

**Změna vybraných parametrů přírodního sýra s přídavkem
dekarboxyláza pozitivního kmene *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris***

Simona Maděrová

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Simona Maděrová**
Osobní číslo: **T10064**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Změna vybraných parametrů přírodního sýra s
přídavkem dekarboxyláza pozitivního kmene
Lactococcus lactis subsp. cremoris**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Stručně charakterizujte výrobu sýrů holandského typu.
2. Popište proteolytické procesy v průběhu zrání polotvrdých a tvrdých přírodních sýrů.
3. Charakterizujte změny texturních vlastností v průběhu zrání přírodních sýrů.

II. Praktická část

1. Sledujte změny texturních vlastností a změny obsahu volných aminokyselin v průběhu zrání.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] WEIMER, Edited by Bart C. Improving the flavour of cheese. Cambridge: Woodhead publ, 2007. ISBN 978-184-5690-076.

[2] FOX, P. Fundamentals of cheese science. Gaithersburg, MD: Aspen Pub., 2000, ix, 587 p. ISBN 08-342-1260-9.

[3] FOX, P a P MCSWEENEY. Dairy chemistry and biochemistry. 1st ed. New York: Blackie Academic, 1998, xiv, 478 p. ISBN 04-127-2000-0.

[4] KADLEC, Pavel. Technologie potravin II. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2002, 236 s. ISBN 80-708-0510-2.

[5] DRDÁK, M. Základy potravinářských technologií. Bratislava: Malé centrum, 1996, 511 s. ISBN 80-967-0641-1.

[6] BUŇKA, F. Technologie mléka a mléčných výrobků (přednášky) Zlín: UTB, září - prosinec 2012.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Radka Flasarová

Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

16. ledna 2013

Termín odevzdání bakalářské práce:

2. května 2013

Ve Zlíně dne 4. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan





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

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně dne 10. května 2013



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Cílem této bakalářské práce bylo sledování texturních parametrů a změny obsahu volných aminokyselin v průběhu zrání laboratorně vyrobených sýrů za použití komerční smetanové kultury a sýrů s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene. Sýry byly skladovány po dobu 2 měsíců při 10 ± 2 °C. U všech vzorků byla provedena základní chemická analýza (obsah sušiny, NaCl, pH), texturní profilová analýza (tvrdost, lepivost, kohezivnost) a stanovení obsahu volných aminokyselin pomocí Automatického analyzátoru aminokyselin AAA 400.

V průběhu zrání se obsah volných aminokyselin zvyšoval, díky probíhající proteolýze. Nejvyšší koncentrace volných aminokyselin byly zpozorovány u sýrů s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene s nízkým obsahem NaCl, přičemž nejvyšší naměřené celkové koncentrace aminokyselin činila na konci doby skladování $45,6 \pm 0,2$ g.kg⁻¹. Nejvíce detekovanou volnou aminokyselinou byl leucin, jehož nejvyšší hodnota na konci zrání dosahovala hodnoty $10,3 \pm 0,1$ g.kg⁻¹.

Klíčová slova: sýry holandského typu, texturní profilová analýza, proteolýza, volné aminokyseliny

ABSTRACT

The aim of this thesis were monitoring of texture profile analysis and free amino acids content changes in laboratory produced cheeses during ripening using commercial starter culture and cheeses with positive decarboxylase activity microorganism addition. Cheeses were stored 2 months at 10 ± 2 °C. Chemical basic analysis (dry matter content, NaCl content, pH), texture profile analysis (hardness, adhesiveness, cohesiveness) and free amino acid detection using Automatic analyzer amine acids AAA 400 were made in all samples.

The total concentrations of free amino acids were increased during ripening due to current proteolysis in cheese. The highest total free amino acid amounts were detected in cheeses with positive decarboxylation microorganism addition with low NaCl content and the amount at the end of ripening was 45.6 ± 0.2 g.kg⁻¹. The most detected free amino acid was leucin and its concentration at the end of storage reached 10.3 ± 0.1 g.kg⁻¹.

Keywords: Dutch – type cheese, texture profile analysis, proteolysis, free amino acids

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí práce Ing. Radce Flasarové za odborné vedení, rady a připomínky při zpracování mé bakalářské práce.

Dále chci poděkovat doc. Ing. Františkovi Buňkovi, Ph.D. za konzultaci a pomoc při bakalářské práci.

Motto:

„Neříkej, že nemůžeš, když nechceš! Přijdou dny, kdy to bude daleko složitější a horší: budeš chtít a nebudeš moci.“

Jan Werich

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

Ve Zlíně 10. května 2013



OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 SÝRY HOLANDSKÉHO TYPU	11
1.1 VÝROBA SÝRŮ HOLANDSKÉHO TYPU	12
1.2 PROCESY PROBÍHAJÍCÍ PŘI ZRÁNÍ SÝRŮ HOLANDSKÉHO TYPU	14
2 VOLNÉ AMINOKYSELINY	17
2.1 METABOLISMUS AMINOKYSELIN	17
3 TEXTURNÍ VLASTNOSTI SÝRŮ HOLANDSKÉHO TYPU	19
II PRAKTICKÁ ČÁST	21
4 CÍL PRÁCE	22
5 MATERIÁL A METODIKA	23
5.1 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ.....	23
5.2 VÝROBA SÝRŮ.....	23
5.3 ZÁKLADNÍ CHEMICKÁ ANALÝZA	25
5.4 EXTRAKCE A STANOVENÍ VOLNÝCH AMINOKYSELIN	25
5.5 TEXTURNÍ PROFILOVÁ ANALÝZA	26
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	27
6.1 ZÁKLADNÍ CHEMICKÁ ANALÝZA	27
6.2 STANOVENÍ VOLNÝCH AMINOKYSELIN	32
6.3 TEXTURNÍ PROFILOVÁ ANALÝZA	34
6.4 DISKUZE.....	39
ZÁVĚR	41
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	42
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	46
SEZNAM OBRÁZKŮ	47
SEZNAM TABULEK	48
SEZNAM PŘÍLOH	49
PŘÍLOHA I: UKÁZKA JEDNOTLIVÝCH KROKŮ LABORATORNÍ VÝROBY SÝRŮ HOLANDSKÉHO TYPU	50

ÚVOD

Sýr je velmi zajímavou potravinou nejen proto, že existuje v mnoha rozmanitých variantách, které mu udávají specifickou chuť, ale také díky obsahu významných nutričních látek, jako jsou například esenciální aminokyseliny, nasycené a nenasycené tuky, minerální látky, ale také vitamíny [1, 2]. Český statistický úřad uvádí, že v letech 2003 – 2011 vzrostla v České republice spotřeba přírodních sýrů z 8,7 kg na 10,9 kg na 1 osobu za rok [3]. K velmi oblíbeným a často vyhledávaným přírodním sýrům v České republice patří již tradičně sýry holandského typu, kde nejvýznamnějším českým zástupcem je Eidam. Mezi nejčastější zástupce holandského typu ve světě patří zejména Edam a Gouda [1].

Mnoho současných sýrů se začalo vyrábět už ve středověku. Již od konce 17. století se dva hlavní typy holandských sýrů Edam a Gouda rozvážely loděmi téměř do celého světa. Obchod s holandskými sýry dosáhl brzy velkého rozkvětu. Sýr Gouda, jehož jméno je odvozeno od městečka Goudy v Nizozemsku, vznikl v roce 1697. Sýr Gouda je dodnes nejznámějším nizozemským sýrem jak v České republice, tak v zahraničí [2].

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 SÝRY HOLANDESKÉHO TYPU

Sýry byly nejen v minulosti, ale i v současné době neustále jsou nepostradatelnou složkou stravy [4]. Vyhláška 77/2003 Sb. udává, že sýr je mléčný výrobek vyrobený vysrážením mléčné bílkoviny z mléka působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel, prokysáním a oddělením podílu syrovátky [5].

Z nutričního hlediska jsou sýry plnohodnotnými výrobky obsahující všechny esenciální aminokyseliny a jsou také zpravidla bohatší na bílkoviny než maso a masné výrobky. Mléko jako vstupní surovina pro výrobu sýrů obsahuje nasycené a nenasycené mastné kyseliny, nejznámější jsou například kyselina olejová, palmitová, myristová, stearová, palmitolejová a další. Kromě bílkovin, sacharidů (zejména laktóza) a lipidů obsahuje mléko také vitamíny a minerální látky. V mléčných výrobcích je obsažen zejména vitamín A a D, všechny druhy vitamínu skupiny B. Mezi významné minerální látky obsažené v mléce a v mléčných produktech patří draslík, vápník, fosfor, sodík [6 - 10].

Velkou výhodou zpracování mléka na sýry je zejména jejich delší trvanlivost. Prodloužení trvanlivosti spočívá ve fermentaci laktózy především na kyselinu mléčnou, čímž zároveň dochází ke snížení pH sýra z hodnoty pH ~ 6,2 na pH 4,5 – 5,0, a tak se vytváří nevhodné prostředí pro růst některých kontaminujících mikroorganismů. Další výhodou zpracování mléka na sýry je to, že jsou v nich koncentrovány nutričně nejcennější složky mléka [11].

Sýry holandského typu se dle vyhlášky 77/2003 Sb. řadí do skupiny přírodních sýrů, které mohou být děleny dle obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra na [5]:

- extra tvrdé (obsah vody max. 47,0 %),
- tvrdé (obsah vody 47,0 – 54,9 %),
- polotvrdé (obsah vody 55,0 – 61,9 %),
- poloměkké (obsah vody 62,0 – 68,0 %),
- měkké (obsah vody více než 68,0 %).

Obsah vody v tukuprosté hmotě sýra (VVTPH) lze vypočítat dle vzorce [5]:

$$\%VVTPH = \frac{g(\text{voda})}{100 - g(\text{tuk})} \cdot 100$$

1.1 Výroba sýrů holandského typu

Výroba sýrů holandského typu je založena na tvorbě sýřeniny a jejím dalším zpracování [6, 11 – 12]. Prvním krokem samotné výroby sýrů je výběr mléka o vysoké mikrobiální a chemické kvalitě. Mikrobiologická jakost syrového mléka má vliv nejen na trvanlivost konečného výrobku, ale také na technologické vlastnosti surovin během samotné výroby. Dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 udává hodnocení mikrobiální kvality mléka, kde je sledován zejména počet celkových mikroorganismů (do 100 tis. v 1 ml) a somatických buněk (do 400 tis. v 1 ml), dále jsou stanoveny hodnoty koliformních bakterií (nejvýše 1 tis. v 1 ml), výskyt termorezistentních mikroorganismů (do 2 tis. v 1 ml), sporotvorných anaerobních bakterií a psychrotrofních mikroorganismů (do 50 tis. v 1 ml) [13]. Tato mikrobiální kvalita může být výrazně ovlivněna hygienou při dojení mléka, jeho následným zchlazením a skladováním do doby jeho použití při teplotě menší jak 4 °C [5]. Mezi základní úpravy mléka může patřit filtrace, která slouží k odstranění povrchových nečistot mléka. V závislosti na technologickém procesu může být použita baktofugace, přičemž účelem je pokud možno odstranit co nejvíce mikroorganismů a jejich vegetativních spor [14]. Po provedení základních ošetření mléka následuje odstředění mléka, které je nejčastěji prováděno v bubnových odstředivkách, jejichž účelem je získání mléka s minimálním obsahem tuku 0,03 – 0,05 % a smetana o obsahu tuku 35 – 45 %. Po získání odtučněného mléka a smetany se provádí standardizace, a to smícháním odstředěného mléka a smetany v daném poměru, který udává konečnou požadovanou tučnost sýra [6, 14 - 16].

Dalším krokem technologie výroby sýrů může být tepelné ošetření mléka, avšak tento krok nemusí být podmínkou, protože některé konkrétní druhy sýrů mohou být vyráběny z nepasterovaného mléka, např. některé typy sýru Gouda. Syrové mléko může obsahovat patogenní mikroorganismy (např. *Enterobacteriaceae* a stafylokoky) a použití tepelně neošetřeného mléka obsahující patogenní mikroorganismy by mohlo vést k řadě technologických problémů či znehodnocení konečného výrobku v průběhu zrání (duření sýrů, síťovitost, netypické děrování, hořká chuť sýrů, tvarohovitost sýrů, a další), a v neposlední řadě ohrožení zdraví konzumenta. Z toho důvodu se velmi často provádí tepelné ošetření mléka, tzv. šetrná pasterace. Šetrná pasterace mléka probíhá dle Vyhlášky 77/2003 Sb. obvykle po dobu 15 s při teplotě 71,7 °C [5]. Cílem šetrné pasterace je zničení patogenních a sporotvorných mikroorganismů, a dále zachování aktivity laktoperoxidázy. Pasterace mléka mů-

že být v závislosti na technologickém postupu konkrétního výrobce řazena již před samotnou standardizací [5 - 6, 11, 17 - 18].

Po provedení tepelného ošetření mléka a zchlazení na teplotu 32 °C následuje před samotným sýřením inokulace kyselými kulturami. Tyto kyselé kultury jsou zodpovědné za fermentaci laktózy za současného vzniku kyseliny mléčné, uplatnění proteolytické a lipolytické aktivity v průběhu zrání vedoucí ke vzniku sensoricky významných látek (vytvoření aroma a chuti). Tyto kultury mají také vliv na konečnou texturu a konzistenci sýrů. Biochemické procesy během zrání sýrů jsou blíže specifikovány v kapitole 1.2 Procesy probíhající při zrání sýrů holandského typu. K výrobě sýrů holandského typu je převážně používána smetanová kultura, která nejčastěji složena z mikroorganismů rodu *Lactococcus*, konkrétně *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* nebo *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, dále mohou být používány mikroorganismy rodu *Lactobacillus* a *Streptococcus* [6, 9, 11, 14 - 16, 18 - 20].

Při výrobě sýrů holandského typu se zpravidla provádí enzymatické neboli sladké srážení. Podstatou sladkého srážení je působení proteolytických enzymů (syřidel) na strukturu kaseinu. Syřidla se podle původu dělí na živočišná a mikrobiální. Dříve byl jako syřidlo používán převážně chymozin, který je získáván extrakcí z telecích žaludků. Vzhledem k jeho nedostatku díky rostoucímu sýrařskému průmyslu je v současnosti chymozin nahrazován syřidlovými preparáty, např. preparáty izolované z plísní (*Rhizomucor miehei*) nebo vnesením genu pro tvorbu chymozinu do produkčního mikroorganismu (*Escherichia coli*, *Aspergillus niger*), tzv. rekombinantní chymozin. Syřidlové enzymy působí na mléčnou bílkovinu ve třech fázích. V primární fázi sýření dochází k enzymovému štěpení specifické peptidové vazby, konkrétně mezi 105. a 106. aminokyselinou (Phe – Met) v kaseinové frakci κ , ze které tak vznikne hydrofobní para – κ - kasein a hydrofilní glykomakropeptid (GMP). V sekundární fázi, označované také jako koagulační fáze, vzniká trojrozměrný gel. Dochází ke smršťování sýřeniny tzv. synerezi za současného uvolňování syrovátky. Nezbytnou podmínkou k tvorbě gelu je přítomnost vápenatých iontů a teplota vyšší jak 15 °C. Při terciární fázi probíhá další působení proteolytických enzymů během následného zpracování koagulátu až do průběhu zrání sýrů. V průběhu terciární fáze mohou vznikat i tzv. hořké peptidy, které by mohly mít negativní vliv na sensorickou jakost sýra. Sýření u polotvrdých sýrů probíhá obvykle v rozmezí 35 – 40 minut při teplotě okolo 32 °C. Po uplynutí doby sýření je sýřenina krájena pomocí sýrařských harf (kovové rámy vyplněné svislými a podélnými kovovými noži). Takto rozkrájená sýřenina je míchána za současného vzniku

sýrových zrn a oddělení syrovátky. Míchání probíhá zpočátku šetrně kvůli nebezpečí vzniku sýrařského prachu. Zrno by mělo být v neustálém pohybu, čímž se zvyšuje pevnost pokožky, postupně se zmenšuje jeho velikost, a zvyšuje se i tuhost sýrového zrna. Sýry holandského typu patří do skupiny sýrů s nízkodohřivanou sýřeninou. Vzniklá sýrová zrna jsou dohřívána tzv. prací vodou o teplotě 80 – 90 °C za účelem zvýšení teploty zrna na 38 – 42 °C, přičemž proces dohřívání trvá zpravidla 60 minut. Cílem dohřívání je zejména vytužování zrna pro dosažení požadované sušiny konečného výrobku [4, 8 - 9, 11, 14 - 21].

Po dohřívání sýřeniny nastupuje dosoušení, které probíhá za stálého míchání sýrových zrn, čímž dochází k pozvolnému snižování teploty. Doba pro dosoušení nízkodohřivaných sýrů činí 20 - 30 minut. Po ukončení procesu dohřívání jsou zrna souběžně se syrovátkou vypouštěna do forem, kde dochází k jejímu samovolnému odkapávání. Po vypuštění zrn do forem nastává postupné lisování sýrů s narůstajícím tlakem (nejčastěji 25 – 55 kPa) po dobu 1 až 20 hodin (v závislosti na technologii výroby, velikosti sýra, druhu sýra). Cílem lisování je rychlejší odkap syrovátky a dosažení požadované sušiny sýra. Po uplynutí doby lisování jsou sýry po vyjmutí z forem ponořeny do solné lázně. Solná lázeň má pro sýry holandského typu koncentraci okolo 18 – 22 %, čímž konečná hodnota NaCl v sýru je zpravidla 1,5 – 3 %. Po nasolení a krátkém okapání jsou sýry baleny do ochranných obalů. Jako ochranné obaly se nejčastěji používají polopropustné fólie, u některých konkrétních druhů sýrů jsou sýry zalévány voskem. Takto připravené sýry jsou nechány ve zracích sklepech, sýry holandského typu zrají ve zracích sklepech po dobu zpravidla 6 – 8 týdnů při optimální teplotě 8 ± 2 °C a relativní vlhkosti vzduchu 60 – 90 % [4, 8, 11, 14 - 21].

1.2 Procesy probíhající při zrání sýrů holandského typu

Zrání sýrů je komplex fyzikálních, chemických a hlavně biochemických přeměn, jejichž výsledkem je vznik sensoricky aktivních látek a typických vlastností sýra (barva, konzistence, chuť, vůně). Probíhající biochemické procesy lze rozdělit na:

- a) Rozklad laktózy na kyselinu mléčnou a její následné reakce – Tento proces rozkladu laktózy je díky působení kyselých bakterií mléčného kvašení. U většiny sýrů je proces fermentace laktózy zahájen již při formování sýra a jeho lisování. Rozklad laktózy je zpravidla ukončen do 24 hodin od počátku výroby sýrů. Vzniklá kyselina mléčná má za následek okyselení sýra (pH = 4,5 – 5,0), čímž zároveň vytváří nevhodné podmínky pro růst nežádoucích mikroorganismů. Ke snížení kyselosti sýra přispívá i reakce kyseliny mléčné s rozkladnými produkty bílkovin (za vzniku acetátu, ace-

taldehydu, aminokyselin, propionátu), ale také její mikrobiální přeměnou na jiné produkty, např. kyselina propionová, octová a oxid uhličitý, který má za následek vytvoření ok, u sýrů holandského typu je požadováno 3 až 5 ok v nákroji. Vzniklá kyselina mléčná reaguje s uvolněným vápníkem z kaseinu a vzniká tak mléčnan vápenatý. Mléčnan u některých sýrů slouží jako substrát pro další kultury v pozdějším stádiu zrání (např. propionové kvašení u sýrů ementálského typu). Dále může být mléčnan vápenatý rozkládán při máselném kvašení za vzniku vodíku, oxidu uhličitého a těkavých mastných kyselin. Vzniklý vodík má nízkou rozpustnost v sýřenině a jeho tvorba vede k popraskání sýrů, tzv. pozdní duření [6 – 9, 11, 14 – 21].

- b) Lipolýza – Je hlavní biochemická reakce triacylglycerolů (více jak 98 % je vázáno v mléčném tuku), která vede ke vzniku volných mastných kyselin, mono- a di-glyceridů, a někdy až vznik glycerolu. Během zrání sýra vyrobeného z pasterovaného mléka je lipolýza zprostředkována činností startérových kultur a přítomné zbytkové mléčné lipázy. Tato reakce je velmi ovlivněna mikroflórou mléka a pro její vhodný průběh by měly být díky šetrné pasteraci odstraněny zejména psychotropní mikroorganismy a mikroorganismy zajišťující růst plísní na povrchu sýra během zrání. Enzymy produkované startérovými kulturami mají velmi malou aktivitu z hlediska tvorby triacylglycerolů, ale jsou schopny produkovat volné mastné kyseliny z mono- a di-glyceridů, které jsou tvořeny zejména pomocí mléčné lipázy nebo jinými mikrobiálními lipázami. Aktivita mléčné lipázy je ovlivněna nejen obsahem NaCl v sýru a hodnotou pH, ale také s rostoucí teplotou její aktivita roste. Hydrolyza triacylglycerolů může být uskutečněna dvěma typy hydrolytických enzymů, a to esterázou a lipázou, které jsou v mléce přítomny. Rozdíl mezi těmito dvěma enzymy je jejich působení na mastné kyseliny o různé délce řetězce. Esterázy se podílí na odštěpení mastných kyselin obsahujících 10 a méně uhlíků v řetězci, zatímco lipázy hydrolyzují mastné kyseliny s větší délkou řetězce (více jak 10 uhlíků v řetězci). Aktivitu enzymů ovlivňuje membrána na povrchu tukové kuličky, která je tvořena proteiny a fosfoproteiny. Tato membrána má za následek nízké povrchové napětí tukové kuličky, které působení enzymů omezí. Jestliže se membrána poruší (např. stlačením tukové kuličky), nastane zvýšení povrchového napětí a lipolytické enzymy mohou proniknout skrz membránu do tukové kuličky, kde štěpí přítomný mléčný tuk. Tento proces je u sýrů holandského typu do určité míry žádaný, protože vzniklé volné mastné kyseliny jsou

senzoricky významné látky, které se podílí na konečném aroma sýrů a jsou také prekurzory potřebnými pro produkci těkavých chuťových látek, přičemž každá vzniklá volná mastná kyselina má svou specifickou chuť [6 - 9, 11, 14 - 21].

- c) Proteolýza – rozklad bílkovin, na kterém se podílí syřidlo, proteolytické enzymy z BMK a nativní proteasa mléka plasmin. Většina množství syřidla přidaného na počátku výroby sýrů odchází spolu se syrovátkou, ale menší část je zadržena v sýřenině (u sýrů holandského typu je v sýřenině zadrženo přibližně 6 % srážecího činidla), kde má významnou roli při proteolýze.

Samotné mléko obsahuje několik původních proteináz např. plasmin. Optimální aktivita plasminu je při pH 7,5 a teplotě 37 °C. Plasmin je velmi odolný vůči tepelnému ošetření mléka a zároveň vyšším teplotám při dohřívání sýrů. Dalšími proteolytickými enzymy v mléce jsou například trombin a proteinázy z leukocytů. Působením proteolytických enzymů a syřidla dochází k postupnému rozkladu bílkovin za vzniku vysokomolekulárních peptidů, které mohou být následně rozkládány na nízkomolekulární peptidy či jejich následné štěpení až na dipeptidy a aminokyseliny [6 - 9, 11, 14 - 21]. Proteolytické enzymy kyselých bakterií mléčného kvašení (BMK) mají poměrně nízkou aktivitu, ale jsou složeny proteinázou a širokým spektrem peptidáz, které jsou zodpovědné za vytváření nízkomolekulárních peptidů a aminokyselin v sýru. Proteináza LAB je umístěna v buněčné membráně. Oligopeptidy produkované proteinázou se aktivním transportem dostanou do buňky, kde jsou dále hydrolyzovány peptidázami, které se vyskytují uvnitř buněk. Čisté mlékařské kultury, které jsou používány jako kyselá kultura při výrobě sýrů holandského typu (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*), obsahují např. endopeptidázy, aminopeptidázy, dipeptidázy a tripeptidázy [6 - 9, 11, 14 - 21].

U některých typů sýrů při delší době zrání mohou aminokyseliny dále reagovat za vzniku amoniaku, sirovodíku, vody a dalších látek. Míra degradace bílkovin se posuzuje rozsahem zrání a hloubkou zrání, kde rozsah zrání je podíl obsahu rozpustného dusíku k celkovému obsahu dusíku a hloubka zrání je množství volných aminokyselin a produktů jejich rozkladu k celkovému obsahu dusíku. Proteolýza a její produkty jsou zodpovědné za řadu texturních změn (např. tvrdost, pružnost, soudržnost, roztažnost), ale také za vytvoření specifické chuti a aroma [8 - 9, 11, 14 - 21].

2 VOLNÉ AMINOKYSELINY

Aminokyseliny se v potravinách nacházejí jako stavební jednotky bílkovin a peptidů, ale v malé míře se mohou vyskytovat také jako volné látky. Ve většině potravin bývá přibližně 99 % aminokyselin vázáno v bílkovinách a peptidech a pouze asi 1 % představují volné aminokyseliny. Aminokyseliny společně s peptidy mají velký vliv na organoleptické vlastnosti potravin, a produkty jejich reakcí jsou významné sensorické látky. Větší množství volných aminokyselin bývá obsaženo zejména v potravinách, ve kterých probíhá při jejich výrobě a skladování proteolýza [10, 22 - 24].

Pro organismus jsou aminokyseliny nepostradatelnou složkou, kde mohou plnit řadu důležitých funkcí, avšak některé volné aminokyseliny mohou být ve vyšších koncentracích toxické pro lidský organismus. Fenylyalanin je prekurzorem hormonu nadledvinek (adrenalin) a hormonu štítné žlázy (tyroxin), ale při poruše metabolismu může fenylyalanin vyvolávat onemocnění fenylketonurii. V mozkové tkáni živočichů je přítomna γ – aminomáselná kyselina, známá pod zkratkou GABA působící jako přenašeč nervových vzruchů. Aminokyseliny vznikají sekundárně činností mikroorganismů či jako produkty chemické přeměny bílkovin při skladování a zpracování potravin [10, 13, 22 - 25].

Podle organoleptických vlastností se základní aminokyseliny mohou dělit na sladké, kyselé a hořké. Mezi aminokyseliny vykazující sladkou chuť patří například glycin, alanin, treonin, prolin. Mezi volné aminokyseliny způsobující hořkou chuť patří zejména aminokyseliny s hydrofobními řetězci, jako jsou leucin, izoleucin, fenylyalanin, a chuť kyselou vytvářejí zejména asparagová a glutamová kyselina. Velíšek [24] uvádí, že v sójovém hydrolyzátu, známý jako sójová omáčka nebo polévkové koření, se vyskytují pouze volné aminokyseliny, nikoli bílkoviny [10, 22 - 24].

2.1 Metabolismus aminokyselin

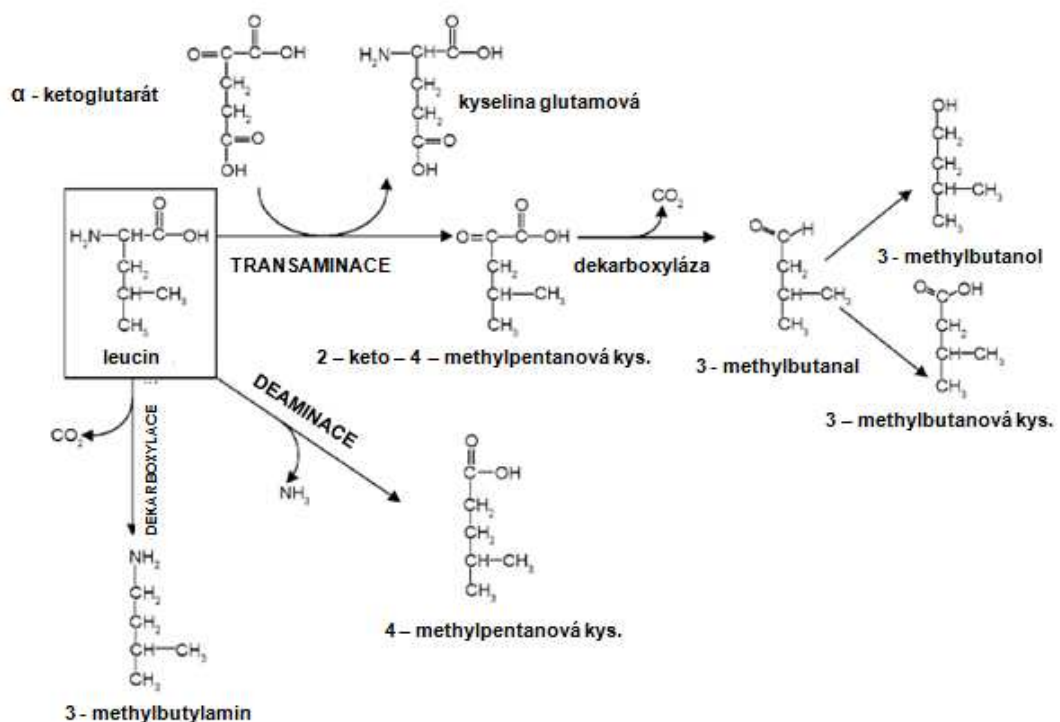
Metabolismus aminokyselin má zásadní vliv na tvorbu konečné chuti a aroma sýra. Hlavně katabolismus sirných aminokyselin (metionin), aromatických aminokyselin (fenylyalanin) a rozvětvených řetězců aminokyselin dodává specifickou chuť sýru, avšak někdy může mít za následek i vznik nepříznivé vůně sýrů. Katabolismus aminokyselin zahrnuje dekarboxylaci, deaminaci, transaminaci a hydrolyzu řetězců aminokyselin vedoucí k produkci velkého množství směsí včetně vzniku karboxylové kyseliny, amoniaku, oxidu uhličitého, aldehydů, alkoholů, thiolů a dalších sirných směsí (Obr. 1). Yvon a kol. [17] ve své práci uve-

dl, že změna chuti sýra není způsobena aminokyselinami vzniklými při proteolýze, ale až rozkladenými produkty aminokyselin [17, 18, 26].

Dekarboxylací aminokyselin mohou vznikat biogenní aminy, přičemž dochází k odštěpení oxidu uhličitého z karboxylové skupiny. Vzniklé biogenní aminy mohou být v určitých koncentracích toxické pro lidský organismus. Jedním z nejčastějších biogenním aminem vyskytujícím se v sýru je tyramin [18].

Transaminace má za následek vznik dalších aminokyselin pomocí transamináz produkovaných zejména laktokoky. Prvním krokem je deaminace, což vede ke vzniku α – ketokyselin. α – ketokyseliny se řadí mezi hlavní meziproducty katabolismu aminokyselin, které mohou být dále štěpeny na hydroxylové kyseliny, aldehydy a CoA – estery, např. těkavé látky sýra mohou obsahovat několik sirných směsí jako menthanethiol, methional a dimethyl trisulfid, které se ve velké míře podílejí na konečné vůni sýra. Vzniklé produkty jsou prekurzory pro výslednou chuť sýra. Díky rozkladu aminokyselin laktokoky se inaktivuje aminotransferáza, která snižuje schopnost tvorby aromatických látek během zrání sýru [17, 18, 20].

Obr. 1 - Příklad katabolismu aminokyseliny leucín [21]



3 TEXTURNÍ VLASTNOSTI SÝRŮ HOLANDSKÉHO TYPU

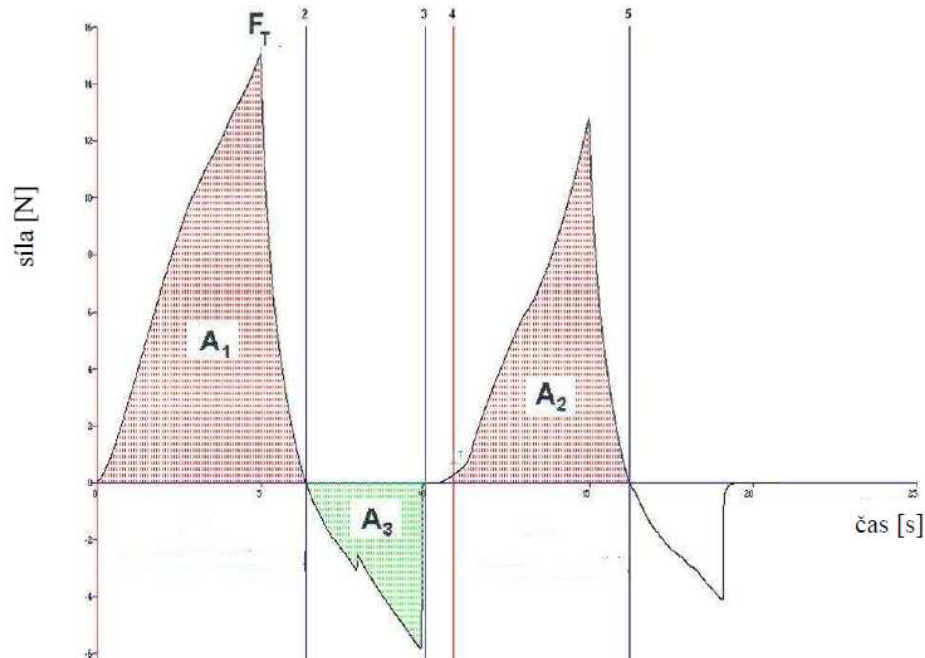
Textura je jednou ze základních složek sensorických vlastností potravin. Pojem textura se nejčastěji používá pro popis stavby struktury potravin, které jsou vnímané lidskými smysly (zejména zrak, chuť a hmat). Textura je souhrn pro všechny mechanické, geometrické a povrchové vlastnosti výrobku [1]. Mechanickými vlastnostmi jsou vlastnosti výrobku, které byly vystaveny určitému tlaku nebo napětí (mačkání mezi prsty, ruční řez, žvýkání). Mechanické vlastnosti mohou být popisovány dílčími parametry, jako jsou tvrdost, soudržnost, viskozita, pružnost, křehkost a lepivost [20]. Tyto vlastnosti mohou být porovnány pomocí rozmělnění sýra zuby, jazyk a patrem. Geometrické vlastnosti se vztahují k rozměru tvaru a uspořádání částic výrobku, tedy struktuře až mikrostruktuře potraviny. Povrchové vlastnosti udávají obsah vlhkosti a tuku ve výrobku [1].

Primární metodou hodnocení textury je sensorické hodnocení, přičemž cílem je zajistit co neobjektivnější výsledek. Tato metoda vyžaduje dostatečný počet zkušených a vyškolených hodnotitelů, zajištění standardního prostředí, dodržení zásad pro přípravu a překládání vzorků a vyhodnocování výsledků vhodnou statistickou metodou, čímž se stává materiálově, časově a personálně náročnou metodou. Proto jsou sensorické metody nahrazovány metodami nástrojovými. Texturní vyhodnocení pomocí přístrojů jsou obecně založené na síle - zkoušky tlakem, které jsou navrženy k tomu, aby stimulovaly stlačení sýra mezi stoličkami během žvýkání [1, 18].

Mezi typy nástrojových metod patří texturní profilová analýza, která je založena na imitaci hodnocení textury při žvýkání dvojitým opakovaným stlačením vzorku. Provádí se jednosměrným stlačováním výrobku, kde válcový vzorek sýra je vložen na rovnou desku a následně je stlačován horní deskou konstantní rychlostí. Získaná závislost síly na deformaci vzorku umožňuje vyhodnocení parametrů (pevnost, soudržnost, přilnavost) v tzv. zatěžovací křivce. Mezi základní parametry pro určení textury výrobku řadíme mechanické texturní vlastnosti jako je tvrdost (pevnost), neboli působení maximální síly, která je potřebná k dosažení požadované deformace vzorku, kde na Obr. 2 je tato síla znázorněna v maximální výšce píku (F_t), dále pak lepivost (přilnavost) jež popisuje práci potřebnou k překonání přitažlivých sil mezi povrchem výrobku a povrchem sondy. Na Obr. 2 je lepivost znázorněna jako záporná oblast 1. cyklu stlačení (A_3), která představuje práci potřebnou k překonání přitažlivých sil. Kohezivnost (soudržnost), která je definována jako síla

vnitřních vazeb, které tvoří výrobek je znázorněná na Obr. 2, kde představuje procento práce během stlačení u druhého cyklu A_2 dělený prací prvního cyklu A_1 (A_2/A_1) [1, 27].

Obr. 2 - Zátěžová křivka závislosti síly deformace (N) na čase [28]



Chemické složení sýrů má významný vliv na jeho texturní vlastnosti. Textura je ovlivňována počátečním složením mléka, výrobním postupem i procesem zrání. Za texturní změny jsou nejčastěji zodpovědné biochemické reakce probíhající během zrání sýrů, mohou být rozděleny na primární (glykolýza, lipolýza, proteolýza), a sekundární (metabolismus mastných kyselin, metabolismus aminokyselin). Mezi důležité faktory přispívající k texturním vlastnostem sýra řadíme interakce kaseinových částic a rozsah proteolýzy. Tyto faktory jsou ovlivněny zejména teplotou, pH a iontovou silou [29, 30]. V přítomnosti nižšího pH je průběh proteolýzy pomalejší, proto i texturní změny probíhají pomaleji. pH může být závislé na mnoha faktorech, a to na vlhkosti, obsahu soli, vápníku a množství vznikající kyseliny mléčné v důsledku mikrobiálních přeměn. Při pH 5,1 – 5,5 se část fosfátu navázaného na kasein oddělí od submicel. Tyto změny ve velikosti submicely významně zvýší schopnost vázat vodu. Vaznost vody je ovlivňována i koncentrací iontů, přičemž se snižující se vlhkostí dochází ke zvyšování tvrdosti sýra [31].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem teoretické části této bakalářské práce bylo:

1. Stručně charakterizovat výrobu sýrů holandského typu,
2. popsat proteolytické procesy v průběhu zrání polotvrdých a tvrdých přírodních sýrů,
3. charakterizovat změny texturních vlastností v průběhu zrání přírodních sýrů.

Cílem praktické části této bakalářské práce bylo:

1. Sledovat změny texturních vlastností a změny obsahu volných aminokyselin v průběhu zrání.

5 MATERIÁL A METODIKA

5.1 Charakteristika vzorků

Bylo vyrobeno 24 bloků sýru holandského typu o obsahu sušiny 50 ± 2 % [w/w] a průměrné hmotnosti jednoho bloku sýra 90 ± 3 g. V jedné sérii byly provedeny dvě výroby označené jako 1A a 1B, které byly následně jedenkrát opakovány (2. série - 2A, 2B). Výroba A představuje kontrolní výrobu za použití 2 x 50 ml smetanového zákysu, který byl vyroben z komerční smetanové kultury (Milcom, a.s.), která byla složena z kmenů *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*. Výroba B byla vyrobena za přídavku dekarboxyláza pozitivního kmene *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, přičemž byl použit 1 x 50 ml zákysu vyrobeného z komerční smetanové kultury a 1 x 50 ml zákysu připraveného s přídavkem dekarboxyláza pozitivního kmene (zákys obsahoval 5 ml bujónu). Sýry byly vyrobeny běžným postupem při laboratorních podmínkách. U vyrobených sýrů byly použity dva typy solení pro získání konečného obsahu NaCl v sýrech 1,5 % (vzorky označené jako L – low concentration) a 2,5 % NaCl (označení vzorků H – high concentration). Vyrobene sýry byly skladovány při teplotě 10 ± 2 °C po celou dobu analýz. Takto připravené sýry byly analyzovány první den (před solením), 30, a 60. den ode dne výroby (sýry, u kterých byla doba zrání 1. den ode dne výroby, byly označeny A1 a B1, po 30 dnech zrání A2, B2 a po 60 dnech zrání A3, B3). U všech vzorků byla provedena základní chemická analýza, texturní profilová analýza a stanovení počtu volných aminokyselin ve výše uvedené odběrové dny. Sledované parametry byly měřeny ze tří bloků sýrů každého typu ve třech opakováních.

5.2 Výroba sýrů

Den před samotnou výrobou byly připraveny provozní zákysy. Pro každou výrobu bylo použito 2 x 50 ml mléka, které se nechalo 30 minut ve vařící vodní lázni. Po vychladnutí bylo mléko zaočkováno 1,5 g smetanové kultury na 50 ml mléka (u výroby A bylo smetanovým zákysem zaočkováno 2 x 50 ml mléka). V případě výroby B bylo připraveno 1 x 50 ml smetanového zákysu vyrobeného dle výše uvedeného postupu a 1 x 50 ml mléka bylo zaočkováno 5 ml dexarboxyláza pozitivního kmene. Zákysy byly připraveny v rozmezí 16 – 20 hodin před samotnou výrobou sýrů a do doby použití byly inkubovány při teplotě 25 ± 2 °C v inkubátoru.

Sýry byly vyrobeny z 20 l mléka, za použití smíchání 3,5 % tučného mléka Selského a 1,5 % polotučného mléka (oba typy Olma, a.s., Olomouc, Česká republika) v poměru 1:1. 20 l mléka bylo zahřáno na teplotu 32 °C, do kterého bylo přidáno 10 ml chloridu vápenatého (Milcom a.s., Česká republika) a den předem připravený zákys, a nechalo se inokulovat za občasného promíchání 30 minut. Poté bylo přidáno 1,5 ml syřidla v desetinásobku vody (Fromase 750 TL, DMS Food Specialties, Francie), po důkladném promíchání byla zastavena hladina mléka pro zamezení možného vytvoření sýrašského prachu. Sýření probíhalo po dobu 40 minut. Po uplynutí stanovené doby byla sýřenina krájena a znovu nechána 10 minut v klidu. Poté byla sýřenina 20 minut ručně míchána. Část uvolněné syrovátky (asi ¼) byla odebrána a zbylé sýrašské zrno bylo propíráno přídavkem horké vody o teplotě 80 °C, jejímž účelem bylo zvýšení teploty sýřeniny na 41 °C. Po dosažení teploty 41 °C byla zrna strojně míchána po dobu 60 minut. Po ukončení procesu dohřívání byla sýrová zrna slita do předlisovacích forem vyložených sýrašskou plachetkou za současného odkapu syrovátky. V těchto formách byla sýřenina formována vlastní vahou po dobu 30 minut, přičemž každých 10 minut byla sýřenina otáčena. Sýřeniny v předlisovacích formách byly rozkrájeny na 12 stejných kousků a poté napěchovány do malých lisovacích forem vyložených sýrašskou plachetkou, v nichž byla sýřenina lisována 1,5 hodiny s postupně se zvyšujícím tlakem v rozmezí 8,5 – 25,5 kPa. Po vyjmutí sýrů ze sýrašských forem byly vzorky uloženy do zracích nádob a nechány do druhého dne při laboratorní teplotě 21 ± 2 °C k prokysání.

Následující den byly bloky ponořeny do připravených solných lázní o koncentraci 20 % NaCl. Jedna polovina sýrů byla solena 30 minut (pro dosažení nižšího obsahu NaCl ~ 1,5 % - vzorek označený L) a druhá polovina sýrů byla solena po dobu 60 minut (pro dosažení vyššího obsahu NaCl ~ 2,5 % - vzorek označený jako H), přičemž sýry v solných lázních byly každých 15 minut otáčeny pro dosažení rovnoměrného nasolení bloků sýrů. Poté byly sýry namáčeny v roztoku delvocidu (DMS Food Specialties, Francie) a po oschnutí následně krátce namáčeny do sýrašského vosku (BioPro, Česká republika) o teplotě 65 °C. Takto připravené sýry byly skladovány při teplotě 10 ± 2 °C ve zracích komorách po dobu 2 měsíců. Veškeré pomůcky, které přišly do styku se sýry, byly namočeny v dezinfekci (Aktivit D, BANCHEM, Slovenská republika) a poté řádně opláchnuty studenou vodou.

Jednotlivé kroky výroby jsou uvedené v Příloze I.

5.3 Základní chemická analýza

Základní chemická analýza zahrnovala stanovení obsahu sušiny v sušárně při teplotě 102 ± 2 °C do konstantního úbytku hmotnosti podle ISO normy 5534: 2004 [32]. pH bylo měřeno pomocí vpichového pH metru (pH Spear Eutech instruments, Nizozemsko). Obsah NaCl jednotlivých vzorků byl stanoven argentometrickou titrací za použití titračního činidla dusičnanu stříbrného a jako indikátor byl použit 5 % [w/w] chroman draselný za vzniku hnědočervené sraženiny chromanu draselného v bodě ekvivalence. Argentometrické stanovení NaCl bylo uvedeno v práci Indra a Mizera [33]. Všechny výše uvedené parametry byly stanovovány u tří bloků sýrů každého typu ve třech opakováních.

5.4 Extrakce a stanovení volných aminokyselin

Extrakce volných aminokyselin byla provedena z předem připravených lyofilizátů pomocí lyofilizátoru Alpha 1 – 4 LSC (Christ, Labicom s.r.o. ČR.) při teplotě - 40 °C a tlaku ~ 12 Pa. K 1 g naváženého lyofilizátu bylo přidáno 10 ml 0,1 M HCl a homogenizováno po dobu 30 minut a odstředěno v odstředivce EBA 21 (Hettich ZENTRIFUGEN, Německo) po dobu 20 minut při 6000 ot./min. Supernatant byl převeden do odměrné 25 ml baňky a sediment výše uvedeným způsobem 2 x reextrahován pomocí 7 ml 0,1 M HCl. Poté byla odměrná baňka doplněna po rysku 0,1 M HCl a vše bylo přefiltrováno. Před nástřikem do chromatografického systému byla směs zředěna v poměru 1:3 se sodno - citrátovým puforem o pH 2,2 a přefiltrováno přes stříkačkový filtr s porozitou 0,22 μm . Extrakce byly provedeny ze tří bloků sýrů stejného typu vždy jedenkrát.

Chromatografická analýza byla zaměřena na přítomnost 30 volných aminokyselin a jejich derivátů (glutamin, prolin, glycin, alanin, citrulin, valin, cystein, metionin, cistationin, isoleucin, leucin, tyrosin, fenylalanin, β – alanin, β – aminobutyrová kyselina, γ – aminobutyrová kyselina, etanolamin, ornithin, lysin, histidin, 1 – methyl – histidin, 3 – methyl – histidin, arginin, aminoadipová kyselina, α – aminobutyrová kyselina). Stanovení aminokyselin bylo provedeno pomocí Automatického analyzátoru aminokyselin AAA 400 (Ingos, ČR) s postkolonovou derivatizací ninhydrinem. Činidla použitá pro extrakci volných aminokyselin byla od firmy Ingos (Praha, Česká republika) a použité standardy od firmy Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA). Chromatografické stanovení volných aminokyselin bylo stanoveno z tří extraktů a každý extrakt byl analyzován dvakrát.

5.5 Texturní profilová analýza

Pro texturní analýzu byl použit analyzátor TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Velká Británie). Ze středu analyzovaného vzorku byl vykrojen válcový vzorek o průměru 40 mm a výšce 15 mm, který byl vložen na rovnou plochu analyzátoru a stlačen o 20 % původní výšky s konstantní rychlostí $1 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ sondy o průměru 50 mm. Mezi sledovanými parametry byly tvrdost, kohezivnost a lepivost. Hodnota tvrdosti (N) byla získána jako maximální síla naměřená během testu. Získané parametry byly vyhodnoceny pomocí programu Exponent Lite. Každý blok sýra byl měřen jednou, pro jeden typ vzorku byly použity 3 bloky sýra.

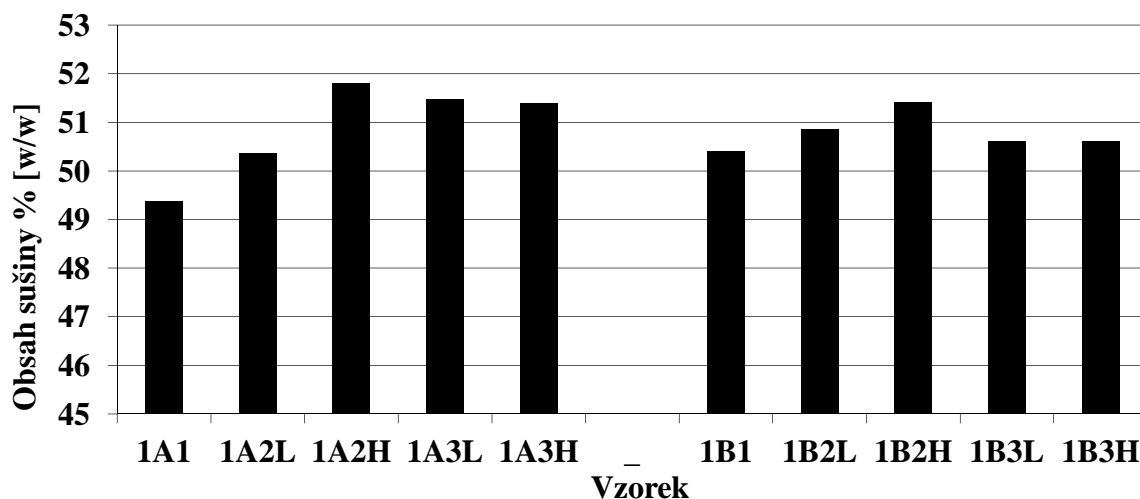
6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Základní chemická analýza

U první série výrob byla naměřena sušina 1. den ode dne výroby v rozmezí 49,0 až $51,0 \pm 0,2$ %, přičemž vyšší hodnoty sušiny byly zjištěny u vzorku B (přídavek dekarboxyláza pozitivního kmene). Po 30 dnech skladování byl zaznamenán nárůst obsahu sušiny (přesahující hodnoty až $51,0 \pm 0,2$ %), kde vyšší hodnoty sušiny byly naměřeny zejména u vzorků s vyšším obsahem soli (1A2H a 1B2H). Analýzou po dvou měsících skladování došlo k mírnému poklesu obsahu sušiny oproti hodnotám naměřených 30. den skladování, a bylo zpozorováno, že hodnoty sušiny se vyrovnaly bez rozdílu obsahu soli. Konečné naměřené hodnoty byly v rozmezí 50,2 až $52,0 \pm 0,2$ %, kde vyšší hodnoty sušiny byly zejména u vzorků výroby A (1A3L a 1A3H).

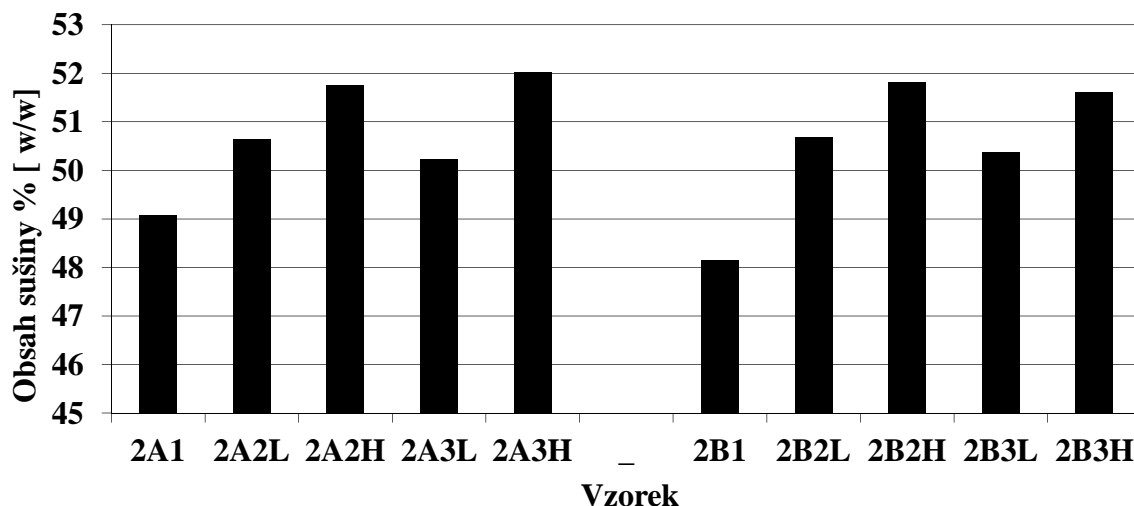
Obsah sušiny v druhé sérii výrob (tj. opakování, vzorky 2A a 2B) byl zpočátku mírně nižší než u výrob první série (48,2 až $49,6 \pm 0,4$ %). V průběhu skladování se hodnoty sušiny zvyšovaly až do 60. dne, přičemž bylo zjištěno, že vyšší obsah sušiny měly vzorky zejména s vyšší koncentrací soli. Mezi výrobou A a B nebyly zpozorovány žádné významné rozdíly a obsah sušiny na konci skladování byl u vzorků s nižším obsahem soli, tj. u vzorku 2A3L a 2B3L, v rozmezí 50,0 až $50,5 \pm 0,3$ %, a u vzorků s vyšším obsahem soli, tj. vzorky 2A3H a 2B3H, 51,0 až $52,1 \pm 0,3$ %. Vývoj obsahu sušiny v průběhu 60-ti denního skladování u obou sérií výrob znázorňují Grafy 1 a 2.

Graf 1 - Vývoj obsahu sušiny v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série



Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

Graf 2 - Vývoj obsahu sušiny v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série

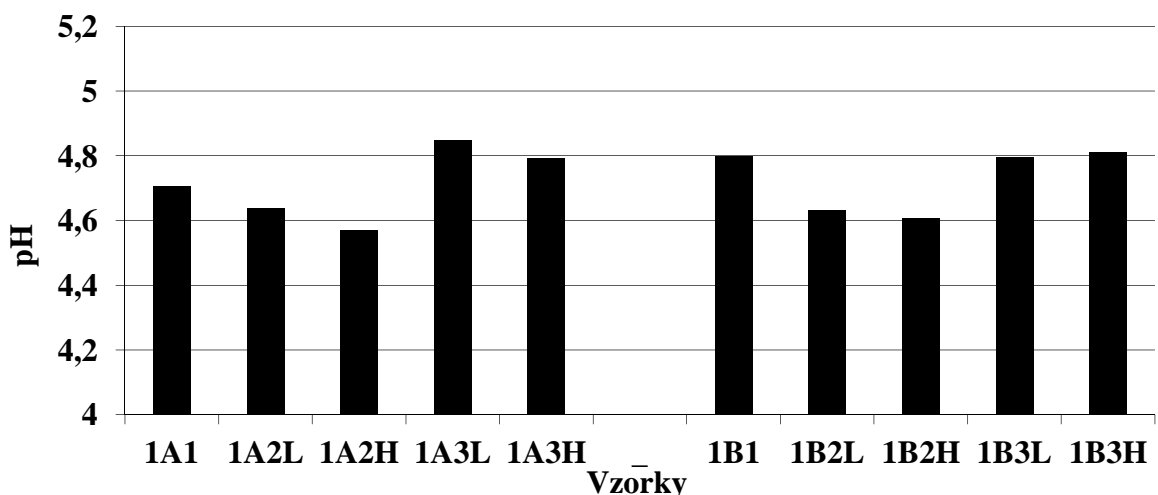


Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

U první série výrob bylo naměřeno pH 1. den ode dne výroby v rozmezí 4,7 až $4,8 \pm 0,1$, přičemž vyšší hodnoty pH byly zaznamenány u vzorku B (přídavek dekarboxyláza pozitivního kmene). Po 30 dnech zrání došlo k mírnému poklesu pH u všech analyzovaných vzorků, kde největší pokles pH byl zaznamenán u vzorku 1B2H ($pH = 4,6 \pm 0,1$). Po dvou měsících skladování se hodnoty pH oproti analýze po 30 dnech zvýšily a bylo zpozorováno, že pH u výroby B se vyrovnalo bez rozdílu obsahu soli, zatímco hodnoty pH u A výroby byly vyšší u vzorků s nižším obsahem soli (1A3L) než u vzorků s vyšším obsahem soli (1A3H). Konečné naměřené hodnoty byly v rozmezí 4,8 až $4,9 \pm 0,1$, kde nejvyšší pH bylo zjištěno u vzorku 1A3L.

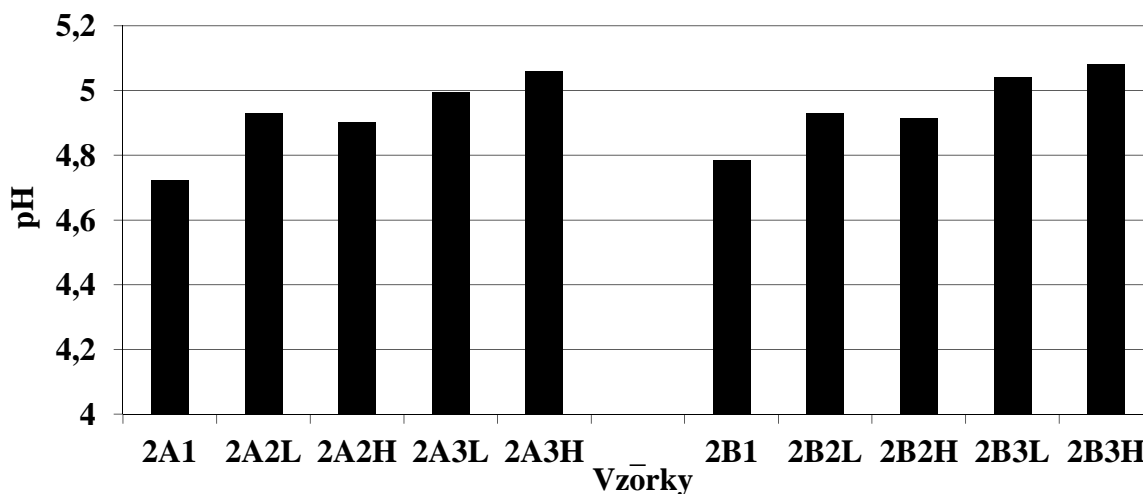
U druhé série nebyly zaznamenány velké rozdíly naměřených hodnot pH 1. den ode dne výroby, které se pohybovaly v rozmezí 4,7 až $4,8 \pm 0,2$. V průběhu zrání se hodnoty pH zvyšovaly. Po 30 dnech skladování byly zaznamenány hodnoty pH $4,9 \pm 0,3$, kde tohoto pH dosáhly oba vzorky s nižším obsahem soli, tj. vzorky 2A2L a 2B2L. Analýzou vzorků po 60 dnech skladování byly naměřené hodnoty výrazně vyšší, tyto hodnoty se pohybovaly v rozmezí 4,9 až $5,1 \pm 0,3$, kde nejvyšší pH bylo zaznamenáno u vzorku 2B3H. Vývoj pH v průběhu 2 – měsíčního skladování u obou sérií výrob znázorňují Grafy 3 a 4.

Graf 3 - Vývoj pH v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série



Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přídavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

Graf 4 - Vývoj pH v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série

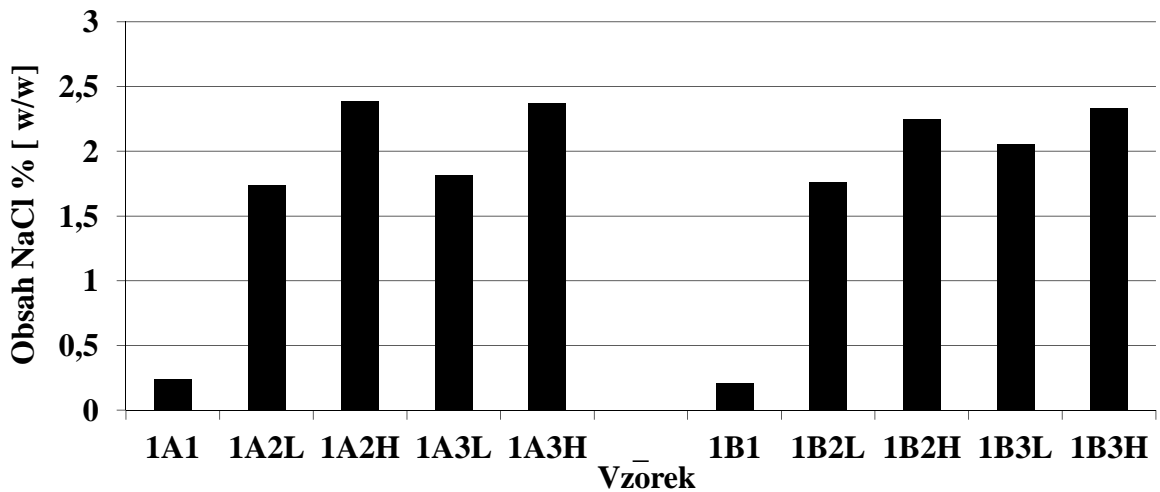


Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

U první série výrob byl naměřen obsah soli 1. den ode dne výroby v rozmezí $0,2 - 0,3 \pm 0,05$ %. Analýzou po 30. dnech zrání bylo zjištěno, že u vzorků 1A2L a 1B2L koncentrace soli byla v rozmezí 1,7 až $1,8 \pm 0,04$ %, zatímco u vzorků 1A2H a 1B2H byl obsah soli 2,2 až $2,3 \pm 0,05$ %. Po 60-ti dnech skladování došlo u všech výrobků ke zvýšení obsahu soli, kde nejvyšší obsah soli ($2,4 \pm 0,03$ %) byl pozorován u vzorku výroby A tj. 1A3H.

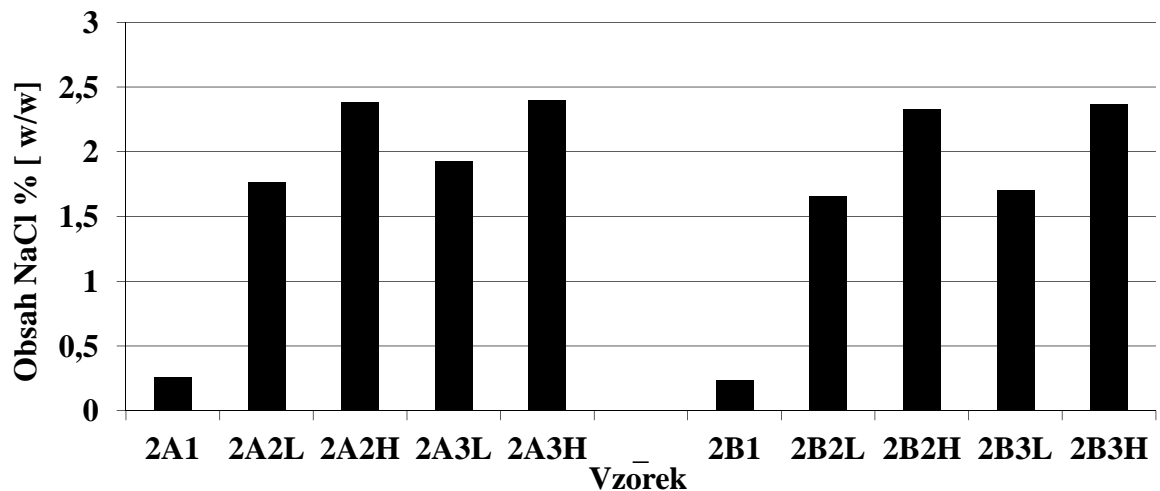
V druhé sérii výrob, byl zaznamenán obsah soli 1. den ode dne výroby v rozmezí 0,2 až $0,3 \pm 0,04$ % (2A1, 2B1). Od 30. Dne se obsah soli výrazně neměnil až do konce doby skladování, přičemž bylo zjištěno, že vyšší obsah soli měly vzorky 2A3H a 2B3H ($2,3$ až $2,4 \pm 0,02$ %), kde stejně jako u první výroby byl vyšší obsah soli naměřen u vzorku 2A3H ($2,4 \pm 0,07$ %). Vývoj obsahu soli v průběhu 60-ti dnů u obou sérií výrob znázorňují Grafy 5 a 6.

Graf 5 - Vývoj obsahu soli v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série



Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

Graf 6 - Vývoj obsahu soli v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série



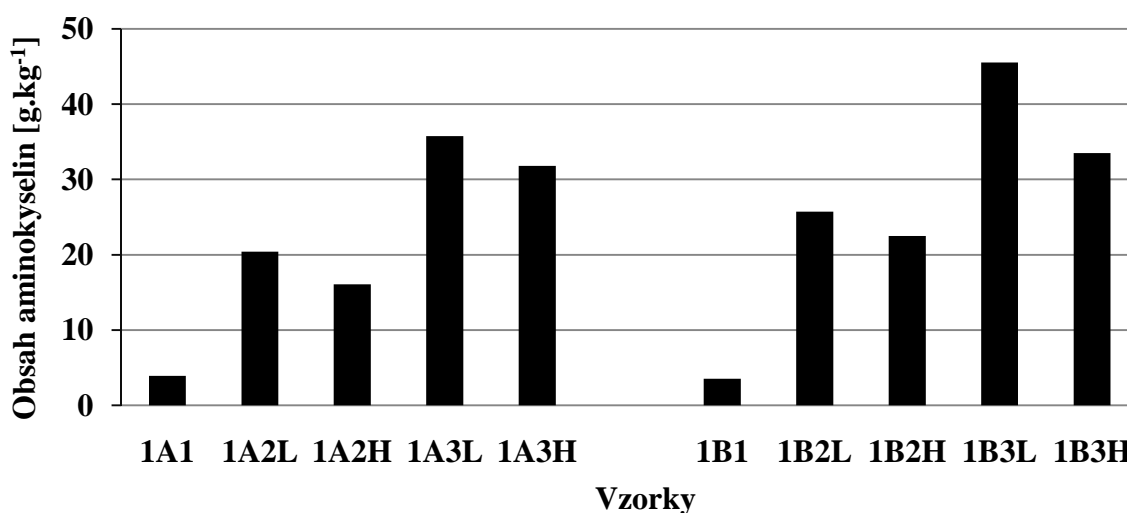
Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

6.2 Stanovení volných aminokyselin

Na počátku zrání vzorků 1. série výrob byla detekována celková množství volných aminokyselin v rozmezí ($3,5$ až $3,9 \pm 0,2 \text{ g.kg}^{-1}$), kde větší výskyt aminokyselin vykazovala výroba A. S průběhem zrání se obsah aminokyselin u obou výrob zvyšoval (u vzorků výroby A i B). Celkové koncentrace volných aminokyselin rostly lineárně po celou dobu zrání sýrů u všech vzorků a zároveň bylo zpozorováno, že vyšší hodnoty volných aminokyselin jsou u vzorků s nižším obsahem soli (1A3L a 1B3L). Po 60 dnech skladování byly konečné hodnoty volných aminokyselin v rozmezí $32,3 \pm 0,4$ až $36 \pm 0,2 \text{ g.kg}^{-1}$ u vzorků výroby A (kontrolní) a $34,3 \pm 0,3$ až $45,6 \pm 0,5 \text{ g.kg}^{-1}$ u vzorků výroby B.

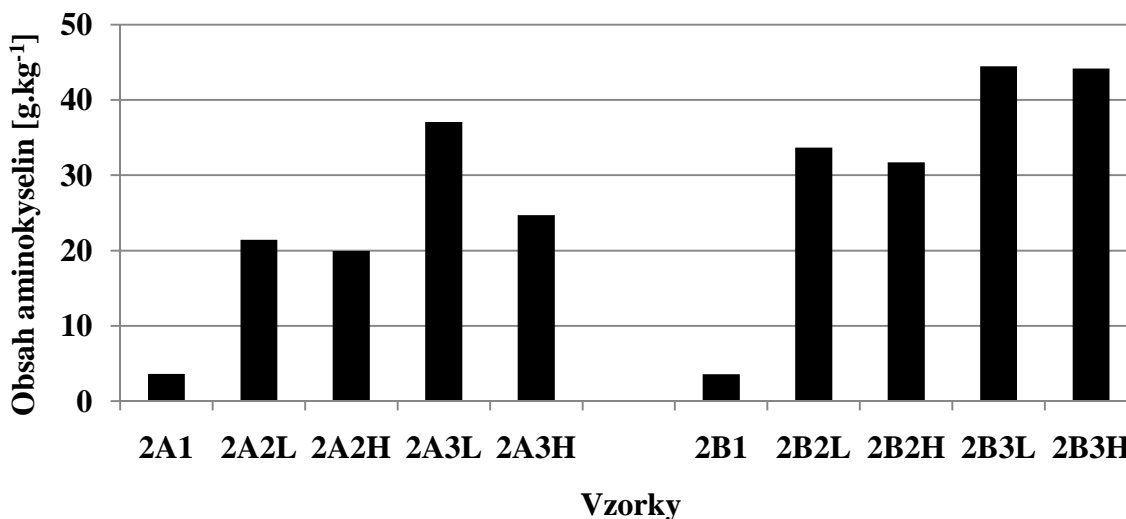
U druhé série výrob se na počátku skladování obsah aminokyselin příliš nelišil od 1. výroby ($3,5 - 3,6 \pm 0,2 \text{ g.kg}^{-1}$ u vzorku 2A1 a 2B1). V průběhu zrání obsah aminokyselin narůstal, přičemž vzorky po 30. dni skladování dosahovaly hodnot v rozmezí $19,9$ až $33,7 \pm 0,1 \text{ g.kg}^{-1}$ (2A2H a 2B2L) a u vzorků na konci skladování byly zpozorovány hodnoty obsahu aminokyselin $24,7$ až $44,5 \pm 0,2 \text{ g.kg}^{-1}$ (u vzorků 2A3H a 2B3L). Stejně jako u 1. série výrob byly vyšší koncentrace volných aminokyselin naměřeny zejména u vzorků s nižším obsahem soli zejména u výroby A, u sýrů výroby B tyto rozdíly nebyly příliš významné. Vývoj obsahu aminokyselin v průběhu 60-ti dnů skladování u obou sérií výrob znázorňují Grafy 7 a 8.

Graf 7 - Obsah volných aminokyselin v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série



Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L -nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

Graf 8 - Obsah volných aminokyselin v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série



Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

Nejvíce detekovanou aminokyselinou u všech vzorků obou sérií byla glutamová kyselina a leucin. Koncentrace glutamové kyseliny byly 1. den ode dne výroby v rozmezí $0,5 \pm 0,1$ až $0,7 \pm 0,2$ g.kg⁻¹ a po celou dobu skladování koncentrace rostly, kde konečné hodnoty byly $1,8 \pm 0,3$ až $7,1 \pm 0,2$ g.kg⁻¹ u vzorku 1A3H a 1B3L, přičemž bylo zpozorováno, že vyšší hodnoty byly detekovány u vzorků s nižším obsahem soli, a zároveň nižších hodnot také bylo dosaženo u vzorků výroby B. Obsah leucinu měl obdobný trend jako koncentrace kyseliny glutamové. Množství leucinu lineárně rostlo po celou dobu skladování, kde vyšší hodnoty byly u vzorků s nižším obsahem soli a také u vzorků B, kde konečné koncentrace přesáhly i hodnotu 10 g.kg⁻¹ (zejména u vzorku 1B3L). Obsahy ornitinu i argininu měly obdobný trend v průběhu 60-ti denního skladování. Jejich koncentrace lineárně rostly po celou dobu analýz. V průběhu skladování byly zaznamenány výrazné rozdíly u vzorků s odlišnou koncentrací soli, kde vyšší hodnoty obou aminokyselin byly naměřeny zejména u vzorků s nižším obsahem soli. Konečné koncentrace ornitinu byly v rozmezí $1,5 \pm 0,2$ g.kg⁻¹ (u vzorku 1A3H) až $2,6 \pm 0,3$ g.kg⁻¹ (u vzorku 1B3L). Množství argininu po 60 dnech skladování sýrů bylo $0,2 \pm 0,1$ g.kg⁻¹ (u vzorku 1B3H) až $0,3 \pm 0,2$ g.kg⁻¹ (u vzorku 1A3L), avšak oproti ostatním aminokyselinám byly vyšší hodnoty detekovány u vzorků A po celou dobu skladování. Koncentrace aminokyseliny citrulin lineárně rostly po celou dobu skladování, avšak oproti ostatním aminokyselinám její vyšší koncentrace byly

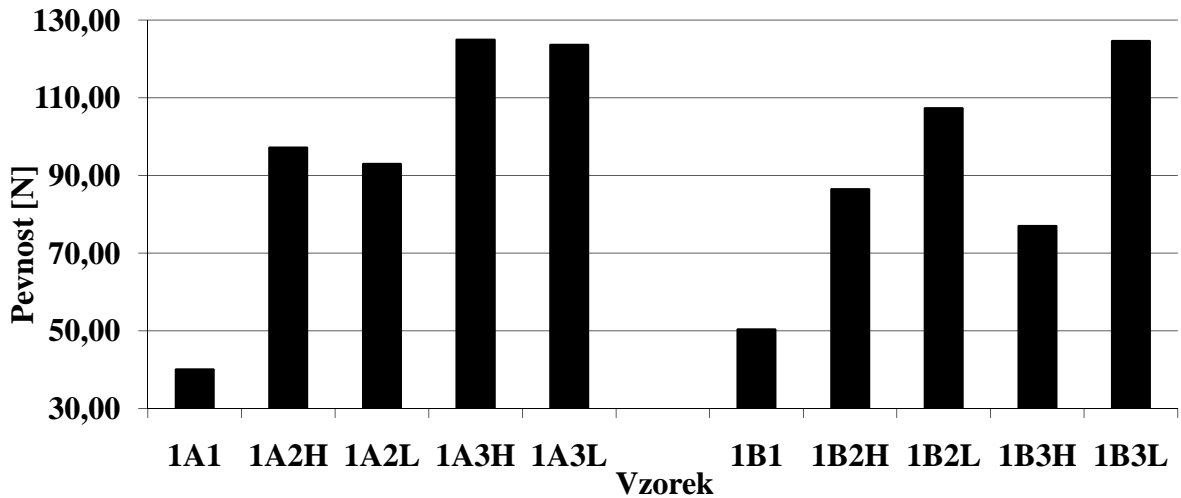
detekovány u vzorků s vyšším obsahem soli, kde konečné hodnoty byly v rozmezí $0,2 \pm 0,3 \text{ g.kg}^{-1}$ u vzorku 1A3L až $0,4 \pm 0,3 \text{ g.kg}^{-1}$ u vzorku 1B3H.

6.3 Texturní profilová analýza

Při první sérii výrob byla naměřena tvrdost sýra 1. den ode dne výroby v rozmezí $40,0 \pm 0,2 \text{ N}$ až $50,3 \pm 0,4 \text{ N}$, přičemž větší tvrdost sýra byla zaznamenána u vzorků sýrů výroby B (přídavek dekarboxyláza pozitivního kmene). Po 30 dnech skladování byly hodnoty tvrdosti sýra u výroby A, tj. 1A2H a 1A2L, téměř srovnatelné a to $97,2 \pm 0,3 \text{ N}$ až $92,9 \pm 0,3 \text{ N}$, zatímco vzorky u výroby B, tj. 1B2H a 1B2L, byly zpozorovány významné rozdílné hodnoty tvrdosti. Během 60 dní se tvrdost jednotlivých vzorků zvyšovala, výjimkou byl vzorek výroby B s vyšším obsahem soli, u něhož během zrání tvrdost sýra klesala z hodnoty $86,4 \pm 0,2 \text{ N}$ na $76,9 \pm 0,3 \text{ N}$. Nejtvrdší tvrdost byla naměřena u výroby A, tj. 1A3H ($124,9 \text{ N}$).

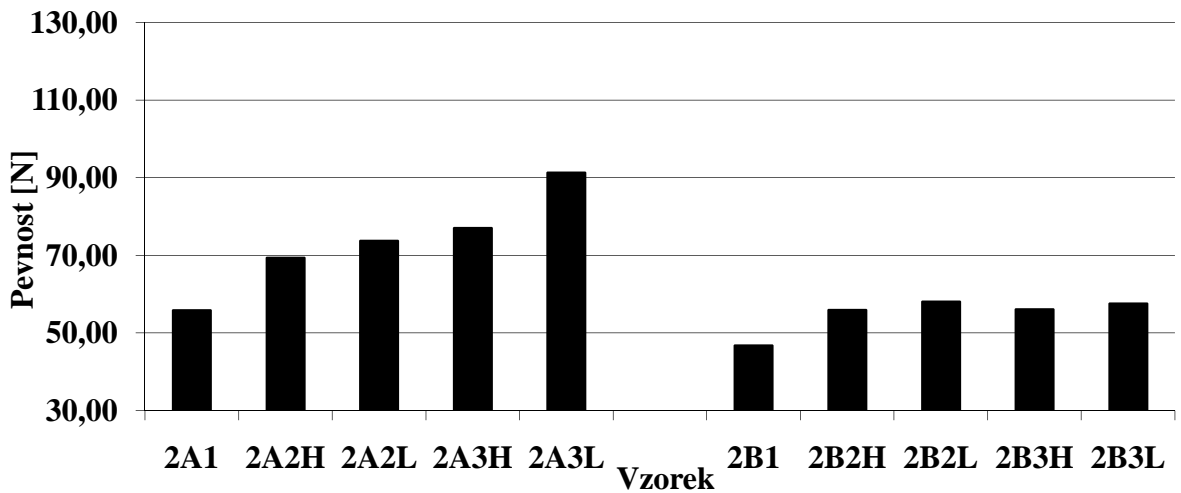
U druhé série výrob byla tvrdost 1. den ode dne výroby v rozmezí ($46,8 \pm 0,2$ až $55,8 \pm 0,3 \text{ N}$). Sýr výroby A dosáhl během zrání nejvyšší tvrdosti a to $91,2 \pm 0,1 \text{ N}$ (2A3L). V průběhu skladování se hodnoty tvrdosti zvyšovaly téměř u všech analyzovaných vzorků, přičemž bylo zjištěno, že vyšší hodnoty tvrdosti dosahují vzorky s nižší koncentrací soli, tento nárůst byl však menší u vzorků první série. Mezi sériemi 1 a 2 byly zjištěny značné rozdíly. Vývoj tvrdosti sýra v průběhu 60 dnů skladování u obou sérií výrob znázorňují Grafy 9 a 10.

Graf 9 - Vývoj tvrdosti sýra v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série



Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

Graf 10 - Vývoj tvrdosti sýra v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série

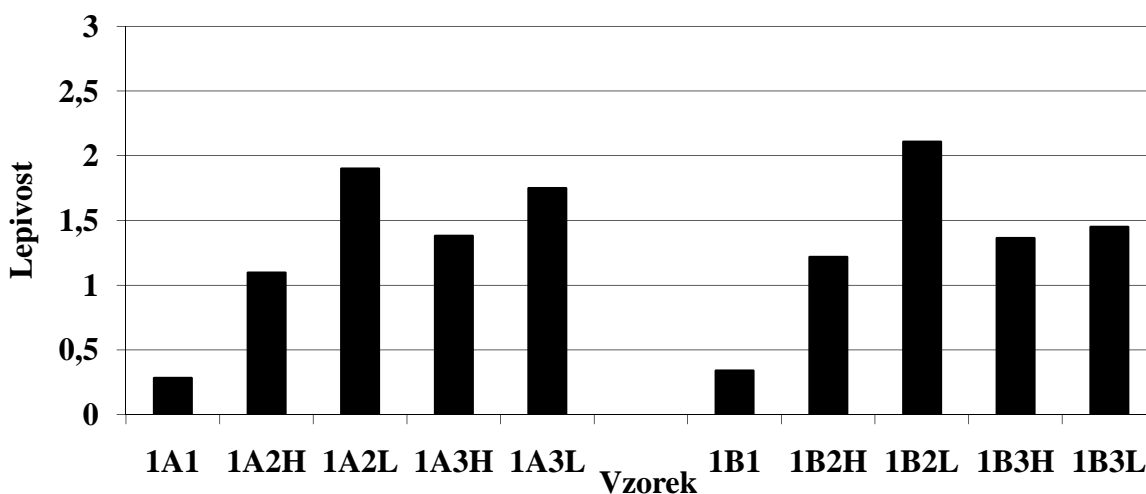


Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

U první série výrob byla zaznamenána lepivost 1. den ode dne výroby v rozmezí $0,2 \pm 0,2$ až $0,3 \pm 0,3$, kde větší lepivost sýru vykazoval vzorek výroby B. Po měsíci zrání se lepivost vzorku značně zvýšila, přičemž větší změna lepivosti sýru byla zejména u vzorků s nižší koncentrací soli, tj. vzorek 1A2L a 1B2L, jejichž hodnoty byly v rozmezí 1,9 až $2,1 \pm 0,1$. Konečné naměřené hodnoty se pohybovaly v rozmezí 1,4 až $1,8 \pm 0,2$, kde největší míra lepivosti byla zpozorována u vzorku 1A3L.

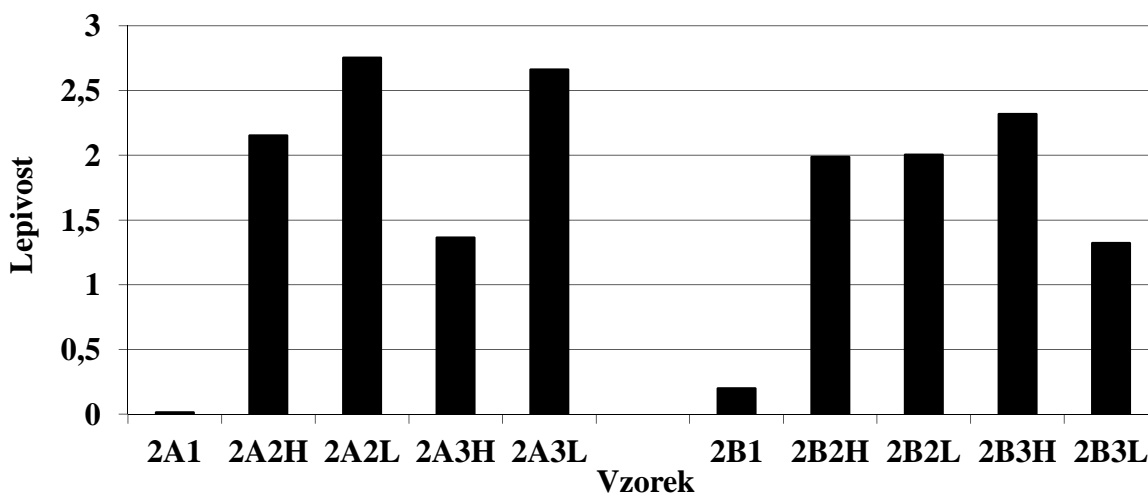
Při druhé sérii byla naměřená hodnota lepivosti 1. den poněkud nižší než u výroby 1. série ($0,1 \pm 0,1$ až $0,3 \pm 0,1$), přičemž vyšší hodnota lepivosti byla zpozorována u vzorku 2B1. Míra lepivosti v druhé sérii výrob dosahovala během zrání vyšších hodnot než u výrob 1. série, a zároveň se během skladování lepivost sýru snižovala bez ohledu na obsah soli. Nejvyšších hodnot po 60. dnech zrání dosáhl vzorek 2A3L ($2,7 \pm 0,1$). Mezi výrobou A a B byly analýzou získány rozdílné hodnoty, kde na konci skladování byly u vzorků s vyšším obsahem soli tj. u vzorku 2A3H a 2B3H získány hodnoty lepivosti $1,4 \pm 0,2$ až $1,3 \pm 0,1$, zatímco u vzorků 2A3L a 2B3L bylo toto rozmezí $2,3 \pm 0,3$ až $2,7 \pm 0,2$. Vývoj lepivosti v průběhu 60 dnů skladování u obou sérií výrob znázorňují Grafy 11 a 12.

Graf 11 - Vývoj lepivosti u vzorků v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série



Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

Graf 12 - Vývoj lepivosti u vzorků v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série

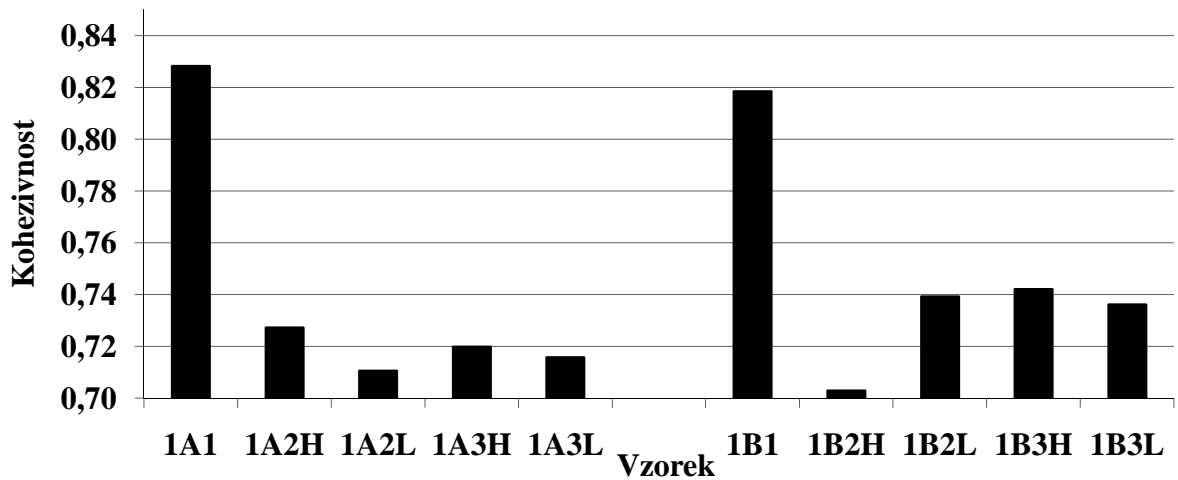


Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

Při měření kohezivnosti vzorků bylo zjištěno, že její hodnoty klesají po celou dobu skladování sýrů. Během 30-ti denního skladování se hodnoty kohezivnosti pohybovaly v rozmezí $0,70 \pm 0,01$ až $0,74 \pm 0,03$, přičemž nejvyšší hodnoty byly zaznamenány u vzorku 1B2L. Při konečném měření vzorků se hodnoty v příslušných sériích bez ohledu na obsahu soli vyrovnaly, kde vzorky výroby A (1A3H, 1A3L) dosáhly hodnoty kohezivnosti $0,72 \pm 0,02$, zatímco hodnoty výroby B (1B3H, 1B3L) činily $0,74 \pm 0,01$.

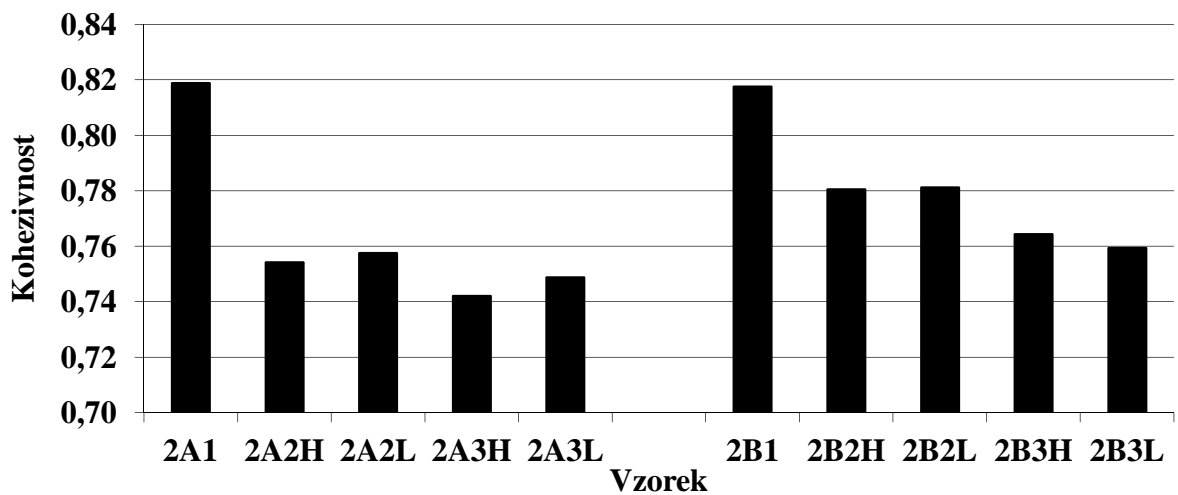
Při druhé sérii výrob byly zpozorovány hodnoty nepatrně vyšší než u první série. Během 30 dnů skladování došlo ke snížení kohezivnosti vzorku na hodnoty $0,75 \pm 0,01$ až $0,78 \pm 0,02$ u vzorků 2A2H a 2A2L, přičemž hodnoty u vzorku B se vyrovnaly bez ohledu na obsah soli na hodnotu $0,78 \pm 0,01$. Po 60 dnech skladování se hodnoty opět snížily v rozmezí ($0,74 \pm 0,03$ až $0,76 \pm 0,01$), kde nejvyšší hodnoty kohezivnosti vykazovaly vzorky výroby B (2B3H, 2B3L). Vývoj kohezivnosti u vzorků v průběhu 60. dnů skladování u obou sérií výrob znázorňují Grafy 13 a 14.

Graf 13 - Vývoj kohezivnosti u vzorků v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série



Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

Graf 14 - Vývoj kohezivnosti u vzorků v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série



Kde: A – kontrolní výroba, B – výroba s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene, L – nízká koncentrace soli, H – vysoká koncentrace soli, 1-3 – analýza v průběhu zrání (1., 30., 60. den ode dne výroby)

6.4 Diskuze

Během 60-ti denního skladování vzorků sýrů holandského typu byly sledovány změny texturních vlastností a obsahu volných aminokyselin v sýrech vyrobených za použití smetanového zákysu (výroby A) a v sýrech s přidavkem dekarboxyláza pozitivního kmene (výroba B). Sýry zrály po celou dobu analýz ve zrací komoře při 10 ± 2 °C. U těchto vzorků byla provedena základní chemická analýza, texturní profilová analýza a stanovení obsahu volných aminokyselin.

Základní chemickou analýzou bylo zjištěno, že vyšší koncentrace NaCl nepatrně ovlivnila obsah sušiny ve vzorku, a to zejména v průběhu 30 dnů. Na konci analýzy však došlo k vyrovnání hodnot sušiny bez rozdílu obsahu soli. Největší obsah sušiny byl zpozorován u vzorku s vyšším obsahem soli – 2A3H, a to $52,0 \pm 0,2$ %.

Před nasolením vzorků se koncentrace NaCl pohybovala v hodnotách 0,2 až $0,3 \pm 0,05$ %. Po nasolení sýrů došlo během skladování k výraznému vzrůstu koncentrace soli až na hodnoty $2,4 \pm 0,03$ % (vzorky A – 1A3H, 2A3H) a hodnoty $2,3 \pm 0,2$ % (vzorky B – 1B3H, 2B3H).

Měřením pH po celou dobu skladování bylo zjištěno, že hodnoty pH u vzorků mírně kolísaly, avšak na konci doby skladování došlo k mírnému nárůstu hodnot pH, kde hodnoty byly zpravidla okolo $5,1 \pm 0,2$. Vyšší hodnoty pH byly naměřeny zejména u vzorků výroby B. Vývoj hodnot pH odpovídal biochemickým procesům, probíhajícím u sýrů holandského typu. Počáteční pokles hodnot pH 30. den skladování může být důvodem vyšším obsahem kyseliny mléčné, která vznikla rozkladem laktózy působením bakterií mléčného kvašení, avšak v následujících dnech skladování byla metabolizována za vzniku oxidu uhličitého, acetátu a jiných sloučenin, což mohlo mít za důsledek mírné zvyšování hodnot pH sýru do konce doby skladování [14 – 21].

V průběhu zrání byla sledována změna obsahu volných aminokyselin chromatografickou metodou. Proteolýza je nejvýznamnější biochemickou reakcí v průběhu zrání s velkým dopadem na konečnou chuť, vůni a texturu výrobku [34]. Celkové koncentrace volných aminokyselin lineárně rostly s dobou zrání. Stejný trend růstu koncentrace volných aminokyselin uvedl ve svém výzkumu Pinho a kol. [35]. Bylo zjištěno, že větší vzrůst volných aminokyselin byl zaznamenán u vzorků s nižší koncentrací soli u výroby B (přídavek dekarboxyláza pozitivního kmene). Konečné koncentrace u vzorku A byly v rozmezí $32,3 \pm 0,4$ až $36,0 \pm 0,2$ g.kg⁻¹ a u vzorku B tyto hodnoty činily $34,3 \pm 45,6 \pm 0,2$ g.kg⁻¹.

Z těchto výsledků je patrné, že proteolýza probíhala intenzivněji u výroby B, kde byl přidán dekarboxyláza pozitivní kmen *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, který díky své proteolytické aktivitě mohl značně napomoci k tvorbě vyšších množství volných aminokyselin [36, 37]. Zároveň bylo zpozorováno, že vyšší obsahy aminokyselin byly detekovány zejména u vzorků s nižší koncentrací soli. Gardini a kol. [38], ve své práci uvádí, že mnoho faktorů může ovlivňovat proteolytickou aktivitu, mezi které patří i obsah soli, tudíž vyšší koncentrace NaCl v sýrech mohla inhibovat účinek působení přítomných mikroorganismů, které se podílí na proteolýze bílkovin za vzniku volných aminokyselin.

Během skladování byly sledovány texturní změny u vzorků sýra (pevnost, lepivost a kohezivnost). Lawrence a kol. [39] uvádí, že tvrdost sýra se s dobou zrání zvyšuje díky probíhající proteolýze, která má dále společně s obsahem soli a vlhkostí vzorku vliv na texturní změny sýrů. Při našem experimentu se hodnoty tvrdosti v průběhu zrání lišily, přičemž nejvyšších hodnot dosáhl vzorek sýru 1A3H (124,9 N). V 1. sérii výroby B (přídavek dekarboxyláza pozitivního kmene) se hodnoty vzorků s vysokým obsahem soli v průběhu zrání snižovaly, zatím co u 2. série výroby B hodnoty pozvolna rostly [39]. Stejně jako u vzorků výroby A i u vzorků výroby B byly vyšší hodnoty naměřeny zejména u sýrů s vyšší koncentrací soli. Hodnoty tvrdosti byly na konci skladování mezi výrobou A a B bez významných rozdílů, tudíž lze konstatovat, že přídavek *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* neměl žádný vliv na texturní vlastnosti vyrobených sýrů.

ZÁVĚR

V rámci bakalářské práce byl založen experiment, jehož cílem bylo sledování změn parametrů v přírodním sýru v laboratorně vyrobených sýrech za přídavku komerční smetanové kultury (výroba A) a sýry s přídavkem dekarboxyláza pozitivního *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (výroba B). Během zracího pokusu byly použity chemické a texturní analýzy, kterými byly pozorovány následující parametry: obsah sušiny, soli a pH vzorku dále pak tvrdost, lepivost a kohezivnost vzorku a pomocí chromatografické analýzy bylo provedeno stanovení obsahu volných aminokyselin.

Obsah sušiny po 2 měsících zrání vzrostl na $52,1 \pm 0,3$ %. Během zrání docházelo k vyrovnání obsahu sušiny u obou typů vzorků. Z toho vyplývá, že přídavek dekarboxyláza pozitivního kmene ani rozdílné koncentrace NaCl neměl na obsah sušiny vliv. Obsah NaCl v průběhu zrání vzrostl z $0,3 \pm 0,1$ % na konečných $2,4 \pm 0,1$ % obsahu soli. pH bylo na počátku nižší, avšak v průběhu zrání se hodnoty zvýšily. Nejvyšší naměřenou hodnotou pH na konci skladování vzorků byla hodnota $5,1 \pm 0,3$, tato hodnota byla upozorována u vzorků s přídavkem dekarboxyláza pozitivního kmene. Poněkud nižší hodnoty pH, zejména u 1. série výrob mohly být způsobeny překysáním vzorků 1. den ode dne výroby.

Texturní profilovou analýzou byla pozorována tvrdost, lepivost a kohezivnost vzorku. Vyšší hodnoty tvrdosti byly upozorovány zejména u vzorků s nižším obsahem soli, kde konečné hodnoty přesahovaly i hranici $120 \pm 0,2$ N, avšak u 2. série výrob byly hodnoty výrazně nižší, kde nejvyšší hodnoty tvrdosti přesáhly $90 \pm 0,4$ N.

Obsah volných aminokyselin v průběhu zrání lineárně rostl u všech vzorků ($3,5$ až $45,6 \pm 0,2$ g.kg⁻¹), přičemž vyšších hodnot dosahovaly vzorky s nižším obsahem soli a s přídavkem dekarboxyláza pozitivního kmene z čeho vyplývá, že díky *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* proteolýza probíhala více než u vzorků kontrolní výroby. Oproti tomu nejpomaleji probíhala u kontrolních vzorků s vyšším obsahem soli.

Závěrem lze říci, že přídavek dekarboxyláza pozitivního kmene *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* výrazně ovlivňovalo biochemické procesy v průběhu zrání sýrů, zejména proteolýzou, čímž může mít i vliv na některé parametry hodnotící texturu vzorku.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SÝRY – ZLÍN – 2012 *Perspektivy výroby sýrů a hodnocení jejich jakosti: Sborník příspěvků*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, 2012. ISBN 978-80-7454-231-2
- [2] CALLEC, CH. *Encyklopedie sýrů*. 1. vydání. Přeložila MARTÍNKOVÁ, P. Čestlice: Rebo Productions CZ, 2002. ISBN 80-723-4225-8
- [3] Spotřeba potravin, nápojů a cigaret na 1 obyvatele v ČR v letech 2003 – 2011. [online]. [cit. 2013-05-10]. Dostupné z:
[http://www.czso.cz/csu/2012edicniplan.nsf/t/C40050A1DB/\\$File/21391201.pdf](http://www.czso.cz/csu/2012edicniplan.nsf/t/C40050A1DB/$File/21391201.pdf)
- [4] Mlékárenská technologie II [online]. Dostupný z WWW:
http://utb.cepac.cz/Screens/ContentProvider.aspx/_XN58PfnmmUhGWHSU_TRgcIKsS5Sq285BVJXOV6Bg1/M0029_mlekarenska_technologie%5Cdistančni_text_II%5CM0029_mlekarenska_technologie_distančni_text_II.pdf
- [5] Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb. v platném znění
- [6] BŘEZINA, P., KOMÁR A., HRABĚ, J. *Technologie, zbožížnalství a hygiena potravin*. Vyškov: VVŠ PV, 2001, 177 s. ISBN 80-723-1079-8
- [7] *Dictionary of food science and technology*. 2nd edition. IFIS: Wiley-Blackwell, 2009, xii, 473 p. ISBN 14-051-8740-9
- [8] DRDÁK, M. *Základy potravinářských technologií*. Bratislava: Malé centrum, 1996, 511 s. ISBN 80-967-0641-1.
- [9] FOX, P a P MCSWEENEY. *Dairy chemistry and biochemistry*. 1st ed. New York: Blackie Academic, 1998, xiv, 478 p. ISBN 04-127-2000-0.
- [10] Davídek, J, Janíček, G, Pokorný, J. *Chemie potravin 1*. Vyd. Praha: SNTL, 1983
- [11] KADLEC, P., MELZOCH, K., VOLDŘICH, M. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2009, 536 s. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-051-4.
- [12] *Codex standard for Gouda*, Formely codex STAN C-5-1966. Adopted 2001. revision 2007, amendment 2008.
- [13] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004

- [14] BUŇKA, F. *Technologie mléka a mléčných výrobků* (přednášky) Zlín: UTB, září-prosinec 2012.
- [15] KADLEC, P. *Technologie potravin II*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2002, 236 s. ISBN 80-708-0510-2.
- [16] SCOTT, R, ROBINSON, R., WILBEY, R. *Cheesemaking practice*. 3rd ed. Gaithersburg, Md.: Aspen Publication, 1998, xxiii, 449 p. ISBN 07-514-0417-9.
- [17] CHANDAN, R.C., KILARA, A., SHAH, N. *Dairy processing and quality assurance*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2008, xii, 586 p. ISBN 08-138-2756-6.
- [18] FOX, P. *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg, MD: Aspen Pub., 2000, ix, 587 p. ISBN 08-342-1260-9.
- [19] ALEWIJN, M. *The formation of fat-derived flavour compounds during the ripening of Gouda-type cheese*. Wageningen: s.n, 2006. ISBN 90-850-4381-6.
- [20] FOX, P. F. *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier, 2004, xi, 434 s. ISBN 0-1226-3653-82.
- [21] WEIMER, B. C. *Improving the flavour of cheese*. Abington: Woodhead Publishing Limited, 2007. ISBN 978-1-84569-007-6.
- [22] Biochemie. [cit. 2013-05-04]. Dostupné z:
http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0021biochemie/distančni_text/M0021biochemiedistančni_text.pdf.
- [23] Chemie potravin. [cit. 2013-05-04]. Dostupné z:
http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0028_chemie_a_analyza_potravin/distančni_text/M0028_chemie_a_analyza_potravin_distančni_text.pdf.
- [24] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, xxii, 580 s. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [25] MCMURRY, J. *Organická chemie*. Vyd. 1. VUTIUM: VŠCHT, 2007, 1176 s. ISBN 978-80-214-3291-8.
- [26] HUI, Y. *Dairy science and technology handbook*. New York, N. Y.: VCH, c1993, 3 v. ISBN 35-272-8162-2.
- [27] What is texture analysis? [online]. [cit. 2013-05-10]. Dostupné z:
http://www.viscometers.org/PDF/Brochures/texture/What_Is_Texture.pdf

- [28] WEISEROVÁ, E. *Vliv složení binárních a ternárních směsí fosforečnanových tavicích solí na texturní vlastnosti tavených sýrů*. Zlín, 2012. Disertační práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Technologická fakulta.
- [29] LUCEY, J.A., JOHNSON, M.E., HORNE D.S. Invited Review: Perspectives on the Basis of the Rheology and Texture Properties of Cheese. *Journal of Dairy Science*. 2003, vol. 86, issue 9, 2725-2743 s.
- [30] HORT, J., LE GRYS, G. Developments in the textural and rheological properties of UK Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal*. 2001, vol. 11, 4-7, 475-481 s.
- [31] LAWRENCE, R. C., CREAMER L. K., GILLES J. Texture Development During Cheese Ripening. *Journal of Dairy Science*. 1987, vol. 70, issue 8, 1748-1760 s.
- [32] ISO Standard No. 5534:2004. *Cheese and processed cheese: Determination of the total solid content (reference method)*. Geneva: international Organization for Standardization.
- [33] INDRA, Z.; MIZERA, J. *Control methods for milk and milk products*. Prague: SNTL Publishing, (1992). (in Czech).
- [34] NĚMCOVÁ, L., ŠTĚTINA, J., VALENTOVÁ, H. Proteolysis and Consistency Changes of "Gouda" and "Eidamský blok" Cheeses During Ripening. *Czech Journal of Food Science*, 2001, (no. 19), 67;72 s.
- [35] PINHO, O., FERREIRA, I.M.P. L.V.O., MENDES, E., OLIVEIRA, B.M., FERREIRA, M. Effect of temperature on evolution of free amino acid and biogenic amine contents during storage of Azeitão cheese. *Food Chemistry*. 2001, 75, 287-291 s..
- [36] MEIJER, W., VAN DER BUNT B., TWIGT, M., DE JONGE, B. Lysis of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* SK110 and its nisin-immune transconjugant in relation to flavor development in cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (1998), 1950–1953 s.
- [37] AYAD, E. H. E., VERHEUL, A., DE JONG, C., WOUTERS, J.T.M., SMIT, G. Flavour forming abilities and amino acid requirements of *Lactococcus lactis* strains isolated from artisanal and non-dairy origin. *International Dairy Journal*. 1999, vol. 9, issue 10, 725-735 s.

- [38] GARDINI, F., MARTUSCELLI, M., CARUSO, M.C., GALGANO, F., CRUDELE, M.A., FAVATI, F., GUERZONI, M.E., SUZZI, G. Effects of pH, temperature and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amine production of *Enterococcus faecalis*. *International Journal of Food Microbiology*. 2001, vol. 64, 1-2, 105-117 s..
- [39] LAWRENCE, R. C., CREAMER, L.K., GILLES, J. Texture Development During Cheese Ripening. *Journal of Dairy Science*. 1987, vol. 70, issue 8, 1748-1760 s.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BMK	bakterie mléčného kvašení
GABA	γ – aminomáselná kyselina
GMP	glykomakropeptid
LAB	Bakterie mléčného kvašení
VVTPH	obsah vody v tukoprosté hmotě sýra

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1 - Příklad katabolismu aminokyseliny leucin [21]</i>	<i>18</i>
<i>Obr. 2 - Zátěžová křivka závislosti síly deformace (N) na čase [28]</i>	<i>20</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Graf 1 - Vývoj obsahu sušiny v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série</i>	28
<i>Graf 2 - Vývoj obsahu sušiny v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série</i>	28
<i>Graf 3 - Vývoj pH v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série</i>	29
<i>Graf 4 - Vývoj pH v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série</i>	30
<i>Graf 5 - Vývoj obsahu soli v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série</i>	31
<i>Graf 6 - Vývoj obsahu soli v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série</i>	31
<i>Graf 7 - Obsah volných aminokyselin v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série</i>	32
<i>Graf 8 - Obsah volných aminokyselin v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série</i>	33
<i>Graf 9 - Vývoj tvrdosti sýra v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série</i>	35
<i>Graf 10 - Vývoj tvrdosti sýra v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série</i>	35
<i>Graf 11 - Vývoj lepivosti u vzorků v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série</i>	36
<i>Graf 12 - Vývoj lepivosti u vzorků v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série</i>	37
<i>Graf 13 - Vývoj kohezivnosti u vzorků v průběhu 60 dnů u sýrů 1. série</i>	38
<i>Graf 14 - Vývoj kohezivnosti u vzorků v průběhu 60 dnů u sýrů 2. série</i>	38

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA I: Ukázka jednotlivých kroků laboratorní výroby sýrů holandského typu 50

PŘÍLOHA I: UKÁZKA JEDNOTLIVÝCH KROKŮ LABORATORNÍ VÝROBY SÝRŮ HOLANDSKÉHO TYPU

Varný termos 30 l



Rozkrájení sýřeniny



Velikost sýrařského zrna



Dohřívání sýřeniny



Předlisování sýřeniny



Rozkrájení sýřeniny a pēchování do malých forem



Lisování sýřeniny



Sýry před a po voskování



Zrací komora

