotid
B ₂	riboflavin
CoQ	koenzym Q (ubichinon)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 - Ukázka kontaminace masa.....	10
Obrázek 2 - Ukázka barevných změn ovoce.....	12
Obrázek 3 - Spory rodu <i>Clostridium</i>	17
Obrázek 4 - <i>Aspergillus sp.</i> - významný producent mykotoxinů.....	18
Obrázek 5 - <i>Penicillium expansum</i> na nektarince.....	19
Obrázek 6 - Symbol potravin ozážených ionizujícím zářením.....	23
Obrázek 7 - Maso konzervované uzením.....	25
Obrázek 8 - Sýr vyrobený mléčným kvašením.....	25
Obrázek 9 - Glykolysa [16].....	29
Obrázek 10 - Rod <i>Lactobacillus sp.</i>	37
Obrázek 11 - <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	40
Obrázek 12 - <i>Clostridium butyricum</i>	41
Obrázek 13 - NAD a NADP.....	45
Obrázek 14 - FMN a FAD.....	46
Obrázek 15 - Ubichinon.....	47
Obrázek 16 - Hem.....	47
Obrázek 17 - Hlávkové zelí.....	50
Obrázek 18 - Kysané zelí.....	51
Obrázek 19 - Uplatnění mikrobů v různých fázích mléčného kvašení s různou kyselostí a pH prostředí ____ optimální vývoj ---- mimořádný vývoj.....	52
Obrázek 20 - Ryzec pravý (<i>Lactarius deterrimus</i>).....	55
Obrázek 21 - Sterilované kvašené houby.....	56

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 - Hodnoty pH vybraných druhů ovoce a zeleniny [8].....	13
Tabulka 2 - Nejznámější typy fermentace [14].....	26
Tabulka 3 - Přehled některých průmyslově důležitých mikroorganismů [14].....	42
Tabulka 4 - Přehled vlastností konzervářsky nejdůležitějších enzymů [13].....	48
Tabulka 5 - Minerální látky v bílém zelí [46].....	54