

Změny textury a senzorických vlastností sýrů s plísní *Penicillium nalgiovense* během zrání

Karel Staněk

***Diplomová práce
2011***



**Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická**

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav biochemie a analýzy potravin
akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Karel STANĚK**
Osobní číslo: **T09561**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Změny textury a sensorických vlastností sýrů s plísní *Penicillium nalgiovense* během zrání.**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakteristika plísně *Penicillium nalgiovense*.
2. Technologie výroby a zrání plísňových a omývaných sýrů.

II. Praktická část

1. Výroba modelových vzorků plísňového a omývaného sýra.
2. Texturní a sensorické hodnocení modelových vzorků v průběhu zrání.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

FOX, P. F. a kol. Cheese – chemistry, physics and microbiology [online], 3. vyd., Academic, San Diego, 2004.

FOX, P. F.; FUQUAY, J. W.; ROGINSKI, H. Encyclopedia of dairy sciences, Academic Press, Amsterdam, 2003.

FOX, P. F. a kol. Fundamentals of Cheese Science [online], Springer, Verlag, 2000.

MRÁZEK, J. a kol. Plíseň *Penicillium nalgioense* jako alternativa k výrobě plísňového sýra [online], Potravinářská revue, 2009, s. 53–55.

MRÁZEK, J. a kol. Využití plísně *Penicillium nalgioense* k výrobě plísňového sýra [online], Celostátní přehlídka sýrů 2007, Praha, 2007, s. 232–236.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Josef Mrázek

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání diplomové práce:

25. února 2011

Termín odevzdání diplomové práce:

20. května 2011

Ve Zlíně dne 21. března 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

ABSTRAKT

Teoretická část diplomové práce je věnována popisu biochemické aktivity a možné produkce sekundárních metabolitů plísně *P. nalgiovense*, technologii výroby sýrů s plísní na povrchu, biochemické, texturní změny a vady během zrání sýrů s plísní na povrchu. Praktická část práce je zaměřena na sledování změn tvrdosti a senzorických znaků v průběhu zrání sýrů s plísní na povrchu. Tvrdost byla měřena pomocí přístroje Texture Analyser TA.XT Plus. Analyzovány byly modelové vzorky s kmeny plísní *P. nalgiovense* a *P. camemberti* v průběhu zrání. Vzorky s *P. camemberti* sloužily pro srovnání. Provedeným měřením bylo zjištěno, že k výraznějšímu měknutí dochází u vzorků s *P. camemberti*.

Klíčová slova: sýr, plísňové kultury, *Penicillium nalgiovense*, textura, tvrdost.

ABSTRACT

The theoretical part of master thesis is about focused description biochemical activity and producing secondary metabolites of mould *P. nalgiovense*, production technology of surface mould-ripened soft cheese, biochemical reaction, texture changes and defects during the ripening of surface mould-ripened soft cheese. The practical part deals with changes hardness and sensory analysis during the ripening of surface mould-ripened soft cheese. Hardness analysed using Texture Analyser TA.XT Plus. Model samples with selected strains of *P. nalgiovense* and *P. camemberti* were observed during ripening period. Products with *P. camemberti* were control samples. The results showed that markedly softening the samples with *P. camemberti*.

Keywords: cheese, fungal culture, *Penicillium nalgiovense*, texture, hardness.

Děkuji vedoucímu diplomové práce Ing. Josefu Mrázkovi za odborné rady, věcné připomínky, spolupráci při praktickém řešení výroby sýrů a poskytnutí plísňových kultur. Rovněž bych chtěl poděkovat panu Ladislavu Hudečkovi za podporu při praktické výrobě sýrů. Bc. Ludmile Zálešákové za asistenci k určení základní analýzy. Dále doc. Ing. Františku Buňkovi, PhD. za pomoc, ochotu a poskytnutí cenných rad při stanovení texturní analýzy. Mlékárně Kromilk a.s., Kroměříž za mléko pro výrobu sýrů. Vyšší odborné škole potravinářské a Střední průmyslové škole mlékárenské Kroměříž za poskytnutí prostor a vybavení pro výrobu a zrání sýrů. Studentům Střední průmyslové školy mlékárenské Kroměříž za pomoc při senzorickém hodnocení vyrobených vzorků sýrů.

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

Příjmení a jméno: STANEK KAREL

Obor: THEVP

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 20.5.2010

Karel Stanek

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

OBSAH

ÚVOD.....	8
I TEORETICKÁ ČÁST.....	9
1 KRÁTKÉ ROZDĚLENÍ SÝRŮ	10
2 POHLED DO HISTORIE NALŽOVSKÉHO SÝRA.....	12
3 PLÍŠŇOVÉ KULTURY	14
3.1 <i>PENICILLIUM NALGIOVENSE</i>	15
4 VÝROBA SÝRŮ S PLÍŠNÍ NA POVRCHU.....	17
4.1 <i>VÝBĚR A OŠETŘENÍ MLÉKA</i>	19
4.2 <i>ÚPRAVA MLÉKA PŘED ZPRACOVÁNÍM</i>	21
4.3 <i>SRÁŽENÍ MLÉKA</i>	23
4.4 <i>ZPRACOVÁVÁNÍ A FORMOVÁNÍ SÝŘENINY</i>	25
4.5 <i>ODKAPÁVÁNÍ A SOLENÍ SÝRA</i>	27
5 ZRÁNÍ SÝRŮ S PLÍŠNÍ NA POVRCHU	29
5.1 <i>GLYKOLÝZA</i>	30
5.2 <i>PROTEOLÝZA</i>	32
5.3 <i>LIPOLÝZA A TVORBA AROMA</i>	35
5.4 <i>TEXTURA</i>	38
6 VADY ZRAJÍCÍCH SÝRŮ S PLÍŠNÍ NA POVRCHU	41
II PRAKTICKÁ ČÁST	44
7 CÍL PRÁCE	45
8 MATERIÁL A METODIKA.....	46
8.1 <i>POPIS EXPERIMENTU</i>	46
8.1.1 První experiment	46
8.1.2 Druhý experiment.....	49
8.2 <i>ZÁKLADNÍ ANALÝZA</i>	52
8.3 <i>TEXTURNÍ ANALÝZA</i>	52
8.4 <i>SENZORICKÁ ANALÝZA</i>	52
9 VÝSLEDKY A DISKUZE	53
9.1 <i>ZÁKLADNÍ ANALÝZA</i>	53
9.1.1 První experiment	53
9.1.2 Druhý experiment.....	59
9.2 <i>TEXTURNÍ ANALÝZA</i>	64
9.2.1 První experiment	64
9.2.2 Druhý experiment.....	66
9.3 <i>SENZORICKÁ ANALÝZA</i>	68
ZÁVĚR.....	70
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	71
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	77
SEZNAM OBRAZKŮ	78
SEZNAM TABULEK A SCHÉMAT	79
SEZNAM GRAFŮ A ROVNIC	80
SEZNAM PŘÍLOH.....	81

ÚVOD

Ve své diplomové práci jsem se zaměřil na sledování plísňových kultur *P. nalgiovense*, využívané pro výrobu fermentovaných masných výrobků. Hodnotil jsem změny tvrdosti sýrů a porovnával je se sýry s plísní *P. camemberti*. Cílem mé diplomové práce bylo určit, zda se plísňové kultury *P. nalgiovense* hodí pro výrobu sýrů s plísní na povrchu. K tomuto účelu jsem vyrobil sýry s plísní *P. nalgiovense*. Tvrdost jsem měřil na přístroji Texture Analyser TA.XT Plus a porovnával se sýry s plísní *P. camemberti*. Za důležité jsem považoval sledování sensorických vlastností sýrů s plísní *P. nalgiovense* během zrání.

Měkké sýry s plísní na povrchu patří mezi oblíbené mléčné výrobky, především díky své chuti a aroma. Jejich výroba je rozšířena po celém světě např. Camembert, Brie, Neufchatel, Altenburger Ziegenkäse, Hermelín apod.

Typickým znakem této skupiny sýrů je povrchovým růst bílého mycelia *Penicillium camemberti* (syn. *P. caseicolum*, *P. album*, *P. candidum*, *P. rogeri*), které dává sýru charakteristický vzhled, konzistenci, chuť a vůni. V některých případech se kombinuje s jinými povrchovými kulturami (*Geotrichum candidum*, micrococci, corynebacterie aj.)

Vzhled je dán porostem plísně a má být vysoký, pevný, rovnoměrný po celém povrchu sýra, v žádném případě by se neměl ze sýra před konzumací odstraňovat (Březina a kol. 2001). Měknutí sýra způsobuje povrchová flóra, produkcí komplexní kaskády reakcí v průběhu zrání. Metabolismus bílkovin a kyseliny mléčné (vytvořené bakteriemi mléčného kvašení) zvyšuje pH na povrchu a přispívá k migraci vápníku směrem k povrchu sýra (Tamime a kol. 2007). Chuť a vůně je tvořena celou řadou těkavých sloučenin, které se během konzumace postupně uvolňují (Vítová a kol. 2006) a do značné míry závisí i na technologii výroby (hlavně u sýrů s chráněným označením). Chuť je smetanově jemná (u průmyslové výroby), někdy slabě nasládlá až ostřejší a slanější (např. Camembert de Normandie). Vůně je houbová (žampionová) s možným náznakem čpavku.

V západních Čechách na přelomu a počátkem 20. století využívala k výrobě Nalžovského sýra plíseň *P. nalgiovense*. Jednalo se o sýr velmi blízký Camembertu, jehož povrch není sněhově bílý, ale naopak jemně narůžovělý až červený (Kopáček 2008). Znovuobnovením tohoto zapomenutého českého sýra se dříve zabýval Doležálek (1967) nyní se výzkumem zabývá Mrázek (2009). Výzkum je směřován k výběru optimálních kmenů plísně *P. nalgiovense* (některých používaných i k výrobě fermentovaných salámů) pro výrobu Nalžovského sýra.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KRÁTKÉ ROZDĚLENÍ SÝRŮ

Sýry lze dělit na základě rozličných kritérií do mnoha skupin. Nejstarší způsob dělení sýrů je podle druhu srážení mléka na kyselé a sladké. Kyselé sýry srážíme výhradně pomocí bakterií mléčného kvašení a získáme tvaroh. U sladkých sýrů srážíme pomocí syřidla a získáme sýr. Základní rozdělení sýru je na přírodní a přepracované. Další dělení může být na základě použitého mléka (kravské, kozí, ovčí, buvolí aj.), podle srážecího činidla (syřidlo, kyselina a kyselina/teplota), zpracování koagula (velikosti zrna), oddělování syrovátky (nelisované, lisované), obsahu vlhkosti (velmi tvrdé, tvrdé, polotvrdé a měkké), obsahu tuku (vysokotučné, plnotučné, polotučné, nízkotučné a odtučněné), zrání (nezrající, zrající) atd.

Nejčastěji se přírodní sýry rozdělují podle konzistence, která vychází ze vztahu k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra (viz **Obr. 1**). Dají se rozdělit na **a**) měkké, **b**) poloměkké, **c**) polotvrdé, **d**) tvrdé a **e**) extra tvrdé sýry.

$$\text{voda v tukuprosté hmotě sýra} = \frac{g \text{ vody}}{100 - g \text{ tuku}} \cdot 100$$

Obr. 1: Vztah k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra (Vyhláška č. 77/2003 Sb.).

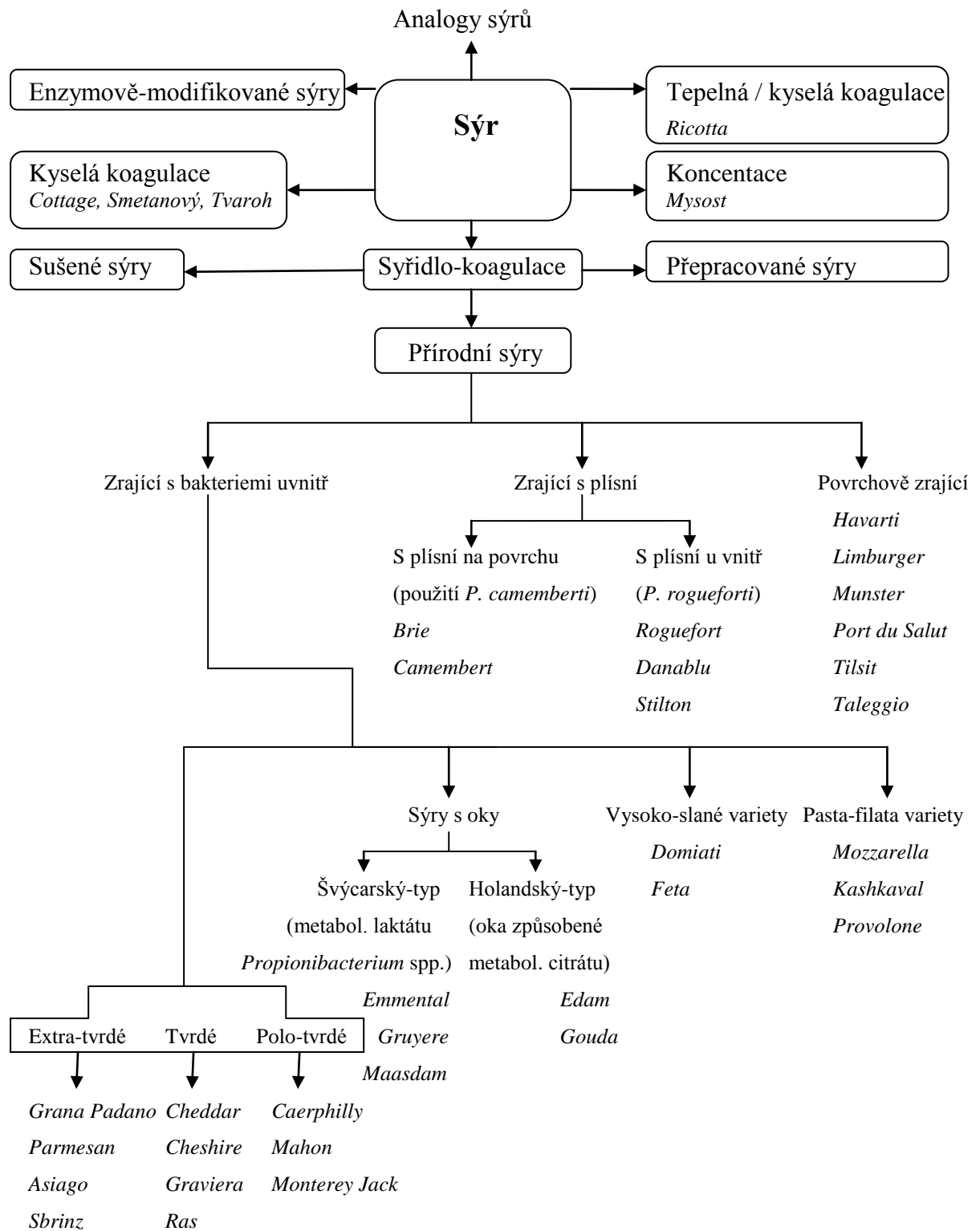
a) měkké sýry mají více než 68 % vody v tukuprosté hmotě sýra. Většinou jde o čerstvé nezrající sýry, které mají vysoký obsah vody. Mohou vyrábět i z netučného tvarohu a jsou krémové, termizované, solené nebo nesolené, ochucené aj.

b) poloměkké sýry procházejí krátkým obdobím zrání. Obsahují 68 – 62 % vody v tukuprosté hmotě sýra. Dají se dělit na sýry zrající od povrchu. A to na sýry s plísní na povrchu (Camembert), kde zrání ovlivňuje plísněná kultura. Sýry zrající pod mazem (Limburg), zrání ovlivňuje povrchová mikroflóra (*Brevibacterium linens*, aj.). Dalšími druhy jsou hnětené (pařené) sýry někdy označované jako pasta filata (Mozzarella), kdy se sýření na spaňuje tekutinou a vytahuje v provazcích. Bílé sýry (Feta) zrající v solném nálevu. Na hranici poloměkkých a polotvrdých sýrů se pohybují sýry s plísní těště (Stilton), kde zrání je ovlivněno plísní *Penicillium roqueforti* uvnitř sýra.

c) polotvrdé sýry (Edam) se dají dobře krájet a zrají déle než měkké sýry, jsou měkčí °šťavnatější než sýry tvrdé. Obsah vody v tukuprosté hmotě sýra mají 61,9 – 55,0 %.

d) tvrdé sýry (Emmental) mají nižší obsah vody 54,9 - 47 % v tukuprosté hmotě sýra, zrají déle (nejméně tři měsíce) a mají tvrdou kůru.

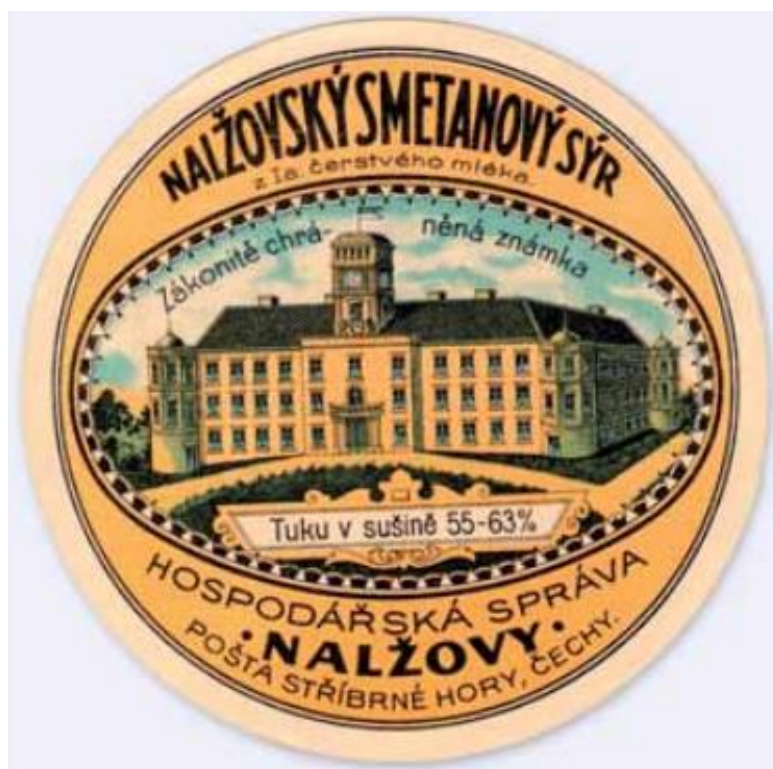
e) extra tvrdé sýry (Parmesan), které zrají velmi dlouhou dobu, obsah vody v tukuprosté hmotě sýra je zde méně jak 47 %. Většinou se používají se na strouhání.



Obr. 2: Rozmanitost sýrů, sýry jsou rozděleny do variet podle způsobu srážení, zrání a technologie (Fox a kol. 2004, s. 8, upraveno).

2 POHLED DO HISTORIE NALŽOVSKÉHO SÝRA

Koncem 19. století se v západních Čechách vyráběl původní český plísňový sýr – Nalžovský sýr. Výroba tohoto sýra se uskutečňovala v Nalžovských horách nedaleko Sušice (Mrázek a kol. 2009). Nalžovský sýr se lišil od francouzských plísňových sýrů narůžovělou barvou, kterou vytvářela charakteristická plíseň *Penicillium nalgiovense* a způsob úpravy sýrů při zrání, kde byly sýry omývány, což je více charakteristické pro sýry zrající pod mazem.



Obr. 3: Etiketa Nalžovského sýra (Kopáček 2008, s. 35).

Historie tohoto sýra je spjata s hrabětem Taaffem, tehdejším ministerským předsedou, který poslal mlékařského inspektora Čenka Charouska na studijní cestu do Francie, kde se mu zalíbil Camembert. Po návratu uskutečnil výrobu tohoto sýra na panském dvoře v Uječíně a ve Vlčkovcích a následné zrání poté probíhalo v zámecké sýrárně v Kolinci (Mára 1996), kde sýry zrály na rohožích z nemláčené slámy. Sýry se během zrání pokrývaly sametově bílým porostem a dalším zráním se měnily přes jemně růžovou až červenou barvu, posléze až do zeleno-šeda (Kopáček 2008, Doležálek 1967).

V roce 1897 bylo vyrobeno 148 708 kusů tohoto sýra, v následujících letech se produkce tohoto sýra zmenšovala a zkracovala se i doba zrání (Kopáček 2008).

Kopáček (2008) uvádí výrobní postup Nalžovského sýra z roku 1924: „Čerstvě nadojené mléko se nejprve poněkud ochladí, posýří a vzniklá sýřenina poté nalévá do tvořítek vyložených sáčky. Po 12 hodinách se sáčky vyjmou, přenesou do solovny, kde se sýr na povrchu solí. Osolený sýr se dává do sklepa (18–19 °C), kde jsou rozšířeny ušlechtilé plísňe. Sýr dostává na povrchu nejprve bílý porost, který později zčervená a ve vysokém stáří sýra až zezelená. Zrání trvá asi 14–21 dní. Sýr představuje koláčky 10–11 cm v průměru, 2–3 cm výšky a váží 200 g.“ (Kopáček 2008, s. 35-36).

3 PLÍŠŇOVÉ KULTURY

Plísňové kultury hrají důležitou roli při zrání fermentovaných potravin. Na výrobu se používají především tři druhy z rodu *Penicillium*. *P. camemberti* pro sýry s bílou plísní na povrchu, *P. roqueforti* pro sýry s modrou plísní a *P. nalgiovense* pro výrobu fermentovaných masných výrobků¹ (Durieux, Simon 2002).

Plísňové kultury značně ovlivňují chuť a texturu finálních výrobků. Nejdůležitější je enzymová aktivita proteáz a lipáz. Proteázy rozkládají bílkoviny na chuťově aktivní peptidy a aminokyseliny, lipázy hydrolyzují triacylglyceroly na glycerol a mastné kyseliny. Mastné kyseliny mohou být dále lipoxygenasami přeměněny na methyl-ketony a další látky ovlivňující organoleptické vlastnosti plísňových výrobků.

Dalším důležitým rysem plísňových kultur je ochrana povrchu výrobku proti nežádoucím mikroorganismům. Tyto mikroorganismy by mohly produkovat nežádoucí zabarvení nebo sekundární metabolity. Během fermentace se pH produktu zvyšuje v důsledku metabolické aktivity plísňové kultury. Kyselina mléčná produkovaná bakteriemi mléčného kvašení je degradována společně s bílkovinami, které mohou být hydrolyzovány až na amoniak. Oba degradační procesy vedou k nárůstu pH, což umožňuje růst patogenních nebo toxinogenních bakterií jako je *Listeria monocytogenes* nebo *Staphylococcus aureus*. Startovací plísňové kultury potlačují růst těchto nežádoucích bakterií a zlepšují bezpečnost potravin.

Durieux a Simon (2002) uvádějí požadavky, které musí splnit plísňové kmeny, aby mohly být použity jako startovací kultura:

- Nesmí produkovat mykotoxin.
- Nesmí produkovat jiné nežádoucí sekundární metabolity.
- Měla by produkovat požadovanou změnu chuti výrobku.
- Měla by se přizpůsobit na potravinářský výrobek.
- Měla by konkurovat nežádoucím plísním.
- Měla by mít antibakteriální aktivitu proti patogenům.

Ne všechny používané kmeny splňují všechny tyto požadavky. Mnohé druhy rodu *Penicillium* sp. jsou schopny produkovat toxické sekundární metabolity nebo mykotoxiny.

¹ Durieux a Simon (2002) uvádějí, že *P. chrysogenum* se někdy využívá jako startovací plísňová kultura a je často izolován z fermentovaných masných výrobků (Durieux a Simon 2002, s. 13).

Dokonce se některé druhy v současné době používají jako plísňové startovací kultury. Z tohoto důvodu je důležitý screening kmenů pro jednotlivé charakteristiky a optimalizace konkrétních požadavků (Durieux a Simon 2002).

3.1 *Penicillium nalgioense*

Plíseň *P. nalgioense* byla v roce 1932 poprvé popsána Otakarem Laxou a zapsána do světové sbírky pod číslem NRRL 911 (Raistrick, Ziffler 1951). Otakar Laxa ji izoloval z českého Nalžovského sýra (Jesenská 1999). Kmeny této plísně se převážně využívají na výrobu plísňových fermentovaných salámů, ale mohou ovlivňovat i zrání přírodních sýrů (Staněk 2009, Mrázek a kol. 2009).² *P. nalgioense* můžeme zařadit dle morfologických znaků do třídy *Ascomycetes*, řádu *Eurotiales*, čeledi *Trichocomaceae* a rodu *Penicillium* (Šilhánková 2002).

Durieux a Simon (2002) rozlišují 4 odlišné druhy *P. chrysogenum* na základě analýzy isoenzymů: *P. chrysogenum*, *P. dipodomyis*, *P. flavigenum* a *P. nalgioense*. Na molekulární úrovni jsou si *P. nalgioense* a *P. chrysogenum* velice podobné.³ Dalším aspektem naznačující blízký vztah mezi oběma druhy je průmyslová výroba penicilinu. Schopnost vytvářet penicilin u *P. nalgioense* popsali Färber a Geisen (1994), Andersen a Frisvad (1994). Všechny jejich analyzované kmeny byly schopny produkce tohoto sekundárního metabolitu. Produkci penicilinu prokázali pomocí PCR (polymerázová řetězová reakce), kde geny pro produkci penicilinu jsou si velmi podobné na nukleotidové úrovni. Geny *pcbC* (kódující isopenicilin syntetázu) jsou totožné z 94 %⁴ a mají genom skládající se ze čtyř chromozomů. Chromozomy *P. nalgioense* jsou menší a celková velikost genomu⁵ je

² Durieux a Simon (2002) uvádějí, že *P. nalgioense* může způsobovat kažení některých sýrů (Durieux, Simon 2002, s. 15). Dle Lund, Filtenborg, Frisvad (1995) tvoří obecnou mikroflóru sýrů a může se vyskytovat u omývaných sýrů (Lund, Filtenborg, Frisvad 1995, s. 175-178).

³ Färber a Geisen (2000) uvádějí podobnost i k *P. dipodomyis*, která také vyrábí penicilin (Färber a Geisen 2000, s. 62).

⁴ Färber a Geisen (1994) uvádějí, že za biosyntézu β -laktamových antibiotik penicilinu jsou zodpovědné tři geny: *pcbAB* kódující [6-(L- α -aminoadipyl)-L-cysteiny]-D-valin syntetázu, *pcbC* kódující isopenicilin-N-syntetázu a *penDE* kódující acyl koenzym A: komplex kyseliny 6-aminopenicilanové acyltransferasy (Färber, Geisen 1994, s. 3401).

⁵ Färber a Geisen (2000) uvádí, že velikost genomu se může značně lišit, např. pro *P. janthinellum* se velikost genomu odhaduje v rozmezí mezi 39 a 46 Mb (Färber a Geisen 2000, s. 62).

26,5 Mb⁶ a u *P. chrysogenum* je 34,1 Mb. Geny pro syntézu penicilinu *P. chrysogenum* se nacházejí na chromozomu I (10.4 Mb) a u *P. nalgiovense* se tyto geny nacházejí na chromozomu IV (4.1 Mb).

Laich a kol. (1999), kteří se zabývali biosyntézou penicilinu na plísňových salámech, uvádějí, že penicilin je produkován na začátku růstu a zrání plísně, šíří se jen do vnější vrstvy (neproniká do jádra) a v konzumní zralosti již není detekován. Rozklad penicilinu pravděpodobně způsobuje dlouhodobě kyselé pH.

P. nalgiovense může produkovat sekundární metabolity: chrysogin (tvoří rovněž *P. chrysogenum*), isocoumarin⁷ a pigmenty nalgioaxin, nalgiovensin (Ludemann a kol. 2009). Povrch sýra pokrývá vlnitým až vločkovitým porostem bílé barvy. Při zrání se postupně zbarvuje do žutozelena a na konci zrání se objevuje melírovaná červená až růžová, která je spojena s rozkladem tyrosinu a alaninu. Ve srovnání s *P. camemberti* rozkládá bílkoviny více do hloubky a vytváří méně amoniaku. Dle Bejblové (2010) má *P. nalgiovense* obecně vyšší proteolytickou aktivitu než *P. camemberti*. Rozklad mléčného tuku je méně výrazný než u *P. camemberti* (Doležálek 1967).⁸ Optimální pH *P. nalgiovense* se pohybuje v rozmezí 4,5 – 7,0 (schopná růstu i při pH 2.0 – 8.5). Nefermentuje laktózu, fruktózu, maltózu ani glukózu (Jesenská 1999). Dle Doležálka (1967) syřidlové enzymy stimulují růst plísně, naopak vyšší dávky soli (nad 1,5 %) její růst potlačují.⁹ Také nízká teplota (pod 10°C) zpomaluje její růst a enzymatické pochody.

⁶ Velikosti jednotlivých chromozomů *P. nalgiovense* určené PFGE (elektroforéza v pulzním elektrickém poli) je: 9.1 Mb, 7.9 Mb, 5.4 Mb a 4.1 Mb, které udávají souhrn velikosti genomu 26.5 Mb (Färber a Geisen 2000, s. 59).

⁷ Larsen a Breinholt (1999) uvádějí isochromové (isocoumarin) metabolity produkované *P. nalgiovense* izolované ze sýra: dichlorodiaportin [3-(3,3-dichloro-2-hydroxy-propyl)-8-hydroxy-6-methoxy-isochromen-1-on], diaportinol [3-(2,3-dihydroxy-propyl)-8-hydroxy-6-methoxyisochromen-1-on] a diaportinic kyselinu [2-hydroxy-3-(8-hydroxy-6-methoxy-1-oxo-1H-isochromen-3-yl)-propanoic kyselina] (Larsen a Breinholt 1999, s. 1182).

⁸ Válková (2009) také uvádí, že *P. nalgiovense* má nižší lipolytickou aktivitu než *P. camemberti*. Dodává však, že některé kmeny mohou mít i vyšší lipolytickou aktivitu jako *P. nalgiovense* CCDM 329 (Válková 2009, s. 39).

⁹ Obsah soli v sýru by neměl překročit 1,5 %, protože při vyšších dávkách soli (okolo 3 % používaných při výrobě Camembertu) se na povrchu tvoří bělavý maz a potlačuje růst plísně a zrání sýra (Doležálek 1967, s. 234-235). Dle Válkové (2009) v prostředí s větší koncentrací soli (více než 3 %) omezuje růst kolonií (Válková 2009, s. 42).

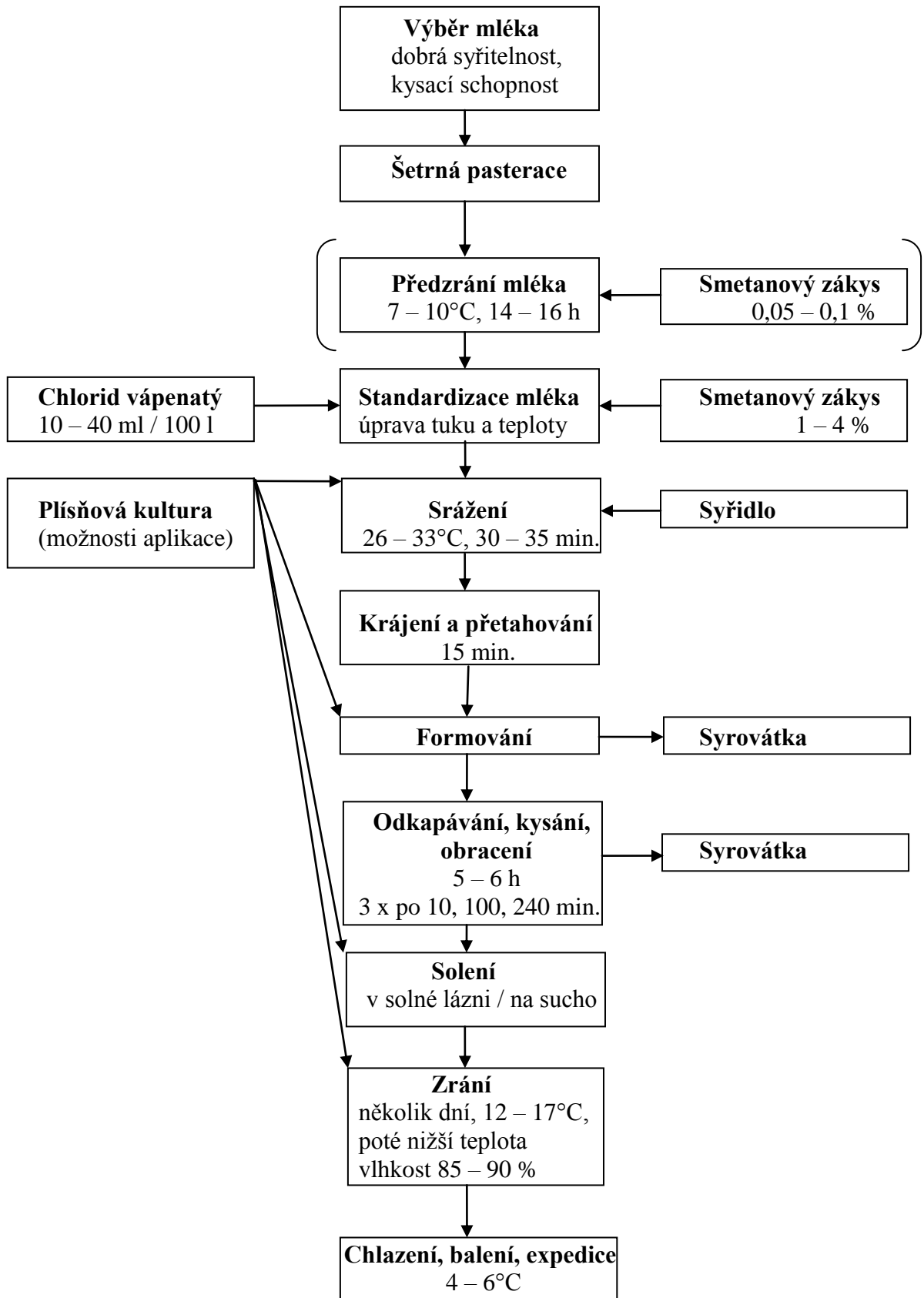
4 VÝROBA SÝRŮ S PLÍSNÍ NA POVRCHU

Základní surovinou je u nás mléko kravské (někdy i kozí a ovčí nebo případně jejich směs). Mléko musí mít dobrou syřitelnost (schopnost enzymového srážení), prokysávací schopnost a mikrobiologickou jakost. Mléko se šetrně pasteruje pro zajištění zdravotní nezávadnosti a standardizuje se jeho tučnost pro výsledný obsah tuku v sušině (t. v s.) sýra. Obsah tuku i bílkovin (především kasein), které mají rozhodující vliv na výtěžnost, v průběhu roku není stálý jejich poměr a při standardizaci se musí zohlednit. (Někdy se mléko nechává předzrát, aby se částečně odstranily denaturační změny bílkovin a vytvořily lepší podmínky pro růst bakterií).

Přidává se smetanový zákys (bakterie mléčného kvašení) pro snížení pH tvorbou kyseliny mléčné a chlorid vápenatý pro zlepšení syřitelnosti a pevnosti vzniklé sýřeniny. Upraví se srážecí teplota na 31°C. Následuje prozrání (bakteriemi) a přidává se syřidlo, společně s plísňovou kulturou (*P. camemberti*), která se může přidat i v pozdější fázi výroby. Probíhá srážení (koagulace) mléka syřidlem. Dochází ke štěpení peptidové vazby mezi Phe₁₀₅ a Met₁₀₆ aminokyselinou κ-kaseinu (primární fáze). Poté probíhá tvorba sýřeniny (sekundární fáze).

Po dosažení požadované tuhosti se sýřenina šetrně rozkrájí a formuje (nalévá nebo vypustí) z výrobníku do tvořítek. Naplněná tvořítko se během odkapávání obracejí. Poté se sýry solí na sucho (posypem či vtíráním) nebo v solné lázni. Nasolené sýry se vyjmou z tvořítek a pokládají na rošty (drátěné, ze syntetického vlákna nebo lísky z rozříznutých rákosů) a nechávají se 1 až 2 dny oschnout. Poté se aplikuje plísňová kultura rozstříkem nebo oplachem. Rošty se umístí do zracího sklepa a zrají několik dní při teplotě 12 až 17°C a relativní vlhkosti 85 až 90 % pro lepší rozvoj plísně, poté se teplota snižuje. Během zrání se obden obracejí, čímž se zabrání deformaci. Nakonec se balí do hliníkové fólie a vkládají do krabiček (papírových, dřevěných) a skladují se při teplotě 4 až 6°C.

Schéma 1: Výroba sýra s plísní na povrchu.



4.1 Výběr a ošetření mléka

Mléko určené pro výrobu sýrů musí kromě všeobecných požadavků splňovat dobrou syřitelnost, prokysávací schopnost a mikrobiologickou čistotu. Na tyto vlastnosti působí celá řada činitelů.

Syřitelnost mléka je schopnost mléka srážet se syřidlem v důsledku koagulace kaseinu a tvořit tak sýřeninu vyžadovaných vlastností (Babák, Šupinová, Vítová 2010, s. 572). Syřitelnost je ovlivněna zdravotním stavem dojnice a její výživou, stadiem laktace, obsahem vápníku v ionizované formě, množstvím kaseinu a zastoupením jeho jednotlivých frakcí, hodnota pH, teplota skladování mléka.¹⁰ Při zhoršené syřitelnosti se tvoří málo kompaktní křehká sýřenina, takže značné množství sýřeniny i tuku odchází do syrovátky a vytvořené sýry se pak vyznačují nízkou hodnotou sušiny. Ta vede k ekonomickým ztrátám při výrobním procesu. Obsah tuku v mléce nemá zřetelný vliv na syřitelnost pokud je obsah kaseinu konstantní. Synereze i pevnost sýřeniny se ale s obsahem tuku zhoršuje. (Buňka 2010, Kadlec, Melzoch, Voldřich 2010, Gajdůšek 2000).

Prokysávací schopnost mléka je rozhodující pro růst čistých mlékařských kultur. Významnou roli hrají minerální látky a jejich formy, pH mléka, obsah vitamínů, kontaminanty inhibující růst čistých mlékařských kultur (Buňka 2010).

Rozhodující je i mikrobiologická čistota mléka, kdy by měl být obecně nízký celkový počet mikroorganismů (s důrazem na nízký počet psychrotrofních mikroorganismů (zejména z důvodu minimalizace přítomnosti jejich termostabilních enzymů), absence bakterií máselného kvašení, hnilobných a plynotvorných bakterií). Vliv na mikrobiologickou čistotu má hlavně hygiena získávání a ošetřování mléka a také krmivo (Buňka 2010).

Z ekonomického hlediska je důležitý i obsah bílkovin v mléce. Pokles obsahu bílkovin v mléce o 0,1 % představuje zvýšení spotřeby mléka na 1 kg sýra v průměru o 0,3 až 0,5 litrů.¹¹ Úměrně s měnícím se obsahem bílkovin v mléce je nutno upravovat obsah tuku, aby bylo dosaženo u sýrů požadovaného obsahu tuku v sušině. (Buňka 2010, Gajdůšek 1997).

¹⁰ Při delším skladování pod 4°C se změní iontová rovnováha (sníží se disociace kyselých fosforečnanů a citrátů vápenatých a roste podíl nerozpustného vápníku (koloidní kalcium fosfát), rovněž dochází ke zvyšování pH (o několik desetin) prodlouží se doba srážení a zhorší se kvalita sýřeniny (Buňka 2010).

¹¹ Zastoupení jednotlivých frakcí bílkovin je dáno geneticky (neměnné). Ale obsah bílkovin (obsah nebíkovinového dusíku, poměrové zastoupení syrovátkových bílkovin a kaseinu, velikost kaseinových micel) v prů-

Pro zajištění zdravotní nezávadnosti je nutné mléko tepelně ošetřit (pasterovat). Mléko je prostředí, kde se mohou rozvíjet patogenní mikroorganismy např.: *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* aj.¹² Pasterací deaktivujeme část přítomných enzymů a vytvoříme (standardizujeme) podmínky pro výrobu. Efekt pasterace je dán kombinací teploty a její výdrže (zpravidla 72 – 76 °C po dobu 15–20 sekund).¹³

Pasterací si mléko obvykle do značné míry zachová své přirozené vlastnosti (senzorická jakost, srážecí a kysací schopnost aj.). Ale dochází k částečné denaturaci sérové bílkoviny, změnám forem přítomného vápníku (v kyselém prostředí rozpustný CaHPO_4 se mění na nerozpustný $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) a částečné destrukci vitamínů (Buňka 2010, Prívára 2010).

Při záhřevu mléka nad 60°C dochází k vazbě denaturovaného β -laktoglobulinu na κ -kasein. Produkty této interakce bílkovin na povrchu kaseinové micely blokují funkční skupinu kaseinu (ztížena reakce s Ca^{2+} ionty při srážení) (Březina, Jelínek 1990). Šetrnou pasterací denaturuje asi 10 – 20 % u vysoké až 50 % sérové bílkoviny.¹⁴ Kaseinové micely ztrácejí schopnost smršťování, zhoršuje se slepitelnost zrna a vytváří se tuhá až křehká konzistence s možnou tvorbou trhlin. Zvyšuje se výtěžnost, ale i vazba vody. Může tedy dojít ke snižování sušiny sýrů a ke zhoršení jejich jakosti (albumin a globulin zadržují větší podíl vody), je to způsobeno větším přechodem bílkovin do syrovátky a tím nižší využití při výrobě sýrů. Rozpustné formy vápenatých solí přejdou (ve větší míře u vysoké pasterace) do forem nerozpustných (**Rov 1.**).

Dle Zimáka (1988) přechází asi 50 % solí z rozpustné formy na nerozpustnou. Rozkladem uhličitanů a vyprcháním oxidu uhličitého se sníží kyselost mléka, a prodlouží doba srážení.

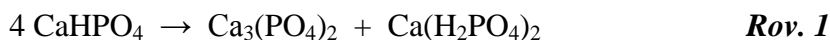
běhu roku kolísá a je ovlivněno (z chovatelského hlediska) zdravotním stavem zvířat a výživou (Gajdůšek 1997, s. 30-33).

¹² Kromě patogenních mikroorganismů se v mléce mohou vyskytovat další, kteří způsobují kažení a negativně ovlivňovat technologický proces. A řada z nich je mnohem termotolerantnější než běžné patogenní mikroorganismy (spory *Clostridium* a *Bacillus*, *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Enterococcus* spp. (Buňka 2010).

¹³ Šetrná pasterace je nejméně 71,7 °C po dobu nejméně 15 s. Dochází k inaktivaci alkalické fosfatázy (odpovídá i usmrcení patogenních mikroorganismů) a zachovává laktoperoxidázy, která se v mléce inaktivuje při teplotách vyšších než 80 °C (Mlékárenská technologie I distanční text 2007a, s. 87-94).

¹⁴ Vysoká pasterace může způsobovat nahořklou až trpkou chuť, protože sérové bílkoviny obsahují asi 10-krát více siřných aminokyselin (cystein, methionin, cystin) než kasein. Také mohou zpomalovat růst bakterií mléčného kvašení uvolňováním sulfhydrylových skupin. (Zimák 1988, s. 122-123).

Také negativně ovlivňuje vstřebávání minerálů včetně vápníku, tím že denaturuje bílkovinu, na kterou jsou navázané. Řeší se přidávkem CaCl_2 .



Vyšší pasterační teplota inaktivuje bioaktivní peptidy v mléce, aktivita vitaminů rozpustných v tuku zůstává neporušená a vitamíny skupiny B si zachovávají svoji aktivitu při šetrné pasteraci. Dle Prívary a kol. (2010) prozrávání sýrů vyrobených z mléka vysoko pasterovaného je v porovnání se sýry z šetrně pasterovaného mléka rychlejší.

4.2 Úprava mléka před zpracováním

U mléka upravujeme obsah tuku, abychom zajistili požadovaný obsah tuku v sušině (t. v s.) sýra. Snižujeme kyselost mléka pro podporu srážení, přidáním bakterií mléčného kvašení (BMK). A upravujeme teplotu pro optimální průběh srážení.

Tab. 1: Tučnost mléčné směsi plísňových sýrů v závislosti na obsahu tuku v sušině (Svoboda a kol. 1966, s. 128).

Tučnost mléčné směsi [%]	Obsah tuku v sušině sýra [%]
0,42	10
0,94	20
1,61	30
2,50	40
3,07	50
3,75	60

Úpravu tučnosti mléka můžeme provést ještě před pasterací mléka. Zpravidla se upravuje směs plnotučného a odstředěného mléka. Rozdíl 0,1 % v tučnosti směsi mléka působí 2 %-ní rozdíl obsahu t. v s. sýra (**Tab. 1**).¹⁵ Vyšší obsah tuku někdy není na závadu a využívá se, když cena másla je nižší než cena sýrů. Tuk se dá v sýru lépe zpeněžit. Zvýšením obsahu tuku v sýrech se zlepší jejich chuť i konzistence (Havlíček 1975). Je však nutné zohlednit také obsahu tukuprosté sušiny a způsob zpracování sýřeniny (Mrázek, osobní korespondence z 9.5. 2011).

¹⁵ Čím vyšší je obsah bílkovin v mléku, tím menší je spotřeba mléka na 1 kg sýra, ale tím vyšší musí být tučnost mléka ve výrobníku, aby se dosáhl předepsaný obsah tuku v sušině. Naopak, při nízkém obsahu bílkovin se spotřeba mléka na výrobu 1 kg sýra zvyšuje, takže před výrobou stačí nižší tučnost mléka (Prívary a kol. 2010 s. 224).

Kyselost mléka ve výrobě před přidáním syřidla má značný vliv na začátek a rychlost srážení. Pevnost sýřeniny je vyšší u mléka s vyšší kyselostí a také čas krájení se dosáhne podstatně dříve. pH by mělo být minimálně 6,2 (maximálně 8,0 až 8,6 SH).¹⁶ Vhodnou kyselost dosáhneme přidáním BMK (*Lactococcus lactis*), které brání rozvoji nežádoucí mikroflóry a podmiňují dobrou jakost sýrů. Činnost těchto kultur závisí na jakosti zpracovávaného mléka. Přidáváme je ve formě smetanového zákysu 1 až 4 % asi 15 až 50 min před srážením.¹⁷

S BMK se do mléka přidává i aditivum chlorid vápenatý (CaCl_2), pro obnovení přirozeného obsahu vápníku (viz 4.1). Zlepšuje syřitelnost a zvyšuje pevnost sýřeniny (vzniklého gelu). Přídavek Ca^{2+} iontů snižuje negativní náboj micel a urychluje jejich agregaci. Dochází k výměně iontů H^+ v kaseinu za Ca^{2+} . Také ke snížení pH a tím ke zrychlení flokulace a srážení (koagulace). Přidává se cca 10 – 40 ml nasyceného roztoku na 100 l mléka. Vyšší dávky by mohly způsobovat natrpklou až hořkou chuť. Vznikalo by také hodně sýrašského prachu a syrovátka by se hůře uvolňovala během zpracování i odkapávání zrna (Kadlec, Melzoch, Voldřich 2010, Gajdůšek 2000).

Značný vliv má také teplota. Ovlivňuje průběh srážení, synerezi, konzistenci i výslednou chuť sýra. Optimální teplota se pohybuje okolo 31°C (29 – 33°C). Vyšší teplota způsobuje přílišnou tuhost a rychlou tvorbu pokožky sýra, která zabraňuje odtoku syrovátky. Zrno by se obtížně slepovalo a zvyšovala by se sušina sýra. Naopak při nízké teplotě by zrno bylo měkké, dlouho by se zpracovávalo a snadno překysalo.

Po úpravě teploty se přidává syřidlo (chymosin) a probíhá srážení mléka. S větším množstvím syřidla se rychlost srážení zvyšuje a sýřenina více tuhne. Lze to aplikovat jen do určité meze, jinak se tvoří více sýrašského prachu (zrno pod 1 mm), jenž uniká do syrovátky. Zvyšovala by se vazba vody, možné riziko terciární fáze srážení (hořká chuť) a rostlo by

¹⁶ Podle Kněže a kol. (1974) je optimální kyselost 7,5 až 8 SH (minimálně pH 6,2). „Při vyšší kyselosti jsou výsledky v jakosti sýrů nepříznivé, a proto se snižuje kyselost mléka přidáním vody... Přídavek vody je nutný i při vysokém obsahu bílkovin (nad 3,40 %). Dávka vody kolísá od 3 do 10 % (maximální dávka)... Dávka vody při kyselosti mléka do 8,5 SH je až 5 %, do 9 SH je až 8 %, do 9,5 SH je až 10 %.“ (Kněz a kol. 1974, s. 154).

¹⁷ Zimák (1988) uvádí i tzv. předzrání mléka, které se využívalo při skladování pasterovaného mléka, kdy se do mléka přidaly BMK, které částečně odstranily vzniklé denaturační změny bílkovin a vytvořily lepší podmínky pro růst BMK. Mléko se nechalo předzrát do příštího dne s přidáním kultury 0,05 % až 0,1 % při teplotě 8°C. Po předzrání mléka se opět přidával smetanový zákys (Zimák 1988, s. 125).

i množství zadržené laktózy (riziko překysání a pomalejšího zrání). Naopak při malé dávce je sýřenina měkká, vločkovitá a snižuje se sušina sýra. Prodluží se doba srážení a vytvoří se více kyseliny mléčné. Vápník více přechází do syrovátky a sýry mají podobné vlastnosti, jako kdyby byly vyrobeny z nakyslého mléka. Množství syřidla v provozu D (ml) potřebného k zasyření požadovaného množství mléka M (ml) v čase T (min.) při teplotě t ($^{\circ}\text{C}$) je možno při známé syřící aktivitě S^{18} vypočítat podle **Obr. 4**.

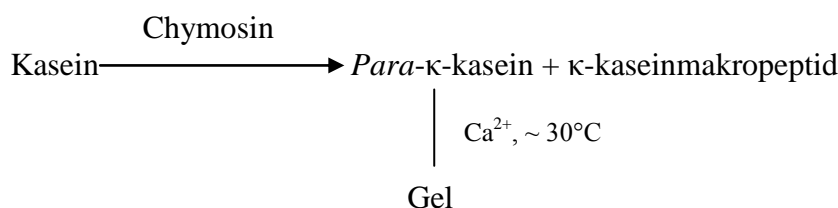
$$D = \frac{M}{S} \cdot \frac{1}{t} \cdot \frac{1}{T}$$

Obr. 4: Provozní výpočet množství syřidla (Buňka 2010).

Syřidlo se přidává ve formě zředěného roztoku a dávka se pohybuje okolo 30 ml na 100 l mléka. Důležité je pořádné rozmíchání během 2 – 3 min a uvedení mléka do klidu (během 8 – 10 min), aby nebyl narušen průběh tvorby gelu. Celková doba srážení je mezi 25 – 120 min, obvykle 30 min. Současně se syřidlem se může přidávat i plísňová kultura (Buňka 2010, Kadlec, Melzoch, Voldřich 2010).

4.3 Srážení mléka

Srážení mléka syřidlem se dá rozdělit do tří fází. Primární (enzymová) fáze, při které je rozrušen ochranný koloid kaseinových micel ($\kappa\text{-CN}^{19}$). Sekundární fázi (koagulační), ve které se působením Ca^{2+} iontů tvoří gel (sýřenina). A terciární fázi, která nesouvisí se srážením, ale s proteolytickým působením syřidla v průběhu zrání.

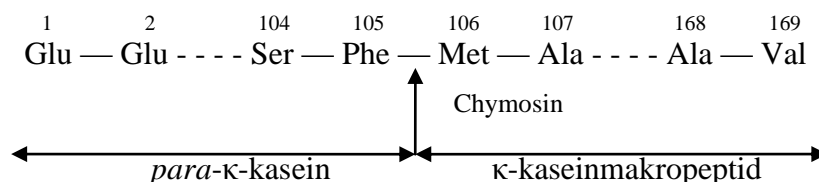


Obr. 5: Srážení mléka (Fox, McSweeney 1998, s. 382, upraveno).

¹⁸ Aktivita syřidla se vyjadřuje jako tzv. síla syřidla. Komerční preparáty mají sílu upravenou na hodnoty 1:10 000 nebo 1:15 000, tzn. že 1 díl syřidla vyvolá v 10 000 (15 000) dílech srážení do prvních vloček sraženiny při 35°C za 40 min. Při výpočtu dávky syřidla se musí zohlednit i čas na vytvoření gelu i jeho zpracování (Kadlec, Melzoch, Voldřich 2010, s. 277).

¹⁹ „ κ -kasein stabilizuje jednotlivé frakce kaseinu vázané v kaseinových micelách v mléce vůči vysrážení přítomnými Ca^{2+} ionty (funkce ochranného koloidu)“ (Březina, Jelínek 1990, s. 78).

V primární (enzymové) fázi dochází působením syřidla (chymosinu) k rozštěpení κ -CN na dvě části, čímž κ -CN ztrácí svůj stabilizační vliv (vůči Ca^{2+}) na ostatní frakce kaseinu (kaseinové micely). Štěpení probíhá mezi Phe₁₀₅-Met₁₀₆ aminokyselinou peptidového řetězce (**Obr. 6**).²⁰



Obr. 6: Hydrolýza κ -kaseinu chymosinem (Velíšek, Hajšlová 2009a, s. 57).

Vzniká *para*- κ -kasein (κ -CN f1-105), který má vysokou afinitu k ostatním frakcím kaseinu (v přítomnosti Ca^{2+} se vysráží společně s ostatními kaseinovými frakcemi) a zůstává v sýřenině. A κ -kaseinmakropeptid (κ -CN f106-169), který nemá žádnou afinitu k ostatním kaseinovým frakcím, je vysoce polární (díky sacharidové složce²¹) a odchází do syrovátky. Současně přechází do syrovátky i část vápenatých iontů (**Rov. 2**). Působením syřidla se rozštěpí asi 80 – 90 % κ -CN (Fox, McSweeney 1998, Březina, Jelínek 1990).



Rov. 2

V sekundární (koagulační) fázi „kaseinové micely v nativním stavu nesou negativní náboj a vzájemně se odpuzují (brání jejich agregaci). Destabilizací se u micel snižuje jejich negativní náboj, čímž ztrácejí svůj hydratační obal. Rozštěpený κ -kasein ve vztahu k ostatním frakcím ztrácí svůj stabilizační účinek proti vysrážení působením vápenatých iontů“ (Buňka 2010). Mléko se začíná srážet ještě před kompletním enzymatickým rozštěpením (primární fázi) κ -CN. Micely jsou na začátku srážení orientovány nahodile, ale v průběhu se řadí do řetězců až do trojrozměrné sítě. „Čerstvě sražené mléko tvoří velmi křehké koagulum, poněvadž počet vazeb uvnitř gelu je ještě velmi malý, aby bylo dosaženo mechanické pevnosti. Vytvořením solných můstků dochází k synerezi a vytužování sýřeniny.

²⁰ Na reakci se podílejí všechny kaseinové částice, takže na jedné kaseinové micelle není štěpena chymosinem jen jedna vazba, nýbrž asi 400 vazeb (Březina, Jelínek 1990, s. 80).

²¹ Sacharidy (D-galaktopyranóza, N-acetyl-D-galaktosamin, N-acetylneuraminová kyselina) jsou v molekulách κ -CN vázány glykozidickou vazbou na Thr₁₃₁ nebo Thr₁₃₃ (Buňka 2010).

Jsou to především vápenaté můstky, vycházející na všechny strany od kaseinových částic, které vedou k trojrozměrnému síťování. Vznik trojrozměrné struktury možno vysvětlit tím, že na jedné kaseinové micelle se štěpí asi 400 vazeb.“ (Gajdůšek 2000, s. 56). Dochází tedy ke smršťování sýřeniny (synerezi) a uvolňování syrovátky. Při odstranění Ca^{2+} iontů sekundární fáze neproběhne,²² stejně jako při snížení teploty pod 15°C (Buňka 2010, Gajdůšek 2000, Březina, Jelínek 1990).

Terciární fáze nastává při delším působení syřidla, kdy se štěpí i další peptidové vazby (na vzniklém *para*-κ-CN, frakcích α-CN a β-CN). Nebo při použití tzv. syřidlových náhražek - proteasy živočišného nebo mikrobiálního původu (které mají mít největší koagulační aktivitu a minimální proteolytickou aktivitu). Některé z těchto proteas mohou vykazovat vysokou proteolytickou aktivitu a negativně ovlivňovat jakost a konzistenci (vznik hořkých peptidů), výtěžnost a tím i na ekonomiku sýrů (únik peptidů do syrovátky).²³

Dle Gajdůška (2000) faktory ovlivňující syřitelnost ovlivňují také tvorbu a pevnost sýřeniny, ale oba vlivy nemusí být vždy paralelní. Nižší pH (vyšší titrační kyselost) zlepšuje syřitelnost i tvorbu a pevnost sýřeniny. Pevnost sýřeniny stoupá s poklesem pH až do pH 5,8, při nižších hodnotách pH pevnost klesá (začíná převažovat kyselé srážení a sraženina má jiný charakter). Optimální kyselost při srážení je okolo pH 6,2 až 6,5 (7,2 – 8,5 SH).

4.4 Zpracovávání a formování sýřeniny

Zpracování sýřeniny slouží k vytvoření sýrových zrn a k oddělení syrovátky ze struktury gelu (sýřeniny). Mechanické zpracování zkrátí dráhu, kterou musí syrovátka proniknout gelem a také se zvětší plocha, kterou prochází. Podporuje se synereze (smršťování

²² Fox, McSweeney (1998) uvádějí, že snížení koloidního fosforečnanu vápenatého o více jak 20 % zabraňuje koagulaci (Fox, McSweeney 1998, s. 387). „Při vzniku sraženiny přejde vápník z intermolekulární vazby uvnitř kaseinových micel do vazby intermolekulární. V první fázi dochází k vazbě kaseinu pomocí Ca^{2+} iontů do řetězců a tyto pak přechází do trojrozměrné mřížky. Tímto způsobem vzniká tuhá a pevná sýřenina...“ (Březina, Jelínek 1990, s. 80).

²³ Wong a kol. (1999) uvádí, že proteázy získané z vyšších rostlin (papain a chymopapain, ficin, bromelain, *Cynzra cardunculus*, strom „litsusu“ (*Wrightians calysina*), *Solanum toruum*, popel z tykve (*Benincasa cerifera*), *Cirsium aruense* a čínský angrešt (ovocné kiwi)) jsou silně proteolytické, což se negativně projevuje snižováním výtěžnosti, vzniku hořké chuti a tvorby pastovitého sýra (Wong a kol. 1999, s. 618-619).

gelu za současného uvolňování syrovátky), která je podporována zvýšením teploty,²⁴ snížením pH (prokysávání BMK) a zpracováním vzniklé sýřeniny.

Sýřeniny se začíná zpracovávat, když se od stěny výrobního zařízení sýřenina dá snadno oddělit a na jejím povrchu se objeví čirá syrovátka. Mírným stlačením ruky se sýřenina prohne, ale nepromáčkne.²⁵ Zpracovává se krájením. Používají se kovové sýrařské šavle, nože či harfy. Nejprve dochází k opatrnému prokrojení (nesmí dojít k mechanickému rozbití → sýrařský prach). Sýřenina se rozřeže na hranolky až na dno výrobníku. Někdy se dodrží „odpočinek“ sýřeniny po krájení (zpevnění zrna a podpora synereze). Ale při dlouhém odpočinku zrno klesá ke dnu a má snahu se slepovat (slepence), váže vodu a je příčinou různých vad (syrovátková hnízda sýrů). Pokud je sýřenina příliš tuhá a měkká, krájí se rychleji (vzniká sýrařský prach → nižší výtěžnost). Sýřenina se může ještě mírně přetahovat a tím i vytužovat. Přetahovadly se sýřenina přitahuje k sobě a zároveň se obrací (zvedá ode dna k povrchu).²⁶ Sýřenina ve větší míře zpracovává kontinuálně na automatizovaných nebo poloautomatizovaných linkách (např. Alpma Formos). Mírně vytužená sýřenina se vypustí na pásový dopravník, kde se oddělí od syrovátky a vytužuje se asi 10 minut. Vzniklé zrno přechází do postavených válců, kde se vlastní tíhou slepuje zrno a uvolňuje další syrovátka. Spodek slepeného zrna se odkrajuje a ukládá do blokových tvořitek. Tato tvořítka se mechanicky ukládají na sebe, přemísťují a obrací (Teplý a kol. 1980).

Po zpracování sýřeniny se zrno nalévá do forem. Během formování probíhá další prokysávání a uvolňování syrovátky. Zrno se slepuje a vytváří se pevná konzistence sýra. Formy na sýry jsou kovové nebo plastové, mají perforování a jsou bez dna, pro lepší odtok syrovátky a vyšší, protože se zrno postupně snižuje odtokem syrovátky. Pokládají se na

²⁴ Zvýšená teplota podporuje uvolňování vazeb ve svazcích kaseinových micel, které tvoří síť gelu (sýřeniny), a vytvoření nových četnějších vazeb s těsnějším uspořádáním výsledné struktury (Kadlec, Melzoch, Voldřich 2010, s. 278).

²⁵ Doba vhodná pro počátek zpracovávání sýřeniny nastává v okamžiku kdy síly kohezní (soudržnost) převládou nad adhezními (přilnavost). Zjišťuje se experimentálně – gel musí mít lasturovitý lom (Buňka 2010). „Sýrař zjišťuje dosažený stupeň pevnosti sýřeniny tak, že do ní svisle zasune prst, ohne jej do pravého úhlu a pomalu vytáhne. Sýřenina se má nad prstem lámat tak, že hrany jsou ostré a prst zůstává čistý; v tom stavu se již může zpracovávat.“ (Prokš 1965, s. 296-297).

²⁶ „Jakmile se po rozkrájení sýřeniny objeví mezi řezy téměř čirá syrovátka, začne sýrař „přetahovat“ (protahovat). Sýrařskými lžicemi táhne hranoly k sobě, krájí je, obrací a zdvihá ode dna k povrchu.“ (Prokš 1965, s. 297).

tvarované podložky, musí být také pevné a snadno čistitelné. Sýřenina se z vany nalévá pomocí rozdělovacích žlabů a nalévacích mís. Formy se opakovaně obrací, pro rovnoměrné rozdělení vody v síru (Mrázek 2007, Nehyba 2007, Drdák a kol. 1996).

4.5 Odkapávání a solení sýra

Po naformování zrna probíhá odkapávání, kdy se ze zrna uvolňuje vlastní tíhou syrovátka. Odkapávání probíhá do druhého dne (závisí na velikosti sýra). Důležité je sýry obracet, aby se podpořilo slevování zrna, získal se pravidelný tvar a stejnoměrně se rozptýlila voda v síru. Ukončuje se po dosažení kyselosti asi pH 5. Během odkapávání by měla být teplota v místnosti 18 až 20 °C, při vyšších teplotách se synereze zpomaluje, až zastavuje. Naopak při nízké teplotě se může sýr nachladit, více zadržuje vody a zpomaluje prokysávání (BMK). Poté se sýry vytahují z tvořitek a probíhá solení. Solením sýry získávají slanou chuť, lepší stravitelnost, zpevňuje a zlepšuje konzistenci (drží tvar). Také brzdí rozvoj technologicky škodlivých mikroorganismů a prodlužuje trvanlivost. Nízké nebo vysoké koncentrace soli však způsobují sensorické vady.

Sůl zvyšuje osmotický tlak mezi zrny a působením na bílkoviny zvyšuje množství uvolněné syrovátky. Také zpevní povrch a zjemní konzistenci výměnou vápenatých za sodné ionty v *para*-κ-kaseinu. Sůl proniká difuzí a osmotické jevy se uplatňují na povrchu sýrových zrn. Difuzi zpomalují tukové kuličky (blokují kanálky mezi zrny) a protitok ostatních složek (syrovátka, zbytky nerozložené laktosy, kyselina mléčná aj.).²⁷ Při velkém úbytku těchto látek se může ovlivnit kyselost sýrů, a proto se upravuje v solné lázni (aby byla přibližně stejná jako kyselost sýra).

Existují různé způsoby solení, ale nejčastěji se využívá solení na sucho nebo v solné lázni. Solení na sucho se provádí roztíráním nebo nástříkem suché soli nebo kaše na vlhký povrch sýra.²⁸ Nebo solení v solné lázni, kdy se sýry ponořují do roztoku soli o koncentraci

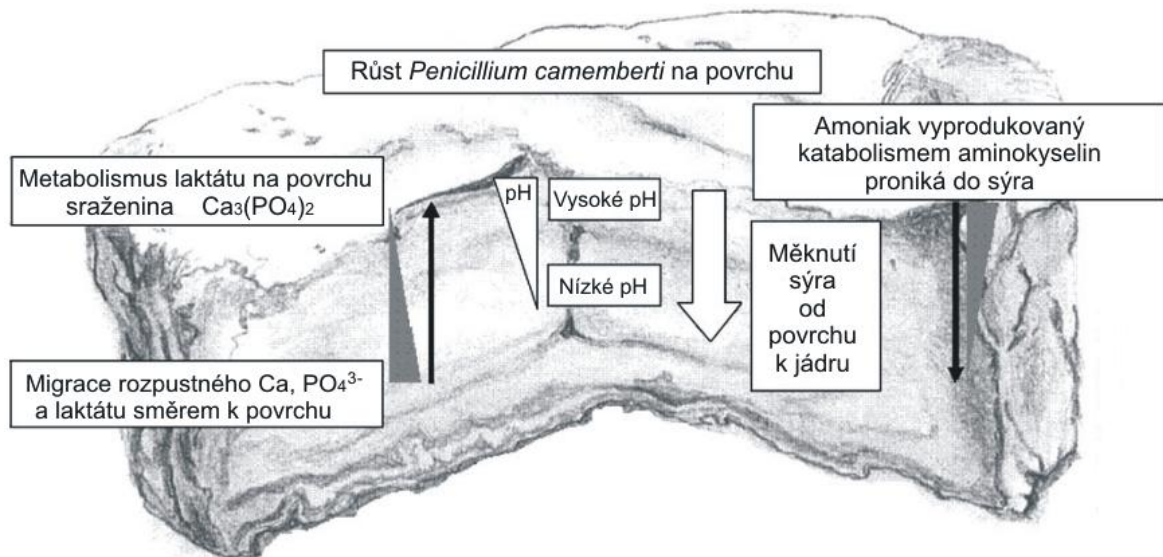
²⁷ „Na začátku se prosoluje povrchová vrstva sýra a vytváří se tzv. solný prsten, který obsahuje průměrně 6,1% soli. Z prstenu přechází sůl do dalších vnitřních částí sýra, a to do solného pásma, kde je obsah soli zhruba 4,2 %, a do výměnného pásma, kam vniká též voda z jádra sýra. Výměnné pásmo obsahuje asi 1,9% soli. Dále sůl přechází do jádra, kde je obsah soli nejvýše 0,2 %. Jádro tedy obsahuje nejméně soli. Stejněměrného prosolení se dosáhne až při zrání sýrů.“ (Svoboda a kol. 1966, s. 136-137).

²⁸ Povrch sýra je v kontaktu s koncentrovaným roztokem soli, která může způsobit kontrakci bílkovin a zpomalení pohybu soli (Kadlec, Melzoch, Voldřich 2010, s. 280). Při vtírání soli na povrch sýra se používají větší krystalky (2 – 3 mm), při příliš malých krystalech se sůl rychle vstřebá a vytvoří kůru. Celkově je to velmi pracný způsob (Buňka 2010).

16 až 22 % soli (doba solení záleží na velikosti, tvaru sýra a koncentraci soli), při teplotě 10 – 14 °C a pH 4,8 až 5. Je třeba udržovat parametry solné lázně, doplňovat NaCl, chladit, sledovat kyselost a provádět obměnu solných lázní. Sýry při vkládání do solné lázně by měly být dobře prokysané. Sýry s vysokým pH absorbují méně soli a budou příliš měkké. Naopak u sýrů s nízkým pH bude konzistence tuhá a křehká (Buňka 2010, Kadlec, Melzoch, Voldřich 2010, Drdák a kol. 1996).

5 ZRÁNÍ SÝRŮ S PLÍSNÍ NA POVRCHU

Při zrání sýrů se mění všechny základní složky mléka (laktosa, bílkoviny a tuk). Nejprve probíhá glykolýza bakteriemi mléčného kvašení, které přeměňují laktosu na kyselinu mléčnou. Proteolýza je výraznější než u jiných druhů sýrů a je katalyzovaná proteínasami a peptidasami pocházejících ze zbytkové aktivity syřidla (chymosin), mléka (plasmin), bakterií mléčného kvašení, non-starterových bakterií mléčného kvašení a sekundárních kultur. Lipolýza je společným rysem plísňových sýrů a je dána povrchovou mikroflórou (*P. camemberti*), která hydrolyzuje TAG na DAG, MAG a volné mastné kyseliny, které jsou v sýru významnými prekurzory aromatických sloučenin, jako methyl-ketony, laktony, estery, alkany, sekundární alkoholy aj.



Obr. 7: Zrání sýra s plísní na povrchu (Weimer 2007, s. 10, upraveno).

Výrazné texturní změny jsou nejvíce patrné právě u sýrů zrajících od povrchu. Zpočátku je pH sýra 4,7 nebo nižší a textura je v celé hmotě drobná. Syřidlo degraduje α_{s1} -CN rychleji (než při pH 5,2), ale sýr je při nižším pH drobný (ztrácí měkkost). Změkčování nastane při zvyšování pH na 5,2, které je způsobeno růstem a následnou odkyselující aktivitou povrchové flóry. Úlohou plísně je v podstatě vytvořit gradient pH, ale i nastavit gradient minerální. Vápník a fosfor je v Camembertu z počátku stejný v celé hmotě sýra, ale při zrání, velká část minerálních látek migruje na povrch, což urychluje změkčování uvnitř sýra.

5.1 Glykolýza

Rozklad laktosy (mléčného cukru) zapříčiňují starterové bakterie mléčného kvašení, homofermentativně mezofilní lactococcus (hlavně rody *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*), které přeměňují laktosu na kyselinu mléčnou a tím vytváří bariéru proti technologicky škodlivým organismům. Homofermentativní kvašení (viz **Obr. 8**) spočívá ve fosforylaci α -laktosy, kdy vzniká α -laktosa-6'-fosfát, jeho hydrolyzou α -D-galaktosa-6-fosfát a β -D-glukosa. α -D-Galaktosa-6-fosfát je pak odbourán (via D-tagatofuranosa-6-fosfát a D-tagatofuranosa-1,6-bisfosfát) na D-glyceraldehyd-3-fosfát. β -D-Glukosa je fosforylována a vzniká β -D-glukosa-6-fosfát. Všechny cukry jsou potom různými mechanismy aktivovány především na D-fruktosu-1,6-bisfosfát a ten je odbourán (via D-glyceraldehyd-3-fosfát a další metabolity) na pyrohroznovou kyselinu. Její redukcí vzniká L-mléčná kyselina jako prakticky jediný produkt homofermentativního mléčného kvašení²⁹ (Velíšek a Hajšlová 2009).

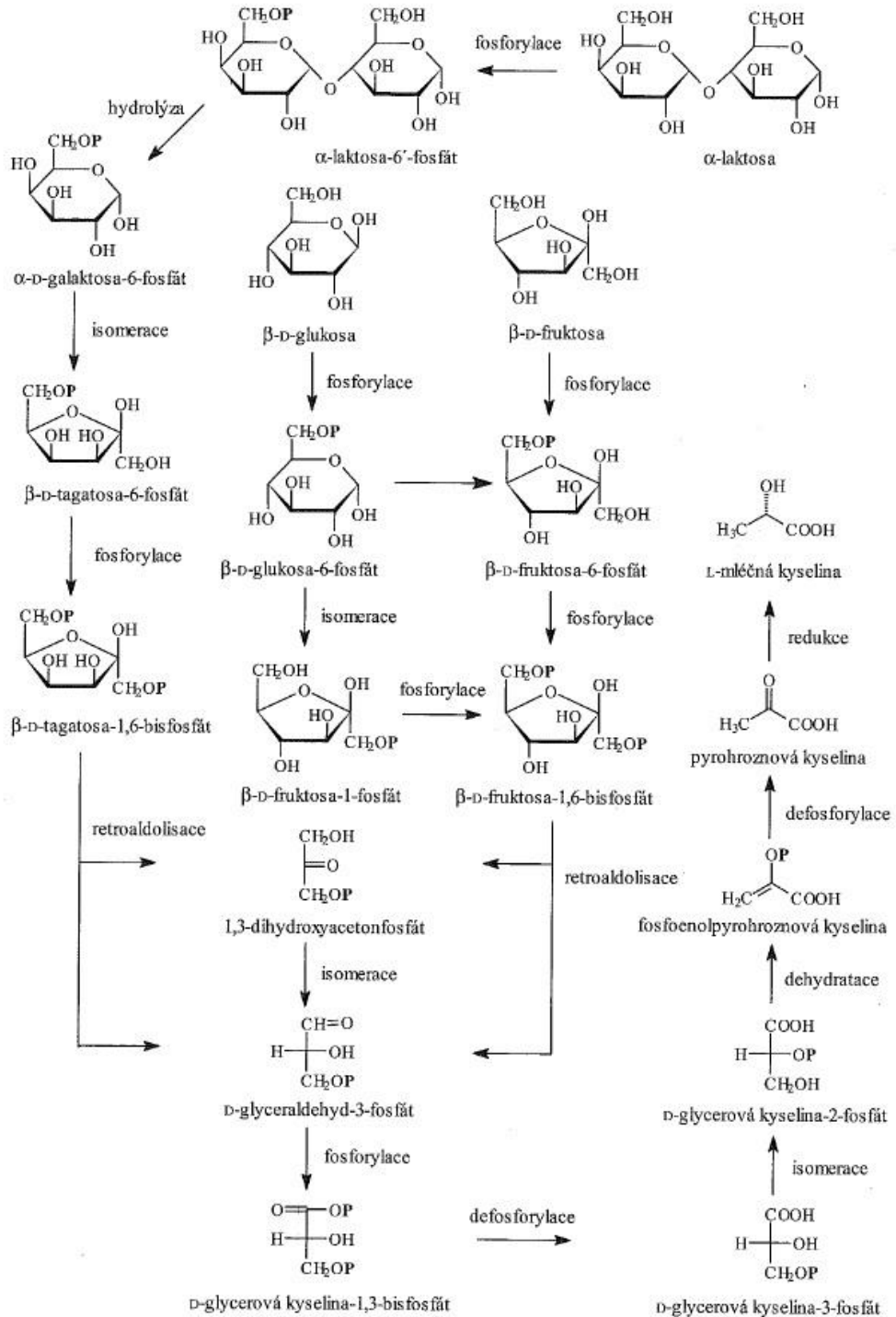
Tvorba kyseliny mléčné a okyselení se projevuje po přidavku syřidla, kdy je pH přibližně 6,2. Intenzivní okyselení je během formování (pH asi 4,6). Po zpracování osídluje povrch sýra mikroflóra (kvasinky, *Geotrichum* a plíseň *P. camemberti*), která používá kyselinu mléčnou pro svůj růst. Výsledkem je výrazné zvýšení pH na povrchu (které se udržuje okolo pH 7 na konci zrání) a migrace kyseliny mléčné ze středu na povrch sýra (finální pH středu sýra je okolo 6,0) (Fox a kol. 2004). Tyto neutralizace sýra hrají v procesu zrání důležitou roli:

- Acid-senzitivní bakterie včetně mikrokoků a koryneformních bakterií na povrchu přispívají ke kvalitě tradiční chuti sýrů.
- Neutralizace se příznivě projevuje na činnost enzymů při zrání, které mají optimum blízko neutrálního pH.
- Neutralizace také zapříčiní migraci minerálů (vápníku a fosforu) směrem k povrchu sýra. Kůra sýra dosáhne vysoké koncentrace vápníku asi 80 % (17 g/kg) a fosforu asi

²⁹ Enzymy účastníci se homofermentativního mléčného kvašení: fosfoglycerátkinasa, fosfoglyceromutasa, enolasa, pyruvátkinasa, L-laktátdehydrogenasa, galaktokinasa, UDP-galaktosa pyrofosforylase, UDP-galaktosa 4-epimerasa, UDP-glukosa pyrofosforylase, fosfoglukomutasa, glukokinasa, fruktokinasa, fosfoglukosaisomerasa, fruktosabisfosfátaldolasa, 1-fosfofruktokinasa, fosfo- β -galoktosidasa, D-galaktosa-6-fosfátisomerasa, D-tagatosa-6-fosfátkinasa a tagatosa-1,6-bisfosfátaldolasa (Velíšek a Hajšlová 2009b).

55 % (9 g/kg) na úkor snížení ve středu sýra. Vysoké pH na povrchu způsobuje vznik nerozpustného fosforečnanu vápenatého a imobilizaci do kůry sýra.

- pH výrazně modifikuje reologické vlastnosti a vede ke změkčení (viz 5.4).



Obr. 8: Mechanismus reakcí homofermentativního mléčného kvašení (Velíšek, Hajšlová 2009, s. 54).

5.2 Proteolýza

Proteolýza je biochemický děj, který přispívá ke změně textury sýrů v průběhu zrání a tvorbě chuti (produkcí krátkých peptidů a aminokyselin). Proteolýza je katalyzovaná proteinázami a peptidázami pocházejících ze zbytkové aktivity syřidla (chymosin), mléko (plasmin), bakterie mléčného kvašení, non-starterové bakterie mléčného kvašení a sekundární kultury (*Geotrichum candidum*, *Penicillium camemberti*, aj.) Rozdíly v rozsahu a hloubce proteolýzy jsou způsobeny odlišnostmi v průběhu výroby a zrání sýrů (doba zrání, vlhkost, zbytková aktivity syřidla, aktivace plasminogenu na plasmin, aj.) (Fox a kol. 2004, Doležálek 1967).

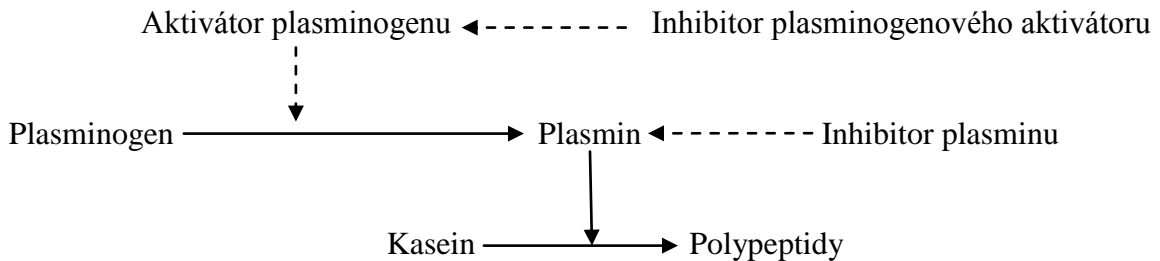
Po odtoku syrovátky v zrně zůstává **zbytková aktivita syřidla** (Chymosin EC 3.4.23.4),³⁰ která závisí na typu enzymu, teplotě srážení a pH zrna. Dle Fox a kol. (2004) se v Camembertu nachází až 50 % zbytkového chymosinu (zatím co v lisovaných sýrech asi 15 %). Aktivita chymosinu na α_{S1} -kasein je zaměřena na místo Phe₂₃ - Phe₂₄, které způsobuje počáteční měknutí sýrů a tvorbu krátkých peptidů (α_{S1} -CN f1-21). Více odolný hydrolyze chymosinem je α_{S2} -kasein. Rozštěpení α_{S2} -kaseinu je omezeno pouze na hydrofobní oblasti molekuly (α_{S2} -CN f90-120 a f160-207), tj. Phe₈₈-Tyr₈₉, Tyr₉₅-Leu₉₆, Gln₉₇-Tyr₉₈, Tyr₉₈-Leu₉₉, Phe₁₆₃-Leu₁₆₄, Phe₁₇₄-Ala₁₇₅ a Tyr₁₇₉-Leu₁₈₀. β -Kaseiny jsou štěpeny na sedmi místech, většina z nich je umístěna blízko hydrofobního C-konce, což může mít za následek produkci krátkých hydrofobních peptidů, které jsou hořké (Fox a kol. 2004).

Mléko obsahuje řadu původních proteináz jako je **plasmin** (EC 3.4.21.7),³¹ enzym mající původ v krvi s optimem pH 7,5 a teplotu 37 °C. Fyziologická role plazminu spočívá v degradaci sraženin fibrinu v procesu srážení krve, proto je produkován ve formě neúčinného prekurzoru - plasminogenu, který je na účinnou formu aktivován aktivátory plasminogenu (PAs) (**Obr. 9**). V mléce jsou plazmin, plasminogen a aktivátory plasminogenu (PAs) převážně asociovány s kaseinovými micelami, zatímco inhibitory plasminu a inhibitory akti-

³⁰ Kromě chymosinu se využívají i jiné proteasy: gastrointestinální enzymy selat, kuřat, jehňat (pepsin (EC 3.4.23.1), pepsin B (EC 3.4.23.2), gastricsin (EC 3.4.23.3)); lysosomy (cathepsin D, cathepsin E); mikroorganismy produkující aspartyl proteinasy (*Cryphonectria parasitica*, *Penicillium janthinellum*, *Rhizomucor pusillus*, *Rhizomucor miehei*, *Rhizopus chinensis*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Yarrowia lipolytica*; upraveny rekonbinací DNA: *Escherichia coli*, *Aspergillus niger* a *Kluveromyces lactis*) (Fox a kol. 2004, s. 19-20).

³¹ Mléko obsahuje také jiné proteinasy, které se z leukocytů tělových buněk dostávají do mléka z krve. Tyto buňky obsahují mnoho proteinas včetně kathepsinů B, D, G, H, L a elastasy (Fox a kol. 2004).

vátoru jsou v mléčném séru a tak dochází k jejich úbytku při odtoku syrovátky. Aktivita plasminu může být ovlivněna pasterací, kdy se inaktivují inhibitory aktivátorů, a tak může dojít paradoxně ke zvýšení aktivity plasminu (Buňka 2010).



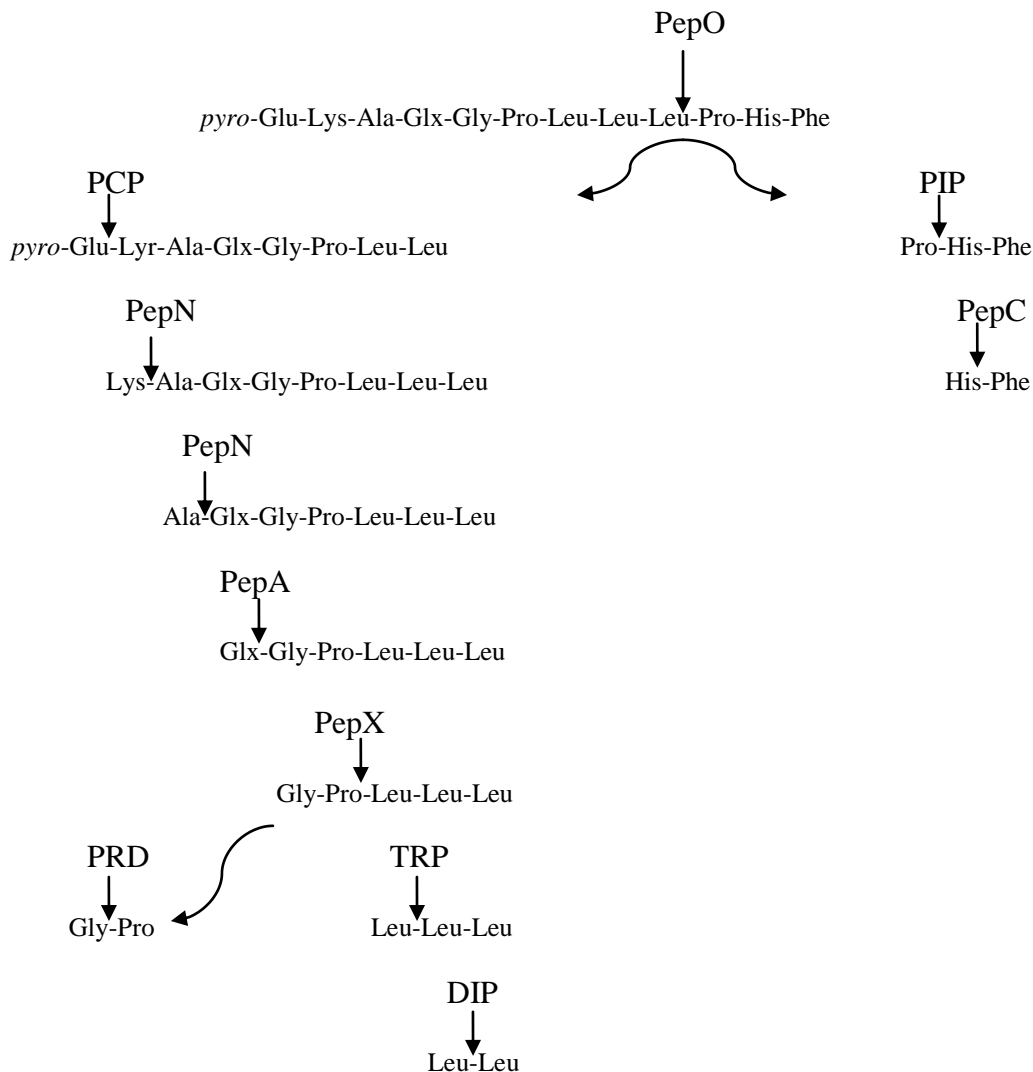
Obr. 9: Plasminový / plasminogenový systém v mléce (Fox a kol. 2004, s. 394, upraveno).

Plasmin hydrolyzuje peptidické vazby typu Lys-X a v menší míře Arg-X. Působí na kaseiny v pořadí $\beta \approx \alpha_{S2} \gg \alpha_{S1}$. Zatím co κ -kasein je odolný vůči hydrolýze díky své sacharidové složce. β -Kasein má 15-17 vazeb (záleží na genetické variantě), které jsou citlivé na plasmin, ale významné jsou pouze tři, Lys₂₈-Lys₂₉, Lys₁₀₅-His₁₀₆ a Lys₁₀₇-Glu₁₀₈. Hydrolýzou vznikají γ_1 -CN (β -CN f29-209), γ_2 -CN (β -CN f106-209), γ_3 -CN (β -CN f108-209), proteoso pepton PP8F (β -CN f1-28), PP8S (β -CN f29-105 a f29-107) a PP5 (β -CN f1-105 a 1-107). α_{S2} -Kasein je na činnost plasminu citlivý, což je důvodem vymizení tohoto proteinu v průběhu zrání sýrů. α_{S1} -Kasein je méně náchylný k hydrolýze než β -kasein a pravděpodobně hydrolýzou α_{S1} -kaseinu vznikají λ -kaseiny (Fox a kol. 2004).

Bakterie mléčného kvašení mají proteolytický systém proteinas (lactocepín EC 3.4.21.96), které degradují kasein na malé peptidy a aminokyseliny. Bakterie přestanou růst brzy po ukončení výroby vzhledem nízkému pH, zvyšující se koncentraci NaCl, nízké teplotě a nedostatku zkrasitelných cukrů (Fox a kol. 2004). Odumírat začínají na konci výroby, kdy lýžují a uvolňují intracelulární endopeptidasy (PepO, PepF), aminopeptidasy (PepN, PepA, PepC, PepX), tripeptidasy a dipeptidasy (včetně prolin-specifické peptidasy), jež produkují řadu volných aminokyselin (viz **Obr. 10**) (Fox, Fuquay, Roginski, 2003).

Non-starterové BMK přispívají k proteolýze podobně jako starterové BMK, ale v menší míře, protože jejich maximální počty v sýru (10^7 - 10^8 cfu g⁻¹) jsou nižší než maximální po-

čty (10^9 - 10^{10} cfu g^{-1}) startérových kultur BMK (Fox a kol. 2004). Sýry ze syrového mléka zrají rychleji a mají silnější chuť, ale mohou mít i atypickou chuť až pachut'.³²



Obr. 10: Degradace dodekapeptidů působením laktokokových peptidas: oligopeptidas (PepO), různé aminopeptidas (PCP, PepN, PepA, PepX), tripeptidas (TRP), prolidas (PRD) a dipeptidas (DIP) (Fox a McSweeney 1998, s. 412, upraveno).

Povrchová flóra sýrů s plísni na povrchu obsahuje kvasinky (*Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces* spp., *Debaiyomyces hansenii*, atd. více v Příloze P II), plíseň (*Penicillium* spp.), které hrají důležitou roli při zrání. Po formování začínají na povrchu růst kvasinky, zvláště tolerantní ke kyselému pH ($pH < 5$) a vysokému obsahu soli (20 až 40 g / l). *G.*

³² Non-startérové bakterie přispívají k zrání většinou u tradičních francouzských sýrů (jako Camembert de Normandie), kdy pocházejí z prostředí farmy, zvířat a výroby (Henri-Dubernet, Desmasures, Guéguen 2004, s. 180).

candidum se objevuje společně s kvasinkami, ale je omezena solením. Proteolytický systém *P. camemberti* syntetizuje aspartyl proteiny (hydrolyzují α_{S1} -CN rychleji než β -CN), metaloproteiny, kyselé karboxypeptidasy (hydrolyzují vazby β -CN Lys₉₇-Val₉₈, Lys₉₉-Glu₁₀₀ a Lys₂₉-Ile₃₀ rychleji než jiné vazby β -CN) a kyselé aminopeptidasy. *G. candidum* také syntetizuje extracelulární a intracelulární proteiny, ale přispívají v menší míře ke zrání sýrů než *Penicillium* spp. Některé *Micrococcus* spp. jsou velmi proteolytické s produkcí extracelulární a intracelulární proteasy a peptidasy, které přednostně hydrolyzují α_{S1} -CN. Extracelulární aktivita proteiny *B. linens*, včetně aminopeptidasy a esterasy jsou zodpovědné za charakteristické aroma a oranžovou barvu, která může být považována za vadu (Leclercq-Perlat a kol. 2004, Fox a kol. 2000).

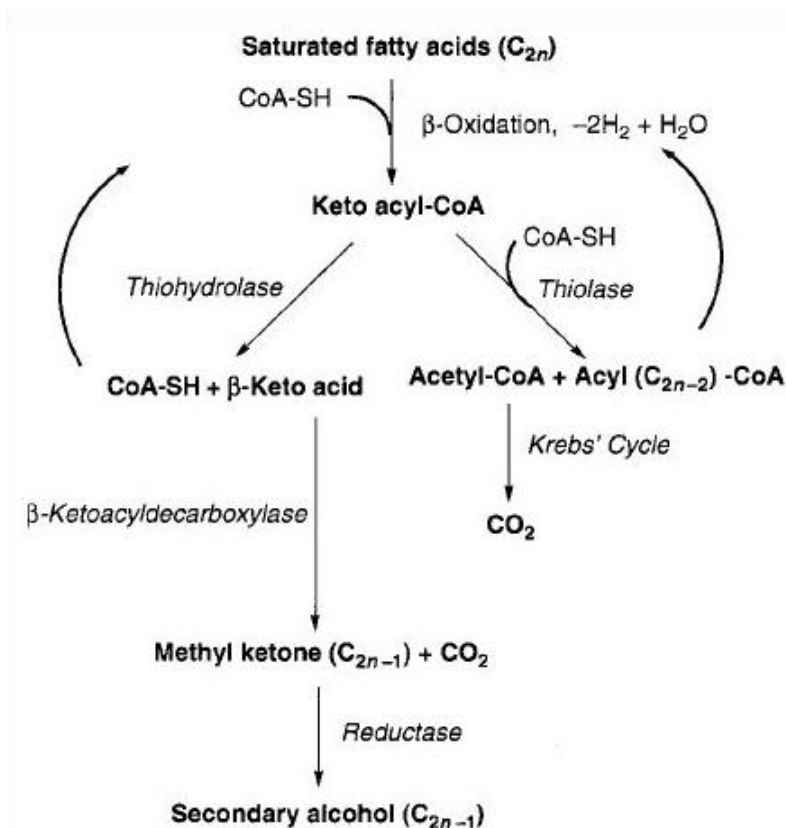
5.3 Lipolýza a tvorba aroma

Intenzivní odbourávání tuku je společným rysem plísňových sýrů. Plísně a kvasinky jsou schopny vylučovat lipasy, které jsou aktivní na rozhraní mezi tukovými kuličkami a kontinuální fází séra. Lipasy (EC 3.1.1.3) hydrolyzují triacylglyceroly (TAG) na diacylglyceroly (DAG), monoacylglyceroly (MAG) a volné mastné kyseliny (VMK).³³ Lipasy nejsou velmi specifické, ale přednostně odštěpují mastné kyseliny v místech Sn-1 a Sn-2. Lipasy *G. candidum* odštěpují nenasycené C₁₈ mastné kyseliny na pozici Sn-2 v TAG. *P. camemberti* produkuje velké množství extracelulární alkalické lipázy (optimum pH 9,0). Při pH 6,0 má tento enzym 50 % aktivitu a nejvíce se podílí na lipolýze v Camembertu (Fox a kol. 2004).

Mastné kyseliny (MK) jsou v sýru významnými prekurzory aromatických sloučenin, jako methyl-ketony, laktony, estery, alkany a sekundární alkoholy. Zpočátku jsou MK uvolňovány lipasami na VMK, které se oxidují na β -ketoacyl-CoA. Thiolasa je dále rozkládá na β -ketokyseliny. Poté rychle probíhá dekarboxylace β -keto-acyl-dekarboxylázou na

³³ Asi 5% celkového obsahu volných kyselin není produkováno lipolýzou. Kyseliny C₁₋₄ nebo C₄₋₅ s rozvětveným řetězcem vznikají degradací z aminokyselin a laktosy (Fox a kol 2004, s. 162). Mohou být také odvozeny od ketonů, esterů a aldehydů oxidací. Kyseliny s krátkým řetězcem mají charakteristickou vůni (kyselelou, octovou) a přispívají k aroma plísňových sýrů přímo i nepřímo jako prekursory dalších aromatických látek, např. ketonů, alkoholů, laktonů a esterů (Vítová a kol. 2006, s 288).

methyl-ketony (alkan-2-ony), které mají o jeden uhlík méně než původní MK. Methylketony jsou redukovány na odpovídající sekundární alkoholy (alkan-2-ol) (*Obr. 11*).³⁴



Obr. 11: Katabolismus MK *Penicillium* spp. (Fox a kol 2004, s. 378)

Methyl-ketony jsou tvořeny β -oxidací MK. Množství produkce methyl-ke-tonů v sýru je ovlivněno teplotou, pH, fyziologickým stavem plísně a koncentrací VMK. Dle Fox a kol. (2004) je množství methyl-ke-tonů v Camembertu 25-60 mmol / 100 g tuku a většina je přítomna od osmého dne zrání. Hlavním producentem je plíseň (*P. camemberti*). Její mycelium je více citlivé na inhibici MK než u *P. roqueforti*, navzdory tomu že využívá MK rychleji. Při nízkých koncentracích MK je oxidace až na CO_2 a H_2O a vzniká jen velmi malé množství methyl-ke-tonů. Homologické řady methyl-ke-tonů s lichým počtem atomů uhlíku (C_3 až C_{15}) jsou nejdůležitější při utváření aroma. Mají charakteristickou vůni popisovanou jako houbová (např. oct-1-en-3-on, octan-3-on), zemitá (např. oct-1,5-dien-3-

³⁴ Plísně jako *P. camemberti*, *P. roqueforti* a kvasinka *G. candidum* mají enzymatický systém, což umožňuje odklon od běžné β -oxidace. Těmito metabolickými dráhami (viz *Obr. 11*) detoxikují mastné kyseliny z médií. Spotřebují pouze jednu molekulu koenzymu A (CoA), zatímco úplným rozkladem potřebují dvě molekuly. Tento mechanismus umožňuje rychlejší rozklad kofaktoru (Fox a kol. 2004, s. 163).

on) nebo ovocná (např. pentan-2-on, hexan-2-on) aj. Hlavními methyl-ketony jsou nonan-2-on a heptan-2-on, které se také vyskytují u sýrů s plísní uvnitř (Vítová a kol 2006).

Primární alkoholy jsou tvořeny redukcí aldehydů. Jejich aroma se popisuje jako houbové (oct-1-en-3-ol) ovocné (3-methylbutanol), květinové (2-fenylethanol), zemité (2-methylisoborneol) apod. Nejdůležitější je oct-1-en-3-ol, který udílí charakteristické houbové aroma. Vzhledem k jeho nízkému prahu vnímání ($0,01 \text{ mg / kg}^{-1}$) představuje asi 5 až 10 % těkavých látek v Camembertu. Ale ve větších koncentracích ($5 - 10 \text{ mg / kg}^{-1}$) způsobuje vady. Jeho produkce je vázána na metabolismus *P. camemberti* a objevuje se na konci zrání. Sekundární alkoholy jsou tvořeny redukcí methyl-ketonů. Mají podobnou, ale výraznější vůni, na celkové aroma sýrů mají menší vliv než methyl-ketony, nepřímo však přispívají především díky své schopnosti tvořit estery s mastnými kyselinami (Vítová a kol. 2006, Fox a kol. 2004).

Laktony vznikají dehydratací hydroxykyselin. Laktony se vyznačují velmi výrazným aroma, např. γ -dekalakton (broskvové), stejně jako δ -dekalakton, γ -dodekalakton připomíná broskve a máslo. Tyto sloučeniny se vyskytují také u sýrů s plísní uvnitř. (Velíšek a Hajšlová 2009b).

Estery vznikají esterifikací MK primárními a sekundárními alkoholy. Aroma esterů je popisováno jako sladké, ovocné, květinové ap. V sedmém dnu zrání je 2-phenylethylacetát hlavní aromatická sloučenina (v koncentraci $4,6 \text{ mg / kg}^{-1}$, která klesá a stabilizuje se okolo 1 mg / kg^{-1}). Jejich aroma může být zvýšeno synergickým efektem (Vítová a kol 2006, Fox a kol. 2004).

Aldehydy s rovným řetězcem pocházejí z β -oxidace nenasycených MK nebo z aminokyselin. Aldehydy s rozvětveným řetězcem vznikají z aminokyselin a jsou přechodné sloučeniny, protože se velmi rychle mění na alkoholy nebo kyseliny. Mají charakteristické aroma po bylinkách a zelené trávě. Hlavními aldehydy v Camembertu a Brie jsou 2-methylbutanal, 3-methylbutanal a benzaldehyd (připomíná aroma hořkých mandlí).³⁵ Tyto sloučeniny jsou přítomny ve stopovém množství v prvním týdnu zrání (Vítová a kol. 2006).

³⁵ Můžeme se setkat i s aldehydy 2-methylpropanal, 2-3-methylbutanal a methylbutanal, které mohou být oxidovány na isomáselnou, 2-methyl máselnou a izovalerovou kyselinu a udílet sýrům mírný zápach, připomínající pot (Fox a kol 2004, s. 166).

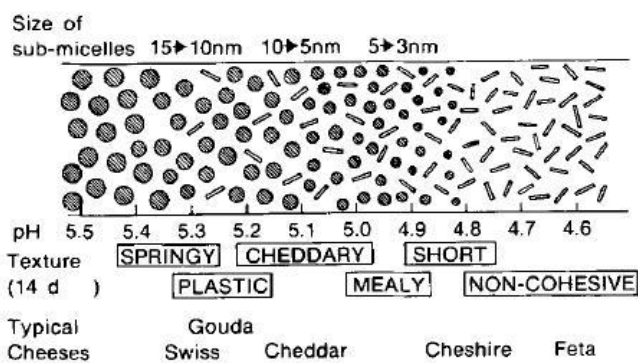
Sírné sloučeniny vznikají rozkladem aminokyselin obsahujících síru. Jejich vůně bývá označována jako květáková (dimethyldisulfid), česneková (diethyldisulfid), typická po zelí a brokolici (dimethylsulfid) apod. V mladých sýrech disulfidy chybí, což je dáno nízkou úrovní proteolýzy → nízkou úrovní sírných aminokyselin. Také v pozdním zrání je množství sírných sloučenin redukováno (Vítová a kol 2006, Fox a kol. 2004).

5.4 Textura

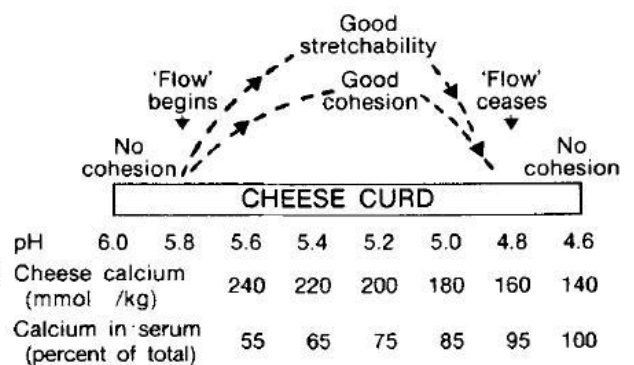
Textura sýra závisí na pH a poměru intaktního kaseinu k vlhkosti. Změny textury se projevují v prvních 7 až 14 dnech, kdy dochází k přeměně pružného mladého sýra na hladký a homogenní produkt. Počáteční měknutí je spojeno s aktivitou chymosinu na α_{S1} -CN (Phe₂₃ - Phe₂₄), kdy se tvoří krátké peptidy (α_{S1} -CN f1-21). Měknutí se projeví už při 20 % hydrolyze α_{S1} -CN. Rozsah hydrolyzy je spojen s pH při formování, protože čím nižší je pH, tím více je chymosinu v sýřenině a tím bude větší podíl α_{S1} -CN hydrolyzován.³⁶ Při nižším pH bude zachováno více chymosinu a méně plasminu, což má také vliv na rozsah proteolýzy. pH určuje i množství laktosy v zrna (množství kyseliny mléčné a konečné pH sýra). Navíc celkový obsah vápníku je fixován v sýru při formování, kde většina rozpustného vápníku odchází do syrovátky. Při srážení mléka pH klesá pod 6,0 na 5,4, sýřenina se stává tekutá a současně se zvyšuje podíl rozpustného a vázaného vápníku (**Obr. 12**). Maximální tekutost je dosažena při pH okolo 5,2 – 5,4. Pod pH 5,2 se redukuje kaseinové náboje ze sítě z důvodů stínění protonů a iontů vápníku. Bílkoviny se při snižování pH asociují přes hydrofobní interakce. Souběžně se zvyšuje křehkost sýra, a to hlavně pod pH 5,0 (např. drobný Cheshire s pH 4,8). Při pH pod 4,8 jsou podjednotky kaseinu malé, protáhlé a stejně rozměrově rozložené. Při vyšším pH jsou proteinové interakce spíše s vápníkem než přes hydrofobní interakce, sýřenina je více tekutá a z větší pravděpodobností se konají přeměny bílkovin. Toto zvýšení tekutosti probíhá i při vyšších teplotách. Při vyšším pH mají sýry tendenci být pružnější, jako Švýcarské sýry s pH okolo 5,4. Při střední hodnotě pH 5,0 jsou proteinové interakce minimální. Vyšší koncentrace soli zvyšují schopnost absorbovat vodu, čímž se zvýší interakce protein-voda (Tamime 2007, Lawrence, Creamer, Gilles 1987).

³⁶ Distribuce mikrobiálního syřidla *Rhizomucor miehei* mezi zrno a syrovátku není závislé na pH. Hydrolyza α_{S1} -CN je prakticky stejná, bez ohledu na počátečním pH mléka (Lawrence, Creamer, Gilles 1987, s. 1749).

Významnou roli v textuře hraje tuk, který je důležitý pro rozvoj charakteristického chuti a pocitu v ústech. Tukové kuličky částečně narušují vláknitou kaseinovou matici sýra (zjemňují strukturu). Velké tukové kuličky více narušují matici sýra (vytváří beztuká prázdná místa) ve srovnání s malými tukovými kuličkami, které působí jako inertní výplně. Velké tukové kuličky inklinují být více agregované a jsou obklopeny hustými proteinovými zbytky. Zatím co malé tukové kuličky jsou obklopeny tenčími proteinovými řetězci. Čím je větší povrch malé tukové kuličky, tím může více vázat vodu. Kromě toho malé tukové kuličky jsou asociovány s malými póry v proteinové matici sýra, která tak účinněji váže vodu, což vede k vyšší vlhkosti (Tamime 2007, Fox a kol. 2004, Michalski a kol. 2003).



Obr. 12a: Vliv pH na texturu (Lawrence, Creamer, Gilles 1987, s. 1754).



Obr. 12b: Vztah mezi pH, ionty vápníku a roztažností sýra (Lawrence, Creamer, Gilles 1987, s. 1755).

Přítomná povrchová mikroflóra produkuje komplexní kaskádu reakcí, které v průběhu zrání změkčují sýr. Metabolismus kyseliny mléčné na povrchu a v menší míře, produkce amoniaku katabolismem bílkovin, vede k difuzi kyseliny mléčné ze středu na povrch sýra. Produkce NH_3 a CO_2 zvyšuje pH vnější vrstvy sýra a gradient vápenatých iontů je tvořen následkem precipitace fosforečnanu vápenatého na povrchu. Ionty vápníku migrují ze středu sýra směrem k povrchu, a to urychluje změkčování uvnitř a snižuje zesíťování kaseinu. Fosforečnan vápenatý je méně rozpustný se zvyšujícím se pH. Asi 75 % vápníku a 33 % fosfátu migruje z centra na povrch Camembertu po 17 dnech zrání (Lawrence, Creamer, Gilles 1987). Zvýšená kyselost sýřeniny při výrobě Camembertu nebo zvýšená teplota při skladování během prvních 2 h vede k zdrsňení proteinové matrice sýra. Celkový nárůst pH v průběhu zrání zvyšuje rychlost plasmin-indukované proteolýzy (přispívá ke změkčení). Dle Lawrence, Creamer, Gilles (1987) po 17 dnech je těsně pod kůrou pH asi 6,0, zatímco ve středu je stále pH jen 4,8. Asi po 25 dnech, kdy pH ve středu

sýra vzroste asi na 5,2, textura v celém sýru měkne. Aktivita plasminu se zvyšuje se stoupajícím pH (hlavně na povrchu), protože na plasmin mají menší vliv vysoké koncentrace soli než na chymosin (Tamime 2007).

6 VADY ZRAJÍCÍCH SÝRŮ S PLÍSNÍ NA POVRCHU

Vady sýrů s plísní na povrchu se dají rozdělit dle Prokše (1965) do tří hlavních skupin, a to na vnější (tvar, pokožka a kůra), vnitřní (barva těsta, struktura a konzistence) a vady v chuti a vůni. V důsledku konzumace sýrů se mohou objevit různé intoxikace, infekce a toxikoinfekce. Také vznik biogenních aminů může způsobit u citlivých konzumentů řadu problémů (závratě, dýchací potíže, zčervenání kůže, zvýšení nebo snížení krevního tlaku, pocení).

Vnější vady bývají nejčastěji způsobeny deformací při nalévání sýra nebo nešetrným zacházením s mladými sýry. Na povrchu sýrů se mohou objevit nežádoucí mikroorganismy (plísně, kvasinky, koliformní bakterie, aj.), které se dostávají při nedostatečné sanitaci provozu reinfekcí ze zařízení, polic, podložních desek, roštů, přístupem infikovaného vzduchu nebo slabou plísňovou kulturou (Zimák 1988, Havlíček 1975). Osliznutí způsobují koliformní bakterie a *Pseudomonas* spp. Zapáchající maz na povrchu je známkou nedodržení správné výrobní technologie (nedostatečné prokysání, nachladnutí sýra během odkapávání či solení). Nízkým nasolením nebo naopak příliš velkým přesolením způsobíme slabý nárůst plísňové kultury. Hnědnutí se tvoří na povrchu a těsně pod myceliem a je způsobeno enzymovou oxidací tyrosinu na melanin. Je závislé na intenzitě proteolýzy (vysoká proteolýza → více tyrosinu), interakce mikroflóry a obsahu manganu. V sýru Brie způsobují hnědo-růžové zbarvení např. *Brevibacterium*, *Mikrococcus* a *Pseudomonas* spp. Naopak *Yarrowia lipolytica* potlačuje proteolýzu, tím snižuje obsah tyrosinu, což snižuje hnědnutí (Carreira a kol. 2002).

Vnitřní vady jsou hlavně způsobeny technologicky škodlivou mikroflórou. Přílišným zadržováním syrovátky nebo solením neprokysaného sýra může vzniknout dvoubarevná struktura těsta. Přílišným překysáním je poté sýr suchý až křehký. Při použití nakyslého či překysaného mléka nebo nedostatečná úprava mikroflóry pro nárůst plísně, jež produkuje enzymy, může způsobit tvarohovitost sýrů. Naopak roztékání sýra na povrchu ale s tuhým jádrem je způsobeno výrobou z nakyslého mléka, špatným prosolením sýra nebo silnou kontaminací kvasinkami. Houbovitost sýra bývá způsobena zpravidla reinfekcí mléka, špatným zákysem nebo také odkapáváním sýra při nízké teplotě tzv. jeho nachlazením (Zimák 1988, Havlíček 1975, Prokš 1965).

Vady v chuti a vůni sýra, jsou způsobeny především přesolením či nedosolením. Málo výraznou chuť způsobují nevhodné mlékařské kultury nebo vysoká pasterace mléka. Hořká

chuť je způsobena hořkými peptidy, které se vytvoří nevhodnou mikroflórou,³⁷ přidání velkého množství syřidla (většinou není příčinou hořkosti, protože pH na konci zrání není v prospěch proteas syřidla), nízkou srážecí teplotou nebo vysokou prokysávací teplotou. Obsahem soli, kdy málo nasolený sýr je náchylnější k hořknutí. Dle Fox a kol. (2004) hořká chuť lze omezit přítomností *G. candidum* při zvýšené produkci proteas *P. camemberti*.³⁸ Nečistou až hnilobnou chuť způsobují hnilobné bakterie. Žluklou až mýdlovou chuť způsobují enzymy (lipázy) mikroorganismů, dlouhodobé záření paprsků světla nebo málo kyselá solná lázeň. Překysání sýra během tvarování a odkapávání vzniká kyselá chuť s tuhou až křehkou konzistencí. Kyselá chuť pravděpodobně souvisí s hořkou.³⁹ Buničtinová (celulosová) chuť vzniká pravděpodobně produkcí styrenu kmeny *Penicillium* (konverzí fenylalaninu na kyselinu skořicovou a její dekarboxylací na styren mikroorganismy v průběhu zrání) (Pagot a kol. 2007, Leclercq-Perlat a kol. 2004, Engel a kol. 2001).

Výskyt onemocnění se připisuje sekundární kontaminaci mléka po pasteraci, v průběhu výroby a zrání sýrů. Plocková (1997) uvádí různé intoxikace (spojovány s druhy rodů *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Clostridium* a příp. toxinogenních druhů plísní), toxikoinfekce (enteropatogenní *Escherichia coli* a *C. perfringens*) a infekce (některé druhy *Salmonella* spp. a *Listeria monocytogenes*) spojené v důsledku konzumace sýrů. Infekce produkují po konzumaci sýra patogenní druhy (především některé druhy *Salmonella* spp. a *Listeria monocytogenes*) schopné kolonizovat zažívací trakt, pomnožovat se zde, příp. poškozovat přítomné tkáně (Blažková 2005, Plocková 1997).

Biogenní aminy⁴⁰ (histamin, tyramin, kadaverin, tryptamin, fenylethylamin) a polyaminy⁴¹ (putrescin, spermidin a spermin) mohou produkovat i některé kmeny bakterií

³⁷ Psychrotrofní bakterie (např. *Pseudomonas*) produkují silné extracelulární proteiny, které mohou způsobovat hořkou chuť. Také šíření bakteriofágů a přítomnost antibiotik v sýru může vést k hořkosti. Tím že se snižuje počet BMK a tím se také snižuje množství laktokokových peptidas, které mohou degradovat hořké peptidy (McSweeney 1997, s. 126).

³⁸ Dle McSweeney (1997) většina z hořkých peptidů byla izolována z kaseinových hydrolyzátů a poměrně málo bylo izolováno ze sýrů a ještě méně z jiných variet než čedaru a goudy. Hořké peptidy pocházejí především z hydrofobní oblasti kaseinů, např. α_1 -CN (f14-34, f91-101 a f143-151) a β -CN (f46-90) (McSweeney 1997, s. 127).

³⁹ Hořkost může být vázána na množství kyseliny mléčné (u velmi kyselých sýrů), ale i na růst *Penicillium*. Pokud je nízké pH na konci formování je hořkost vyšší (Fox a kol. 2004, s. 171).

⁴⁰ „Biogenní aminy jsou nízkomolekulární alifatické, aromatické nebo heterocyklické bazické sloučeniny odvozené od aminokyselin“ (Buňková a kol. 2010a, s. 5).

mléčného kvašení, které dekarboxylují volné aminokyseliny. Přítomnost biogenních aminů je závislá na stupni proteolýzy, přítomnosti bakterií schopných produkovat biogenní aminy a jejich podmínky růstu (pH, koncentrace soli, teplota, vodní aktivita, obsah glukosy), hygieně mléka,⁴² zpracování zrna, době a teplotě zrání, skladování a distribuci biogenních aminů v sýru. V případě vysokého příjmu biogenních aminů v potravě u ohrožené skupiny osob (lidé trpící potravinovou intolerancí nebo alergií, hypertonici, malé děti a zejména pacienti užívající léky s inhibitory monoaminoxidázy zejména antidepressiva) v podobě závratí, pocení, dýchacích potíží, zčervenání kůže, zvýšení nebo snížení krevního tlaku. Kohajdová, Karovičová, Greif (2008) uvádějí inaktivaci biogenních aminů použitím mikroorganismů s aminoxidázovou aktivitou (např. *B. linens*, který snižuje množství tyraminu a histaminu), vyšší koncentrace soli (při koncentraci NaCl 3,5 % je částečně inhibována schopnost *Lactobacillus buchneri* (kontaminant sýrů) tvořit histamin a při koncentraci 5 % se tvorba histaminu zastavuje), pasterací mléka na 75 - 80 °C (destrukce mléčných proteáz a proteolytických bakterií a tím nízký obsah volných aminokyselin) nebo použitím bakteriocinů, které inhibují růst mikroorganismu produkující biogenní aminy v sýrech (např. nizin (produkovaný *Lactococcus lactis*) nebo Enterococin EFS 2 a Enterocin 4 produkovaný *Enterococcus faecalis*).

⁴¹ Polyaminy, které jsou tradičně zařazovány mezi biogenní aminy, jsou klasifikovány jako samostatná skupina, protože mohou být tvořeny alternativní metabolickou cestou a následkem toho se projevují odlišným fyziologickým resp. patologickým působením (putrescin patří vzhledem k jeho duální roli současně i k biogenním aminům) (Standarová, Vorlová a Borkovcová, 2009).

⁴² „Při zrání sýrů dochází k výrazné tvorbě biogenních aminů jen v provozech s nedostatečnou hygienickou úrovní, tedy vlivem kontaminující mikroflóry. Při dobré hygieně a dodržování správných hygienických zásad obsahují i dlouhodobě zrající sýry jen poměrně malá množství biogenních aminů, z polyaminů bývá v nejvyšším množství přítomen spermidin. Jiná situace je u sýrů vyráběných z nepasterovaného mléka (zejména ovčího a koziho), které se často připravují v malých výrobnách s hygienickými nedostatky, a to i ve vyspělých zemích“ (Velíšek a Hajšlová 2009, s. 321).

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 CÍL PRÁCE

Cílem mé práce bylo sledovat, jak plísňové kultury *P. nalgiovense*, využívané pro výrobu fermentovaných masných výrobků, mění tvrdost sýrů a porovnat je se sýry s plísní *P. camemberti*. Dále zjistit, zda se hodí plísňové kultury *P. nalgiovense* i pro výrobu sýrů s plísní na povrchu.

Teoretické cíle:

- Popsat historii Nalžovského sýra, kde se na jeho výrobu využívala právě plíseň *P. nalgiovense*.
- Charakterizovat plísňovou kulturu *P. nalgiovense*.
- Popsat technologii výroby sýra s plísní na povrchu.
- Popsat biochemické a texturní změny během zrání sýra s plísní na povrchu.
- Popsat možné vady a zdravotní aspekty při výrobě a zrání sýrů s plísní na povrchu.

Praktické cíle:

- Výroba sýrů s plísní na povrchu (experiment).
- Sledování změn pH a sušiny (základní analýzy) sýrů s plísní na povrchu během zrání.
- Sledování texturních změn sýrů s plísní na povrchu během zrání.
- Provedení sensorické analýzy barvy, vůně, konzistence, chuti a intenzity kyselé, slané, hořké, sýrové, houbové, amoniakální chuti sýrů s plísní na povrchu.

8 MATERIÁL A METODIKA

8.1 Popis experimentu

Sýry byly vyrobeny ve spolupráci s Ladislavem Hudečkem a Ing. Josefem Mrázkem, v prostorách školního poloprovozu Vyšší odborné školy potravinářské a Střední průmyslové školy mlékárenské Kroměříž. Použit byl směrný technologický postup (Hudeček, Mlčoušková 2005, Mrázek 1996) upravený na dané podmínky. Celkem byly provedeny dva experimenty (výroby) po 4 druzích vzorků (3 s *P. nalgiovense* a 1 s *P. camemberti*).

Pro výrobu sýrů byly použity tyto plísňové kultury:

- lyofilizované kultury *P. nalgiovense* distribuované firmou Chr. Hansen GmbH, Dánsko pod obchodním označením:
 - M-EK-4 BactofermTM (M-EK-4) (použita jen ve druhém experimentu)
 - M-EK-6 BactofermTM (M-EK-6)
 - M-EK-72 BactofermTM (M-EK-72)
- kultury na šikmé agarové půdě ze sbírky kultur mlékárenských mikroorganismů Laktoflora[®] pod obchodním označením:
 - *P. nalgiovense* CCDM 321 (CCDM 321) (použita jen v prvním experimentu)
 - *P. camemberti* CCDM 799 (CCDM 799)

Z důvodů pomalého nárůstu plísňových kultur a kontaminace nekulturními organismy v prvním experimentu, byl upraven směrný technologický postup a teploty zrání pro druhou výrobu.

8.1.1 První experiment

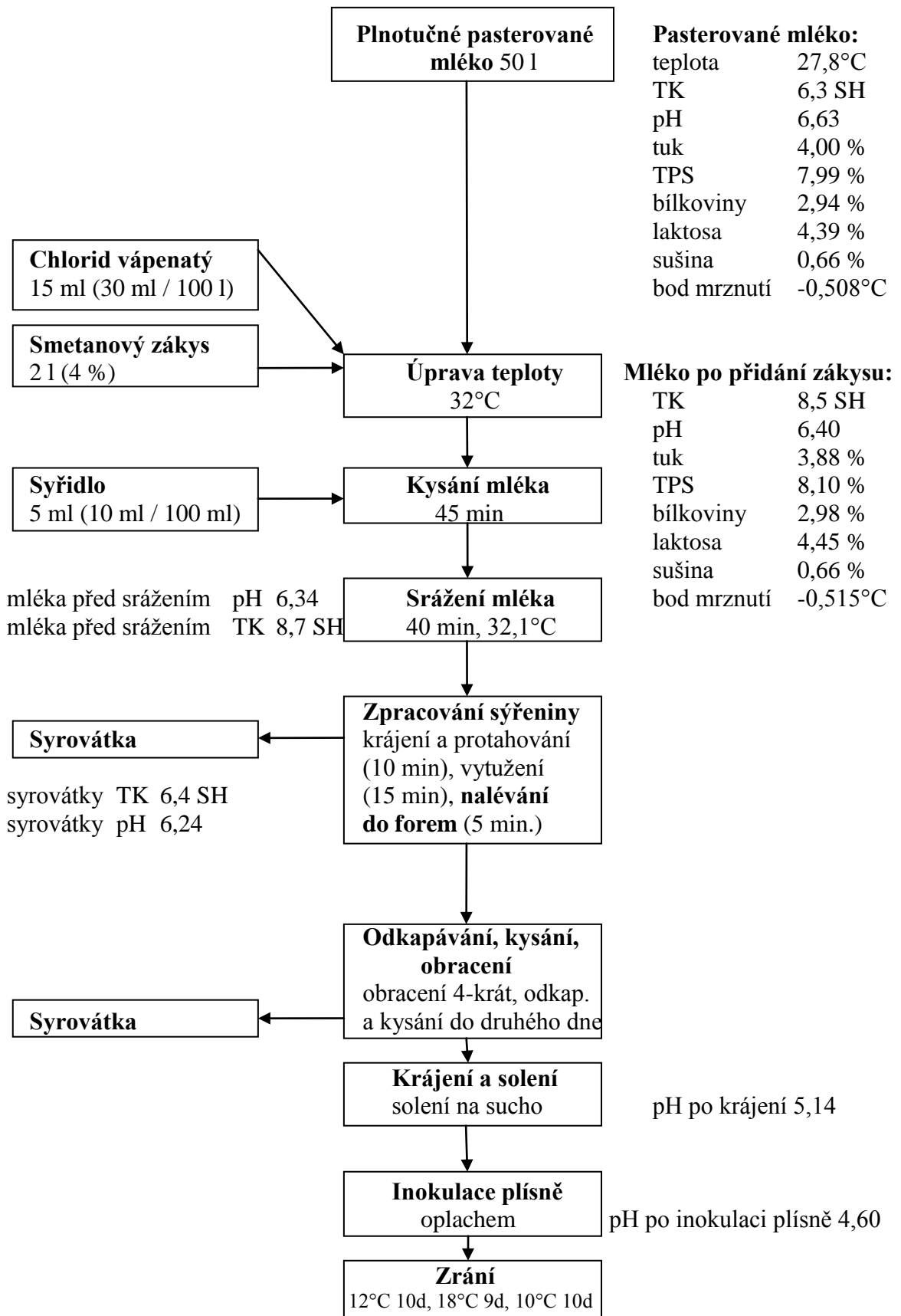
První experiment byl uskutečněn dne 24. 2 2011. Na jeho výrobu bylo použito 50 l plnotučného šetrně pasterovaného mléka z mlékárny Kromilk a. s., Kroměříž o tučnosti 4,00 %, kyselosti 6,3 SH, 6,63 pH. Parametry plnotučného šetrně pasterovaného mléka byly měřeny na MilkoScope SN: 2645 (viz **Schéma 2**). Mléku byla upravena teplota na 32°C, přidán smetanový zákys (*L. lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*; Chr. Hansen) v množství 4 % (2 l) a chlorid vápenatý 15 ml (30 ml / 100 l). Mléko se promíchalo (8,5 SH, 6,40 pH) a nechalo v klidu kysat 45 min. Při kyselosti 8,7 SH, 6,34 pH se do mléka přidalo syřidlo (FROMASE 750 TL; Chr. Hansen) 5 ml (10 ml / 100 l), mléko se pro-

míchalo, ustálilo a sráželo 40 min. Sýřenina se poté opatrně krájela sýraškou harfou a strunou. Z důvodu trhání zrna (vzniku sýrašského prachu) následoval odpočinek a poté se sýřenina přetahovala přetahovadlem cca 25 min. Sýřenina zpracovaná na sýrové zrno se nalévala do čtyř forem na čerstvé smetanové sýry (cca výška 150 mm, šířka 100 mm a hloubka 575 mm). Formy se 4-krát obracely a sýry prokysávaly do druhého dne. Další den měly sýry 5,14 pH a opatrně se vyňaly z forem, nakrájeli se na stejně velké kusy (160 ks; cca výška 35 mm, šířka 33 mm a hloubka 40 mm; cca 35g). Solily se na sucho vtíráním soli do pokožky sýra. Sýry byly zařazeny do třídy jakosti I. Nechaly se 4 d oschnout ve zracím boxu při teplotě 10 °C. Po oschnutí sýrů (pH 4,60) proběhla inokulace příslušnou plísňovou kulturou (do 70 ml fyziologického roztoku bylo přidáno 0,20 g lyofilizované kultury (M-EK-6 a M-EK-72) / výtřep z šikmého agaru (CCDM 321 a CCDM 799)). Sýry se naskládaly na kovové rošty a umístily do zracího boxu (vinotéka CANDY CCV 150 EU, Itálie) ve školním poloprovozu při teplotě 12°C 10 d, poté 18°C 9 d, 10°C 10 d.

Viditelný nárůst mycelia plísňových kultur *P. nalgiovense* byl patrný až po 12 d, společně s kontaminující mikroflórou. Pomalý nárůst plísňových kultur byl pravděpodobně ovlivněn nízkou počáteční teplotou při zrání a kontaminující mikroflórou, která mohla pocházet s přílišné manipulace se vzorky během solení (vtírání soli do pokožky sýra), přístupem infikovaného vzduchu, reinfekcí zracích roštů nebo slabou plísňovou kulturou (nejslabší nárůst a nejzřetelnější kontaminace byla u kultury CCDM 321).

Vzorky byly odebírány 1 d po výrobě (po krájení, solení), 5 d (po inokulaci), 8 d, 15 d, 22 d a 29 d pro základní (pro stanovení pH navíc 12 d, 19 d) a texturní analýzu. Vzorky nebyly senzoricky hodnoceny z důvodu kontaminace.

Schéma 2: První experiment



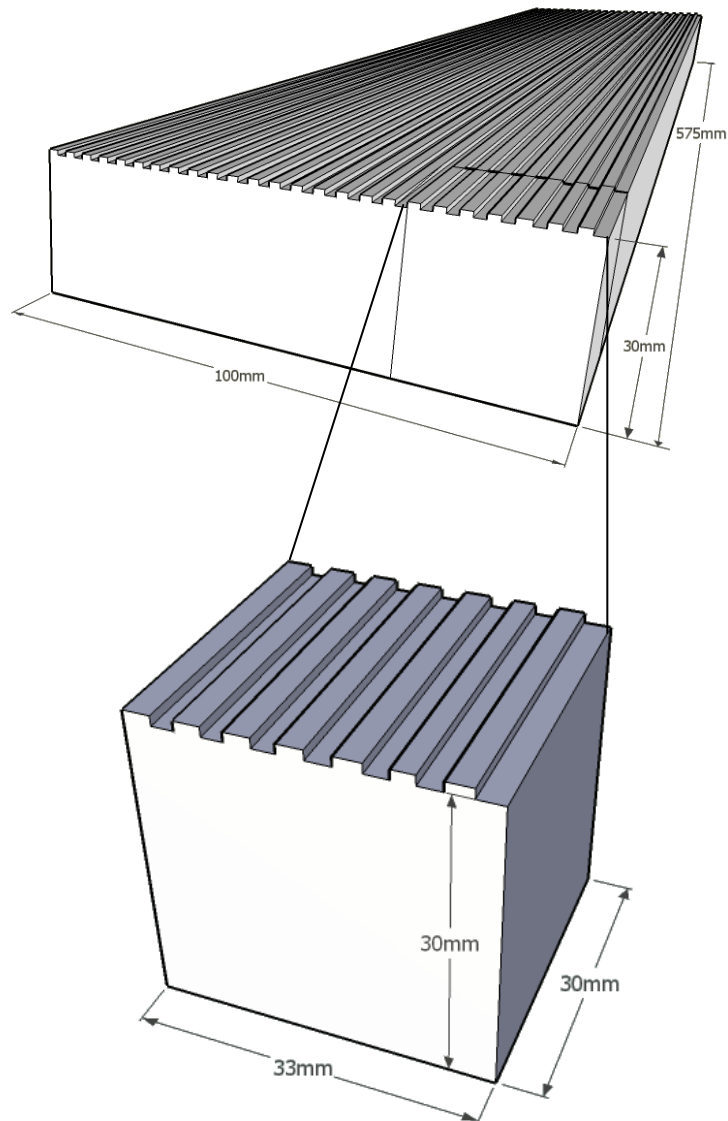
8.1.2 Druhý experiment

Z důvodů kontaminace a pomalého nárůstu plísňových kultur v prvním experimentu, byl upraven směrný technologický postup a teploty zrání. Úprava spočívala:

- Menší množství zpracovávaného mléka (30 l na místo 50 l) z důvodu omezených zdrojů.
- Způsob aplikace soli (posypem z vibrujícího síta namísto vtírání soli do pokožky), menší manipulace se vzorky a snazší způsob solení.
- Dřívější aplikace plísňových kultur (bezprostředně po krájení a solení namísto po 4 d oschnutí).
- Použití plísňových kultur *P. nalgiovense* jen v lyofilizované podobě z důvodů slabšího počátečního nárůstu kultury CCDM 321.
- Zvýšení počáteční teploty zrání (19°C namísto 12°C) pro lepší rozvoj plísňových kultur.

Druhý experiment byl uskutečněn dne 24. 3 2011. Na jeho výrobu bylo použito 30 l plnotučného šetrně pasterovaného mléka z mlékárny Kromilk a. s., kroměříž o kyselosti 6,7 SH a 6,65 pH. Mléko se převedlo do sýrařské vany a upravila se teplota 32°C. Přidal se smetanový zákys 4 % (1,2 l) (*L. lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*; Chr. Hansen, ve formě tzv. provozního smetanového zákysu, standardně používaného firmou Kromilk, a. s., Kroměříž; 75 SH, třída jakosti I) s chloridem vápenatým 9 ml (nasycený roztok CaCl₂; 30 ml / 100 l) pro podporu srážení. Mléko se promíchalo a nechalo v klidu kysat 35 min. Při kyselosti 8,2 SH se do mléka přidalo syřidlo 2,8 ml (9 ml / 100 l) (mikrobiální FROMASE 750 TL, Chr. Hansen), mléko se promíchalo, ustálilo a sráželo 30 min. Sýřeni na se poté opatrně krájela sýrařskou harfou a strunou a poté přetahovala přetahovadlem, pro lepší uvolňování syrovátky a zabránění vzniku slepenců na dně sýrařské vany. Zpracovaná sýřenina (sýrové zrno) se nalévala do čtyř forem na čerstvé smetanové sýry (viz 8.1.1 jako v první výrobě). Pro lepší odtok syrovátky se formy 8-krát obracely a sýry prokysávaly do druhého dne. Další den měly sýry 4,95 pH a opatrně se vyňaly z forem, nakrájeli se na stejně velké kusy (212 ks; cca výška 30 mm, šířka 33 mm a hloubka 30 mm; cca 22g; viz **Obr. 13**) a solily se na sucho rovnoměrným posypem soli (vibrujícím sítem s krystalickou NaCl), sýry byly zařazeny do třídy jakosti I. Po nakrájení a nasolení sýrů proběhla inokulace příslušnou plísňovou kulturou (do 70 ml fyziologického roztoku bylo

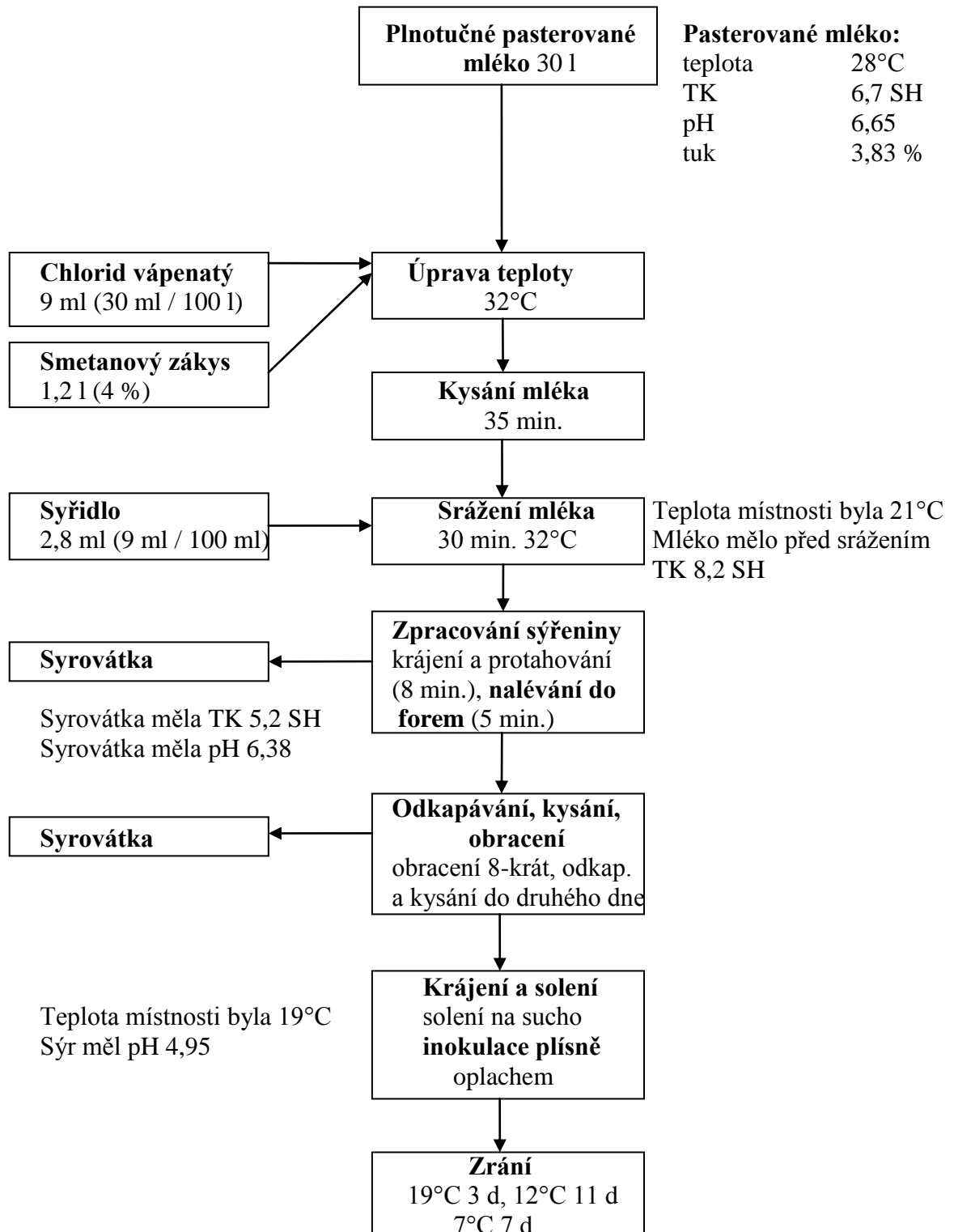
přidáno 0,20 g lyofilizované kultury (M-EK-4, M-EK-6 a M-EK-72) / výtřep z šikmého agaru (CCDM 799)). Sýry se poté naskládaly na kovové rošty a umístily do zracího boxu (stejně jako v prvním experimentu viz 8.1.1) ve školním poloprovozu při teplotě 19°C 3 d, poté 12°C 11 d, 7°C 7 d.



Obr. 13: Schématická ilustrace krájení vzorků (vytvořeno v Google SketchUp).

Vzorky byly odebírány 1 d po výrobě (po krájení, solení a inokulaci), 5 d, 8 d, 15 d, 22 d pro základní a texturní analýzu a 14 d, 22 d pro senzoričnou analýzu.

Schéma 3: Druhý experiment



8.2 Základní analýza

U vzorků sýrů s plísní na povrchu byla měřena pH, tučnost a sušina. Stanovení pH bylo provedeno pomocí vpichového pH-metru Spear for food testing (Waterproof, Malaysia) při $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Hodnoty pH byly měřeny na povrchu, pod plísní (po odkrojení plísně) a středu sýrů. Obsah sušiny byl určen gravimetricky. Obsah tuku acidobutyrometricky.

8.3 Texturní analýza

Texturní analýzou byla měřena tvrdost na přístroji Texture Analyser TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Surrey, VB), který byl vybaven kompresní celou o hmotnosti 30 kg a talířem 100 mm v průměru (P/100). Rychlost talíře byla stanovena na $1 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$. Vzorky byly stlačeny o 25 % původní výšky. Kompresní síla (N) zaznamenaná při maximálním tlaku představuje kritérium tvrdosti sýra. Měření bylo provedeno při pokojové teplotě ($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Každý vzorek sýra byl analyzován jednou (analyzovány byly nejméně čtyři vzorky od každého druhu).

8.4 Senzorická analýza

Senzorická analýza byla provedena ve spolupráci s Ing. Josefem Mrázkem ve Vyšší odborné škole potravinářské a Střední průmyslové škole mlékárenské Kroměříž. Hodnotitelská komise se skládala ze zasvěcených posuzovatelů (studentů Střední průmyslové školy mlékárenské Kroměříž). Z důvodu kontaminace prvního experimentu byly hodnoceny jen vzorky z druhého experimentu. Sýry byly hodnoceny ve dvou (14 d) a třech (22 d) týdnech zrání. Hodnoceny byly 4 senzorické znaky pomocí 5bodové ordinální stupnice II. druhu (jako Prívvara a kol. 2010).

- Barva, vůně, konzistence, chuť

Dále byly hodnoceny intenzity 6 senzorických znaků pomocí 6bodové ordinální stupnice I. druhu (jako Staněk 2009).

- Kyselá, slaná, hořká, sýrová, houbová, amoniakální

9 VÝSLEDKY A DISKUZE

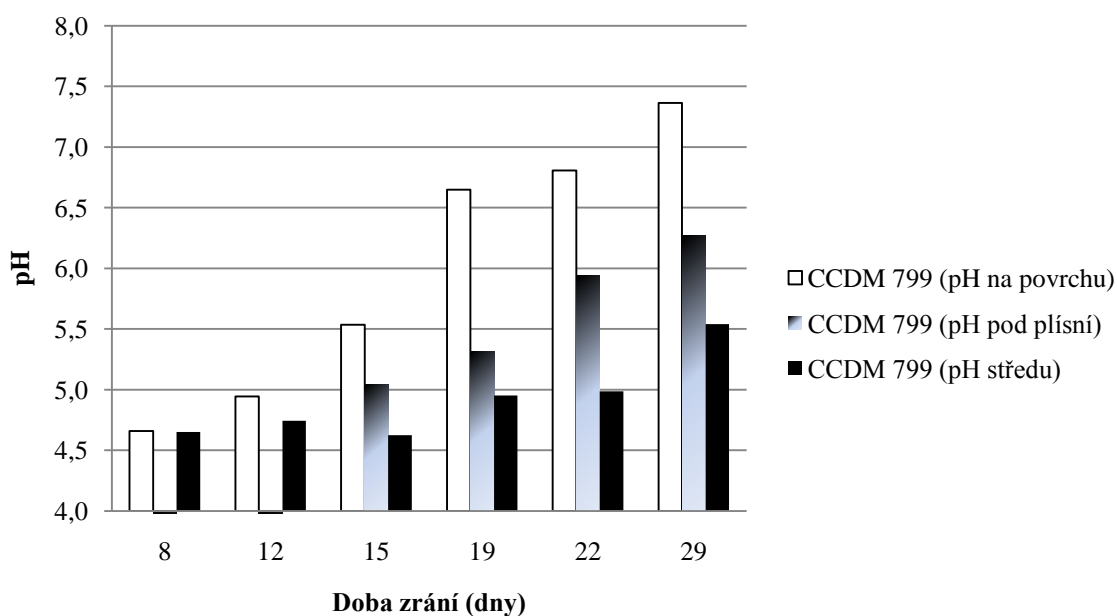
9.1 Základní analýza

Základní analýza zahrnovala stanovení pH (povrchu, pod plísní a středu), sušiny a tučnosti (jen u druhého experimentu). Výsledky byly vyhodnoceny pomocí ANOVA, t-testu a variačního koeficientu (Microsoft Excel 2007).

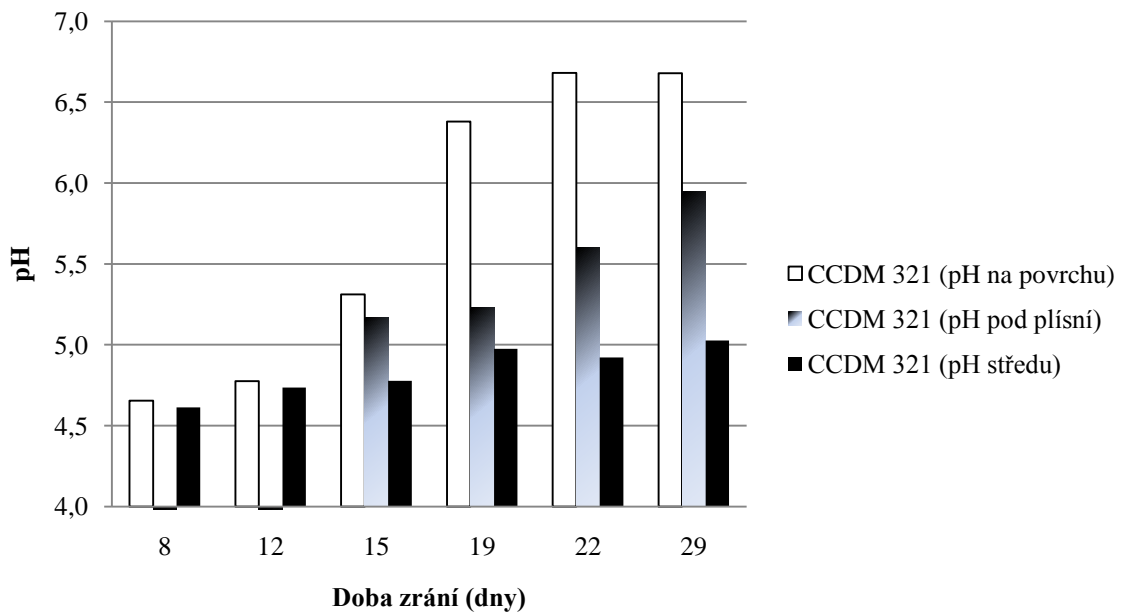
9.1.1 První experiment

Výsledky stanovení hodnot pH

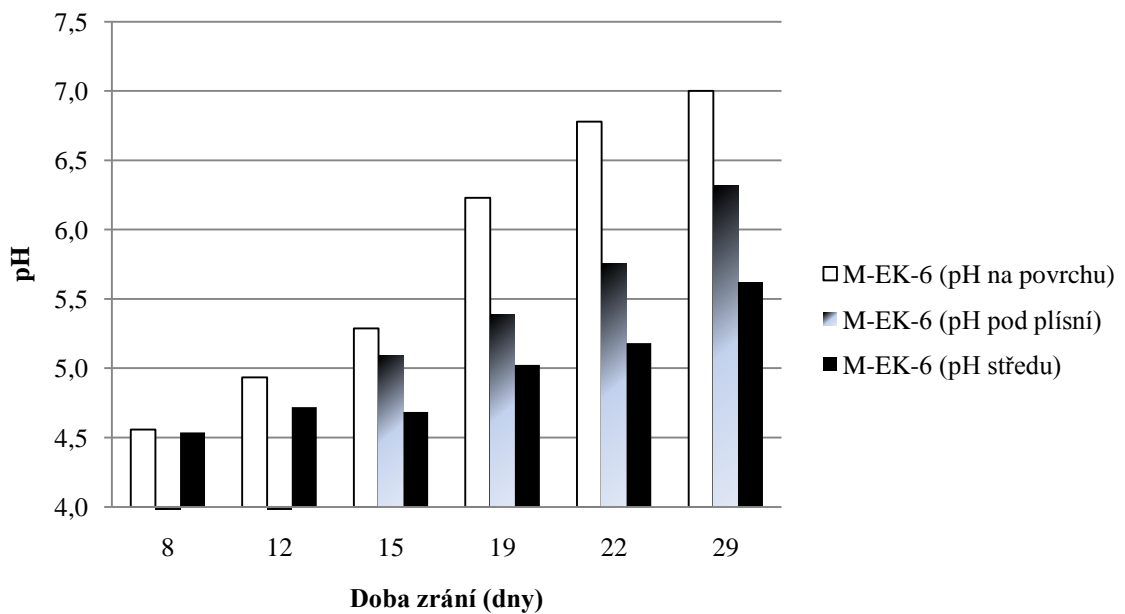
Stanovení pH probíhalo po 1 d, 5 d, 8 d, 15 d, 19 d, 22 d a 29 d zrání. Hodnoceny byly kultury *P. camemberti* CCDM 799 a *P. nalgiovense* CCDM 321, M-EK-6, M-EK-72.



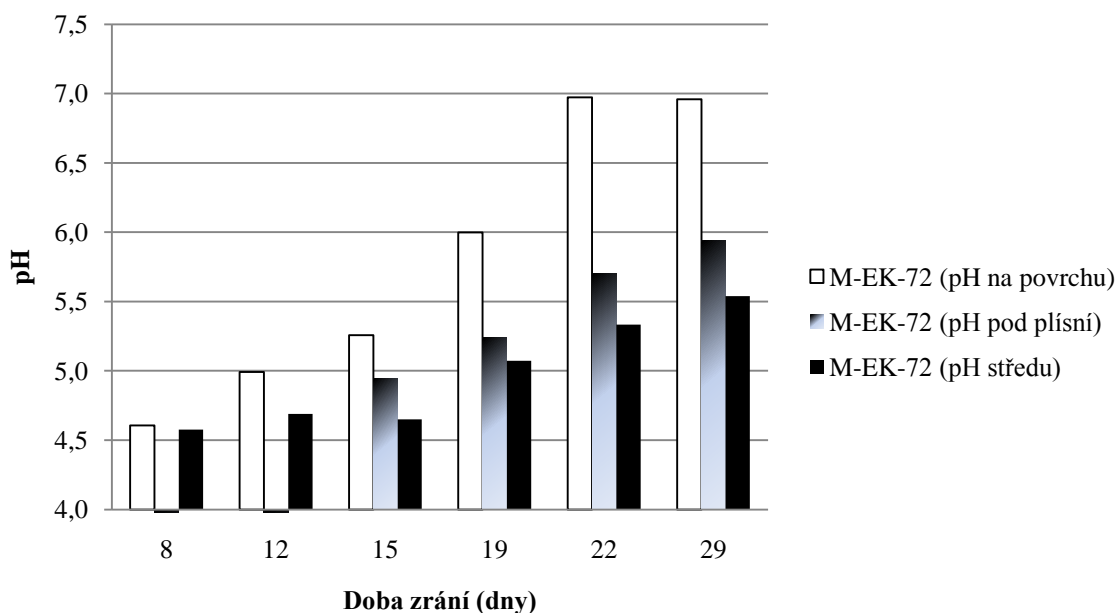
Graf 1: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku *P. camemberti* CCDM 799 od 8 d do 29 d zrání.



Graf 2: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku *P. nalgio-vense* CCDM 321 od 8 d do 29 d zrání.



Graf 3: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku M-EK-6 s *P. nalgio-vense* od 8 d do 29 d zrání.



Graf 4: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku M-EK-72 s *P. nalgiovensis* od 8 d do 29 d zrání.

V 1 d po výrobě nebyl rozdíl v pH mezi vzorky na povrchu i ve středu ($P > 0,05$). Rozdíl se neprojevil ani po inokulaci (5 d) ($P > 0,05$). Změny v pH mezi 5 d a 8 d nebyly výrazné jako v dalších dnech zrání. Bylo to dáno pomalejším nárůstem díky nižší teplotě při zrání a konkurenčním růstem kontaminující flóry. Mezi jednotlivými vzorky v 8 d projevily změny pH na povrchu u vzorků CCDM 799 a CCDM 321, které měly vyšší pH než ostatní vzorky. Po 12 d vzrostlo pH na povrchu i středu u všech vzorků ($P < 0,05$). Toto zvyšování pH bylo dáno pravděpodobně růstem a metabolismem použitých plísňových kultur. Změny mezi jednotlivými vzorky nastaly jen na povrchu, kdy vzorek CCDM 321 měl nejvyšší pH. Po 15 d zrání se pH na povrchu opět zvýšilo, mimo vzorek M-EK-72, který se výrazně nelišil od 12 d ($P > 0,05$). pH středu se od 12 d výrazně nelišilo ($P > 0,05$). Toto výrazné zvýšení pH na povrchu bylo zapříčiněno výraznější odkyselující aktivitou povrchové flóry podpořené zvýšenou teplotou při zrání. V 15 d bylo mezi vzorky pH na povrchu nejvyšší u CCDM 799 a výrazně se odlišovalo od ostatních ($P < 0,05$), pravděpodobně se lépe přizpůsobila podmínkám zrání. V 15 d se začalo navíc měřit i pH pod plísní, které se lišilo (výrazně nižší) jen u vzorku M-EK-72 ($P < 0,05$). pH středu měl nejvyšší vzorek CCDM 321. Po 19 d (od 15 d do 19 d) zrání opět došlo ke zvýšení pH jak povrchu, pod plísní i středu sýrů. Mezi jednotlivými vzorky v 19 d zrání byl rozdíl pH, jak na povrchu, tak i pod plísní. pH středu se významně nelišilo ($P > 0,05$). Po 22 d (od 19 d po 22 d) nedošlo k výrazným změnám pH na povrchu ani středu u vzorků CCDM 799 a CCDM 321

($P > 0,05$). Což koresponduje se zvýšenou sušinou, která pravděpodobně nastala při snižování teploty (z 18°C na 10°C). V 22 d došlo k podstatným rozdílům pH mezi vzorky, jak na povrchu, pod plísní, tak i středu sýra. Po 29 d zrání opět došlo ke zvýšení pH povrchu, pod plísní a středu vzorků. Mimo vzorku CCDM 321, kterému se pH na povrchu výrazně neměnilo ($P > 0,05$) V 29 d mezi vzorky byly významné rozdíly pH na povrchu, pod plísní i středu.

Tab. 2: Hodnoty pH (na povrchu, pod plísní a středu) vzorků v průběhu zrání*

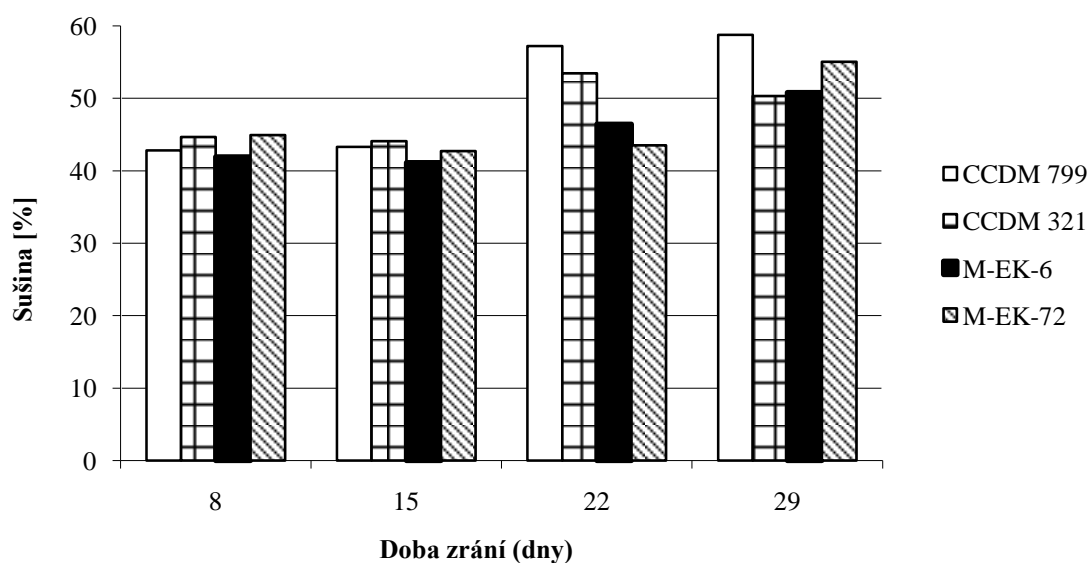
Dny zrání	Název vzorku	pH \pm SD			Variační koeficient [%]		
		<i>povrch</i>	<i>pod plísní</i>	<i>střed</i>	<i>povrch</i>	<i>pod plísní</i>	<i>střed</i>
1	<i>před sol.</i>	4,65 \pm 0,01 ^a	-	4,58 \pm 0,01 ^a	0,19	-	0,31
	<i>po solení</i>	4,63 \pm 0,01 ^a	-	4,56 \pm 0,02 ^a	0,31	-	0,50
5	<i>po inokulaci</i>	4,64 \pm 0,02	-	4,58 \pm 0,02	0,33	-	0,35
8	<i>CCDM 799</i>	4,66 \pm 0,02 ^a K	-	4,65 \pm 0,02 ^a L	0,38	-	0,50
	<i>CCDM 321</i>	4,66 \pm 0,02 ^a K	-	4,61 \pm 0,02 ^b L	0,43	-	0,35
	<i>M-EK-6</i>	4,56 \pm 0,04 ^b K	-	4,54 \pm 0,04 ^c K	0,91	-	0,85
	<i>M-EK-72</i>	4,61 \pm 0,02 ^b K	-	4,58 \pm 0,02 ^c K	0,45	-	0,27
12	<i>CCDM 799</i>	4,94 \pm 0,07 ^a L	-	4,74 \pm 0,07 ^a L	1,45	-	1,52
	<i>CCDM 321</i>	4,78 \pm 0,01 ^b L	-	4,74 \pm 0,06 ^a M	0,23	-	1,18
	<i>M-EK-6</i>	4,93 \pm 0,06 ^a L	-	4,72 \pm 0,06 ^a L	1,13	-	1,31
	<i>M-EK-72</i>	4,99 \pm 0,13 ^a L	-	4,69 \pm 0,05 ^a L	2,51	-	1,01
15	<i>CCDM 799</i>	5,53 \pm 0,09 ^a M	5,04 \pm 0,07 ^a K	4,62 \pm 0,04 ^a L	1,71	1,45	0,86
	<i>CCDM 321</i>	5,31 \pm 0,07 ^b M	5,17 \pm 0,02 ^a K	4,78 \pm 0,03 ^b M	1,41	0,44	0,69
	<i>M-EK-6</i>	5,29 \pm 0,07 ^b M	5,09 \pm 0,07 ^a K	4,69 \pm 0,03 ^a L	1,34	1,46	0,73
	<i>M-EK-72</i>	5,26 \pm 0,07 ^b L	4,95 \pm 0,04 ^b K	4,65 \pm 0,02 ^a L	1,34	0,80	0,41
19	<i>CCDM 799</i>	6,65 \pm 0,20 ^a N	5,32 \pm 0,09 ^{a,b} L	4,95 \pm 0,01 ^a M	3,06	1,71	0,26
	<i>CCDM 321</i>	6,38 \pm 0,21 ^{a,b} N	5,23 \pm 0,07 ^b K	4,92 \pm 0,09 ^a N	3,25	1,41	1,89
	<i>M-EK-6</i>	6,23 \pm 0,21 ^{a,b} N	5,39 \pm 0,04 ^a L	5,03 \pm 0,03 ^a M	2,13	0,75	0,64
	<i>M-EK-72</i>	6,00 \pm 0,13 ^b M	5,24 \pm 0,05 ^b L	5,06 \pm 0,06 ^a M	2,15	1,02	1,09
22	<i>CCDM 799</i>	6,81 \pm 0,17 ^{a,b} N	5,94 \pm 0,10 ^a M	4,99 \pm 0,06 ^a M	2,57	1,64	1,15
	<i>CCDM 321</i>	6,68 \pm 0,06 ^a N	5,60 \pm 0,05 ^b L	4,92 \pm 0,03 ^a N	0,96	0,98	1,89
	<i>M-EK-6</i>	6,78 \pm 0,09 ^{a,b} O	5,75 \pm 0,04 ^a M	5,18 \pm 0,03 ^b N	1,33	0,69	0,64
	<i>M-EK-72</i>	6,97 \pm 0,05 ^b N	5,70 \pm 0,08 ^{a,b} M	5,33 \pm 0,05 ^c N	0,79	1,45	1,01
29	<i>CCDM 799</i>	7,36 \pm 0,09 ^a O	6,27 \pm 0,07 ^a N	5,54 \pm 0,04 ^a N	1,25	1,13	0,79
	<i>CCDM 321</i>	6,68 \pm 0,02 ^b N	5,95 \pm 0,11 ^b M	5,03 \pm 0,04 ^b O	0,31	1,89	0,81
	<i>M-EK-6</i>	7,00 \pm 0,04 ^c P	6,32 \pm 0,04 ^a N	5,62 \pm 0,05 ^a O	0,63	0,59	0,83
	<i>M-EK-72</i>	6,96 \pm 0,22 ^c N	5,94 \pm 0,10 ^b N	5,54 \pm 0,04 ^a O	3,31	1,64	0,79

*Výsledky stanovení pH jsou prezentovány jako průměry (počet měření $n = 4$). Průměry ve sloupcích (jednotlivé vzorky v určitém dnu zrání) se shodným horním indexem se statisticky

ky významně neliší ($P \geq 0,05$). Hodnoty průměrů ve sloupcích (vliv doby zrání na jednotlivé plísňově kultury) následované shodným velkým písmenem se statisticky významně neliší ($P \geq 0,05$).

Výsledky stanovení obsahu sušiny

Stanovení sušiny probíhalo po 1 d, 5 d, 8 d, 15 d, 22 d a 29 d zrání. Hodnoceny byly kultury *P. camemberti* CCDM 799 a *P. nalgiovense* CCDM 321, M-EK-6, M-EK-72.



Graf 5: Grafické vyjádření změny sušiny od 8 d do 29 d zrání.

Sušina se po 1 d a 5 d výrazně nelišila ($P > 0,05$). Po 8 d se odlišovaly ($P < 0,05$) vzorky CCDM 321 a M-EK-72, které měly vyšší sušinu. Po 15 d nedošlo ke změně sušiny ($P > 0,05$). Výraznému zvýšení sušiny došlo v 22 d, mimo M-EK-72. Tato výrazná změna ($P < 0,05$) byla zapříčiněna snížením teploty zrání (na 10°C), pravděpodobně společně s vlhkostí. Po 29 d došlo ke zvýšení sušiny jen u M-EK-6 a M-EK-72 ($P < 0,05$). Tyto nevyrovnané výsledky i mezi jednotlivými vzorky hlavně v pozdějších dnech zrání naznačují, že i umístění v zracím boxu hrálo důležitou roli v obsahu sušiny.

Tab. 3: Hodnoty sušiny vzorků v průběhu zrání*

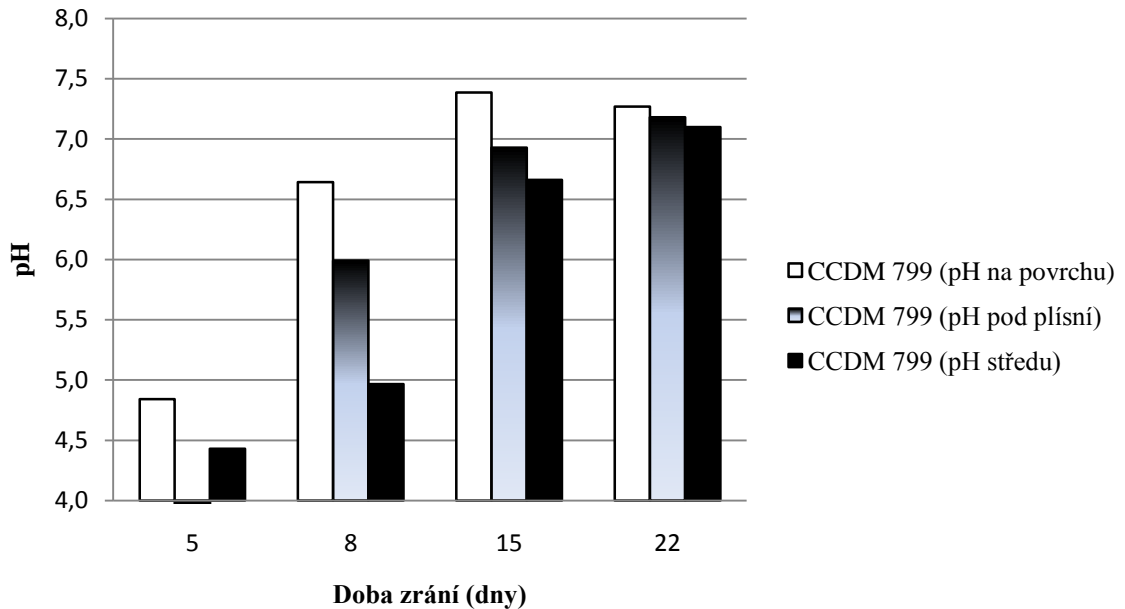
Dny zrání	Název vzorku	Sušina [%] ± SD	Variační koef. [%]
1	<i>před solením</i>	40,56±0,42 ^a	1,05
	<i>po solení</i>	39,74±0,73 ^a	0,73
5	<i>po inokulaci</i>	41,20±1,65	1,65
8	<i>CCDM 799</i>	42,82±0,19 ^{a,b} K	0,44
	<i>CCDM 321</i>	44,66±0,38 ^a L	0,86
	<i>M-EK-6</i>	41,92±0,14 ^b K	0,33
	<i>M-EK-72</i>	44,94±0,38 ^a L	0,85
15	<i>CCDM 799</i>	43,29±0,75 ^a K	1,73
	<i>CCDM 321</i>	44,08±0,30 ^a L	0,68
	<i>M-EK-6</i>	41,14±0,20 ^a K	0,48
	<i>M-EK-72</i>	42,73±1,19 ^a L	2,78
22	<i>CCDM 799</i>	57,20±0,15 ^a L	0,26
	<i>CCDM 321</i>	53,46±0,18 ^b M	0,35
	<i>M-EK-6</i>	46,44±0,62 ^c L	1,34
	<i>M-EK-72</i>	43,53±0,11 ^c L	0,26
29	<i>CCDM 799</i>	58,77±0,76 ^a L	1,29
	<i>CCDM 321</i>	50,80±2,02 ^b M	3,97
	<i>M-EK-6</i>	50,81±0,27 ^b M	0,53
	<i>M-EK-72</i>	55,05±0,61 ^{a,b} M	1,11

*Výsledky stanovení sušiny jsou prezentovány jako průměry (počet vzorků $n = 2$). Průměry ve sloupcích (jednotlivé vzorky v určitém dnu zrání) se shodným horním indexem se statisticky významně neliší ($P \geq 0,05$). Hodnoty průměrů ve sloupcích (vliv doby zrání na jednotlivé plísňově kultury) následované shodným velkým písmenem se statisticky významně neliší ($P \geq 0,05$).

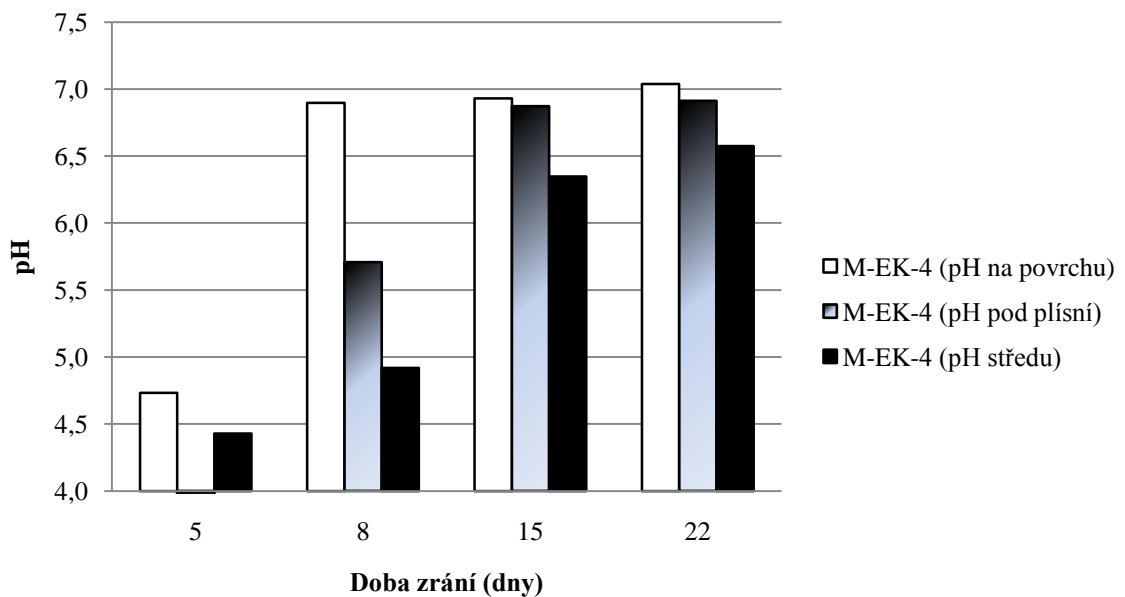
9.1.2 Druhý experiment

Výsledky stanovení hodnot pH

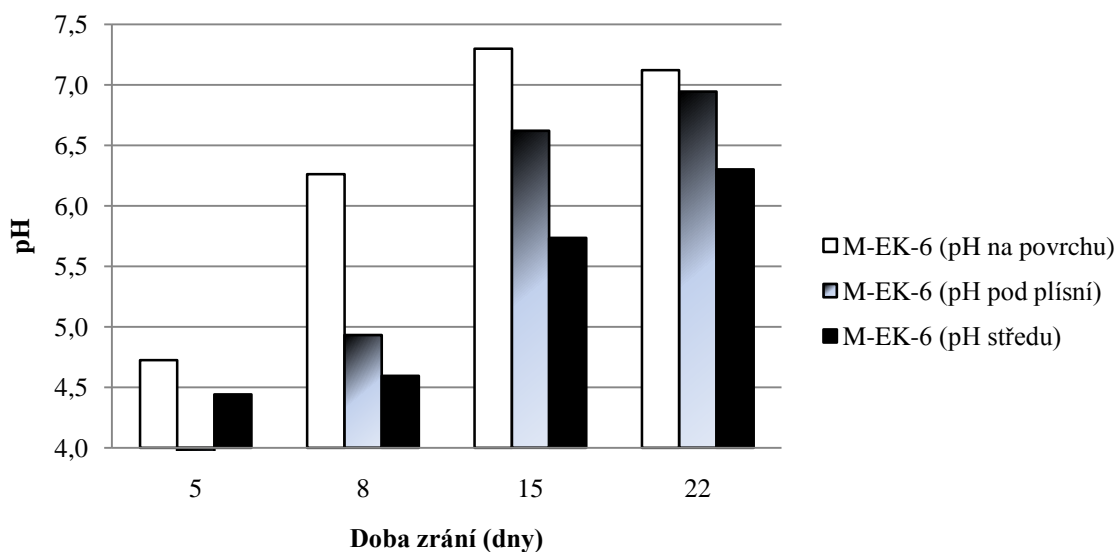
Stanovení pH probíhalo po 1 d, 5 d, 8 d, 15 d, a 22 d zrání. Hodnoceny byly kultury *P. camemberti* CCDM 799 a *P. nalgiovense* M-EK-4, M-EK-6, M-EK-72.



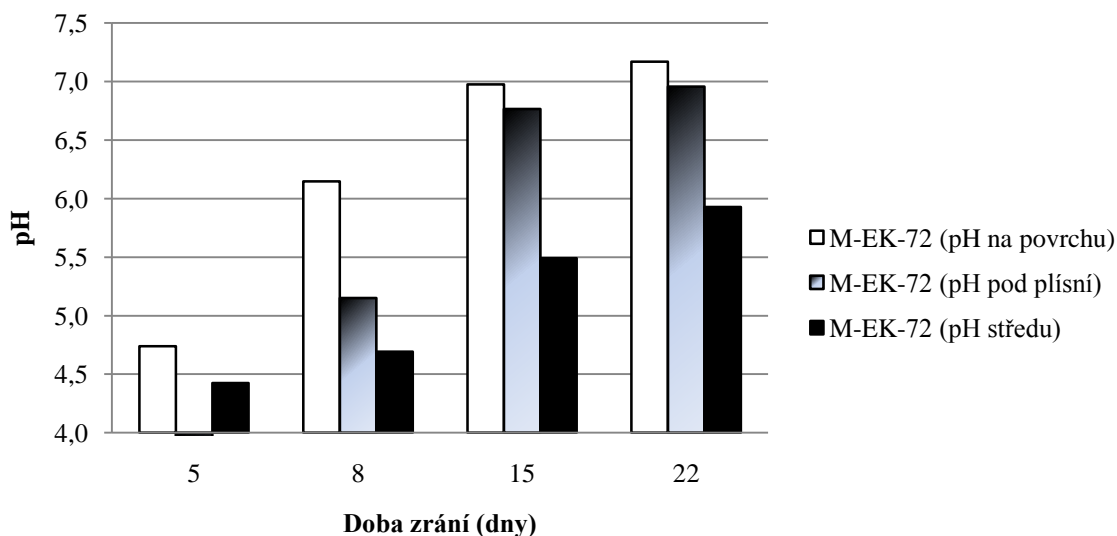
Graf 6: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku *P. nalgiovense* CCDM 799 od 5 d do 22 d zrání.



Graf 7: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku M-EK-4 s *P. nalgiovense* od 5 d do 22 d zrání.



Graf 8: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku M-EK-6 s *P. nalgiovensis* od 5 d do 22 d zrání.



Graf 9: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku M-EK-72 s *P. nalgiovensis* od 5 d do 22 d zrání.

Po výrobě (1 d) mezi vzorky (před solením, po solení a po inokulaci) nebyl rozdíl v pH ($P > 0,05$). Rozdíl pH se neprojevil ani na povrchu ani uvnitř. 5 d zrání bylo pH na povrchu CCDM 799 ($\text{pH } 4,84 \pm 0,03$) významně vyšší ($P < 0,05$) než u ostatních vzorků. pH středu sýrů se významně nelišilo ($P > 0,05$). Nejvýraznější změny nastaly po 8 d zrání. Významně se zvýšilo pH ($P < 0,05$), jak na povrchu, tak i ve středu, což bylo dáno metabolic-

kou aktivitou plísňových kultur. V 8 d zrání se významně lišilo pH ($P < 0,05$) povrchu, pod plísní a středu. Jen mezi vzorky CCDM 799 a M-EK-4 se pH středu významně nelišilo ($P > 0,05$). Další výrazná změna pH ($P < 0,05$) nastala po 15 d zrání. Došlo ke zvýšení pH povrchu, pod plísní a středu. Mimo M-EK-4, které pH na povrchu nezměnilo ($P < 0,05$) od 8 d. Výrazné změny pH ($P < 0,05$) nastaly i mezi jednotlivými vzorky v 15 d zrání. Nejvyšší pH jak povrchu, pod plísní i středu sýra měl vzorek CCDM 799. Výraznější změna pH ($P < 0,05$) nastala i po 22 d. Opět došlo ke zvýšení pH povrchu, pod plísní a středu sýrů, Mimo vzorku M-EK-4. Ve 22 d mezi jednotlivými vzorky nastaly výrazné změny pH ($P < 0,05$). Tyto změny se netýkaly pH pod plísní u vzorků s *P. nalgiovense* (M-EK-4, M-EK-6 a M-EK-72).

Tab. 4: Hodnoty pH (na povrchu, pod plísní a středu) vzorků v průběhu zrání*

Dny zrání	Název vzorku	pH \pm SD			Variační koef. [%]		
		<i>povrch</i>	<i>pod plísní</i>	<i>střed</i>	<i>po-vrch</i>	<i>pod plísní</i>	<i>střed</i>
1	<i>před sol.</i>	4,58 \pm 0,02 ^a	-	4,54 \pm 0,02 ^a	0,54	-	0,53
	<i>po solení</i>	4,59 \pm 0,03 ^a	-	4,55 \pm 0,02 ^a	0,73	-	0,45
	<i>po inokulaci</i>	4,59 \pm 0,02 ^a	-	4,58 \pm 0,01 ^a	0,50	-	0,29
5	CCDM 799	4,84 \pm 0,03 ^a K	-	4,43 \pm 0,01 ^a K	0,58	-	0,32
	M-EK- 4	4,73 \pm 0,02 ^b K	-	4,43 \pm 0,02 ^a K	0,40	-	0,49
	M-EK- 6	4,72 \pm 0,03 ^b K	-	4,44 \pm 0,02 ^a K	0,60	-	0,55
	M-EK -72	4,74 \pm 0,03 ^b K	-	4,43 \pm 0,01 ^a K	0,56	-	0,30
8	CCDM 799	6,64 \pm 0,08 ^a L	5,99 \pm 0,04 ^a K	4,97 \pm 0,04 ^a L	1,18	0,73	0,89
	M-EK- 4	6,90 \pm 0,05 ^b L	5,71 \pm 0,06 ^b K	4,92 \pm 0,06 ^a L	0,69	0,57	1,14
	M-EK- 6	6,26 \pm 0,08 ^c L	4,93 \pm 0,07 ^c K	4,59 \pm 0,03 ^b L	1,26	1,50	0,71
	M-EK -72	6,15 \pm 0,05 ^d L	5,15 \pm 0,04 ^d K	4,69 \pm 0,05 ^c L	0,79	0,76	0,96
15	CCDM 799	7,27 \pm 0,10 ^a M	6,93 \pm 0,03 ^a L	6,66 \pm 0,05 ^a M	1,38	0,40	0,71
	M-EK- 4	6,93 \pm 0,07 ^b L	6,87 \pm 0,06 ^b L	6,35 \pm 0,11 ^b M	1,01	0,82	1,70
	M-EK -6	7,12 \pm 0,07 ^c M	6,62 \pm 0,06 ^c L	5,73 \pm 0,18 ^c M	0,99	0,87	3,22
	M-EK -72	6,97 \pm 0,07 ^b M	6,76 \pm 0,12 ^d L	5,49 \pm 0,12 ^d M	10,5	1,78	2,19
22	CCDM 799	7,39 \pm 0,08 ^a N	7,18 \pm 0,07 ^a M	7,10 \pm 0,04 ^a N	1,09	1,02	0,55
	M-EK- 4	7,04 \pm 0,15 ^b M	6,91 \pm 0,15 ^b L	6,57 \pm 0,26 ^b N	2,09	2,13	3,98
	M-EK- 6	7,30 \pm 0,23 ^c N	6,94 \pm 0,16 ^b M	6,30 \pm 0,13 ^c N	3,28	2,23	2,03
	M-EK- 72	7,17 \pm 0,06 ^d N	6,95 \pm 0,09 ^b M	5,93 \pm 0,25 ^d N	0,81	1,28	4,16

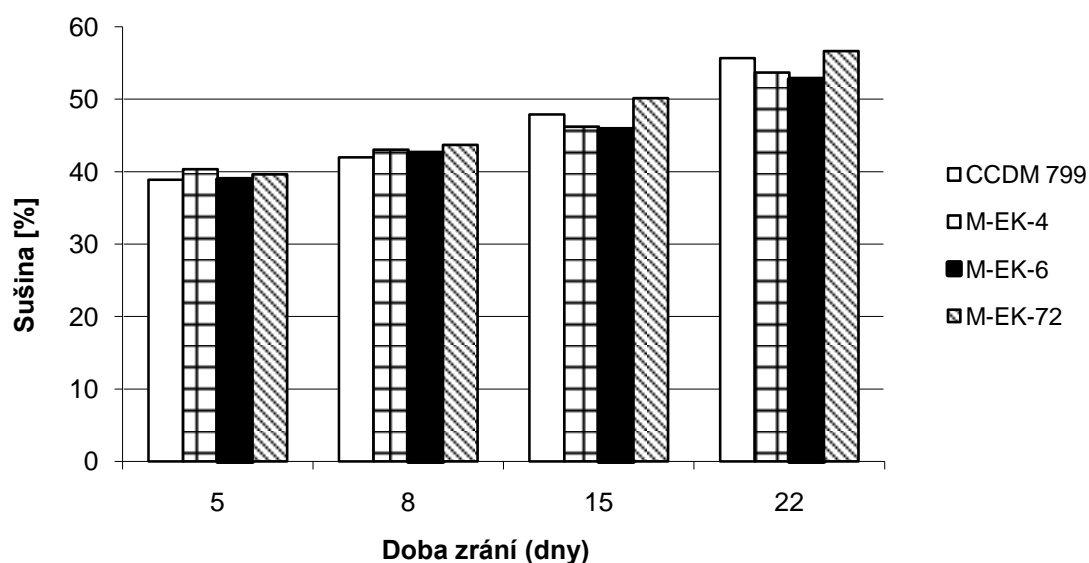
*Výsledky stanovení pH jsou prezentovány jako průměry (počet měření $n = 12$). Průměry ve sloupcích (jednotlivé vzorky v určitém dnu zrání) se shodným horním indexem se statis-

ticky významně neliší ($P \geq 0,05$). Hodnoty průměrů ve sloupcích (vliv doby zrání na jednotlivé plísňové kultury) následované shodným velkým písmenem se statisticky významně neliší ($P \geq 0,05$).

Ve srovnání s prvním experimentem došlo k dřívějšímu nárůstu pH na povrchu a výraznějšímu zvyšování pH pod plísní i středu, které se v pozdějších dnech blížilo hodnotám pH na povrchu hlavně u vzorku CCDM 799. Tyto změny byly dány hlavně dřívější inokulací plísňové kultury a vyšší teplotou zrání.

Výsledky stanovení obsahu sušiny

Stanovení sušiny probíhalo po 1 d, 5 d, 8 d, 15 d, 22 d zrání. Hodnoceny byly kultury *P. camemberti* CCDM 799 a *P. nalgiovensis* M-EK-4, M-EK-6, M-EK-72.



Graf 10: Grafické vyjádření změny sušiny od 8 d do 22 d zrání.

Sušina se 1 d výrazně nelišila ($P > 0,05$) mezi vzorky (před solením, po solení a po inokulaci). Sušina se v dalších dnech zrání mezi jednotlivými vzorky významně nelišila ($P > 0,05$). Ani po 8 d nenastalo výrazné zvýšení sušiny ($P > 0,05$), mimo vzorek M-EK-72. Až po 15 d (od 8 d až 15 d) došlo k výraznému zvýšení sušiny ($P < 0,05$), mimo vzorek M-EK-72. K dalšímu výraznému zvýšení sušiny došlo v 22 d, pravděpodobně snížením teploty zrání a tím i vlhkosti.

Tab. 5: Hodnoty sušiny vzorků v průběhu zrání*

Dny zrání	Název vzorku	Sušina [%] ± SD	Variační koef. [%]
1	<i>před solením</i>	40,11±0,18 ^a	0,43
	<i>po solení</i>	37,72±0,60 ^a	1,58
	<i>po inokulaci</i>	39,44±0,34 ^a	0,85
5	<i>CCDM 799</i>	38,88±0,44 ^a K	1,14
	<i>M-EK-4</i>	40,34±0,74 ^a K	1,85
	<i>M-EK-6</i>	38,91±0,03 ^a K	0,08
	<i>M-EK-72</i>	39,65±0,33 ^a K	0,84
8	<i>CCDM 799</i>	41,98±1,37 ^a K,L	3,27
	<i>M-EK-4</i>	43,02±0,41 ^a K	0,95
	<i>M-EK-6</i>	42,53±0,52 ^a K	1,23
	<i>M-EK-72</i>	43,71±0,64 ^a L	1,46
15	<i>CCDM 799</i>	47,89±0,29 ^a L	0,61
	<i>M-EK-4</i>	46,21±0,12 ^a L	0,26
	<i>M-EK-6</i>	45,81±0,02 ^a L	0,04
	<i>M-EK-72</i>	50,16±1,21 ^a L	2,40
22	<i>CCDM 799</i>	55,67±0,77 ^a M	1,38
	<i>M-EK-4</i>	53,69±0,94 ^a M	1,74
	<i>M-EK-6</i>	52,78±0,64 ^a M	1,22
	<i>M-EK-72</i>	56,64±0,87 ^a M	1,54

*Výsledky stanovení sušiny jsou prezentovány jako průměry (počet vzorků $n = 2$). Průměry ve sloupcích (jednotlivé vzorky v určitém dnu zrání) se shodným horním indexem se statisticky významně neliší ($P \geq 0,05$). Hodnoty průměrů ve sloupcích (vliv doby zrání na jednotlivé plísňové kultury) následované shodným velkým písmenem se statisticky významně neliší ($P \geq 0,05$).

Výsledek stanovení tučnosti

Tučnost byla měřena v 15 d zrání, acidobutyromertricky. Tučnost byla 25,5 % ± 0,07 a tuk v sušině byl (t. v s.) 53,62 % ± 1,89.

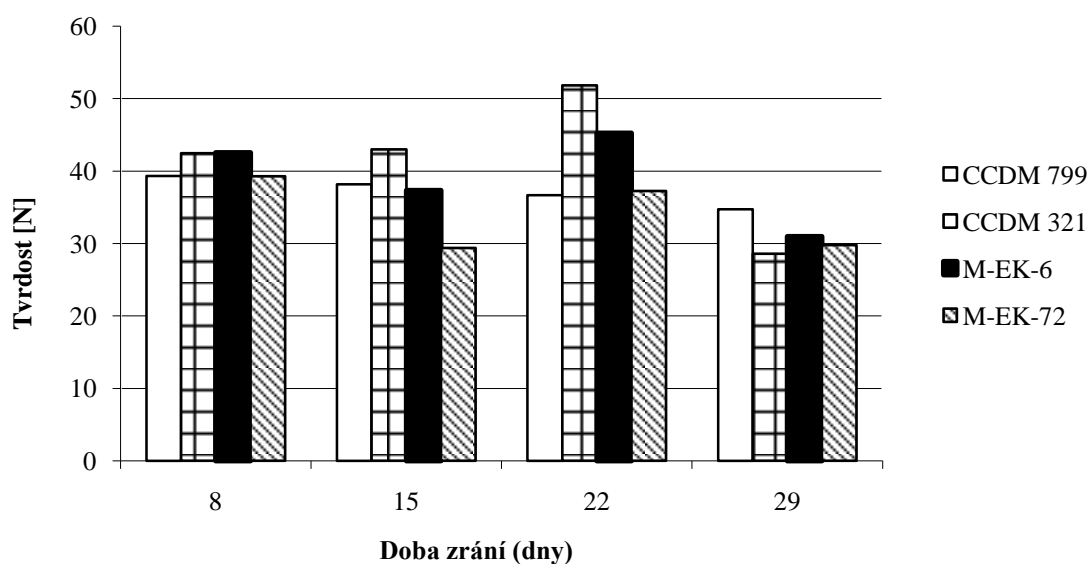
$$\text{t. v s.} = \frac{\text{tučnost sýra [g]}}{100 - \text{obsah vody [g]}} \cdot 100$$

9.2 Texturní analýza

Texturní analýzou byla měřena tvrdost (N). Data byla statisticky vyhodnocena pomocí ANOVA, t-testu a variačního koeficientu (Microsoft Excel 2007).

9.2.1 První experiment

Stanovení tvrdosti (N) probíhalo po 1 d, 5 d, 8 d, 15 d, 22 d a 29 d zrání. Hodnoceny byly kultury *P. camemberti* CCDM 799 a *P. nalgiovense* CCDM 321, M-EK-6, M-EK-72.



Graf 11: Grafické vyjádření změny tvrdosti od 8 d do 29 d zrání.

V prvním experimentu byla hodnocena tvrdost mezi soleným a nesoleným vzorkem po výrobě (1 d), která se významně nelišila ($P > 0,05$). Po 5d (po inokulaci vzorků) se tvrdost významně zvýšila ($P < 0,05$), což je dáno nízkým pH a vzniku drobné struktury. Po 8 d zrání nenastala výrazná změna ($P > 0,05$) od 5 d (po inokulaci) ani mezi jednotlivými vzorky 8 d, což bylo způsobeno pomalým nárůstem plísňových kultur (nízký počáteční teplota, kontaminace). Po 15d zrání došlo k výraznému změkčení jen u vzorku M-EK-72 ($P < 0,05$). Po 22 d se zvýšila tvrdost všech vzorků, mimo CCDM 799, která se výrazně neměnila ($P > 0,05$). Toto zvýšení tvrdosti koresponduje s výrazným zvýšením sušiny u všech vzorků, způsobené snížením teploty zrání i pravděpodobně vlhkosti. Po 29 d došlo k výraznému měknutí jen u vzorků s *P.nalgiovense* (CCDM 321, M-EK-6 a M-EK-72).

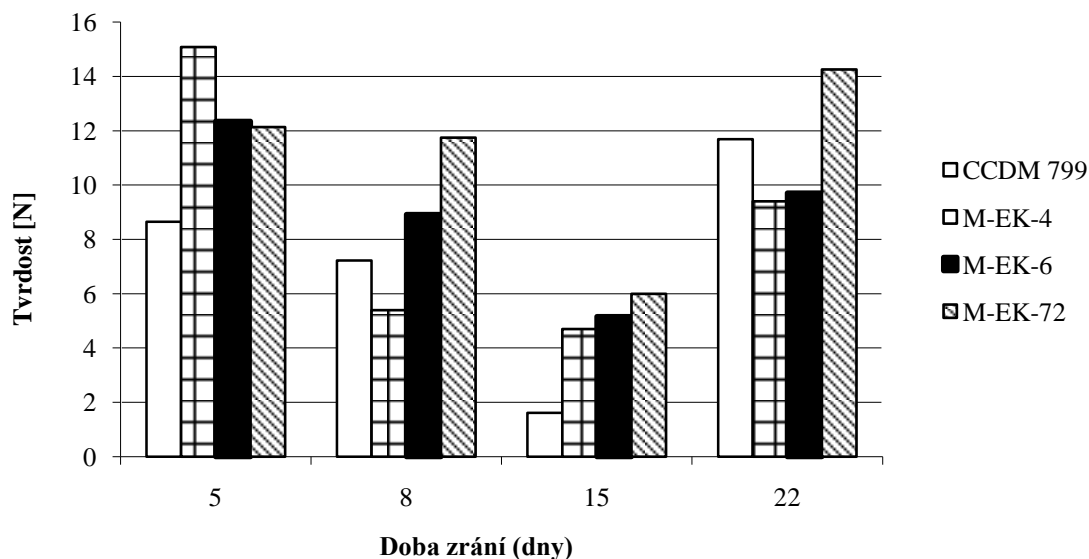
Tab. 6: Hodnoty tvrdosti vzorků v průběhu zrání*

Dny zrání	Název vzorku	Tvrdość [N]±SD	Variační koef. [%]
1	<i>před solením</i>	24,80±0,42 ^a	1,71
	<i>po solení</i>	24,58±2,44 ^a	9,93
5	<i>po inokulaci</i>	39,77±1,88	4,73
8	<i>CCDM 799</i>	39,34±0,99 ^a K	2,51
	<i>CCDM 321</i>	43,46±1,07 ^b K	2,51
	<i>M-EK-6</i>	42,53±0,10 ^b K	0,24
	<i>M-EK-72</i>	39,28±1,91 ^a K	4,86
15	<i>CCDM 799</i>	38,18±1,94 ^a K	5,08
	<i>CCDM 321</i>	42,98±1,38 ^b K	3,21
	<i>M-EK-6</i>	37,34±2,95 ^a K	7,90
	<i>M-EK-72</i>	29,39±0,32 ^c L	1,10
22	<i>CCDM 799</i>	36,65±1,16 ^a K	3,18
	<i>CCDM 321</i>	51,81±1,13 ^b L	2,18
	<i>M-EK-6</i>	45,24±4,16 ^{b,a} L,K	9,19
	<i>M-EK-72</i>	37,25±1,60 ^a K	4,29
29	<i>CCDM 799</i>	34,74±1,26 ^a K	3,62
	<i>CCDM 321</i>	28,59±3,96 ^a M	13,85
	<i>M-EK-6</i>	30,96±1,57 ^a M	5,08
	<i>M-EK-72</i>	29,77±1,58 ^a L	5,31

*Výsledky stanovení tvrdosti sýrů jsou prezentovány jako průměry (vybráno měření $n = 3$). Průměry ve sloupcích (jednotlivé vzorky v určitém dnu zrání) se shodným horním indexem se statisticky významně neliší ($P \geq 0,05$). Hodnoty průměrů ve sloupcích (vliv doby zrání na jednotlivé plísňově kultury) následované shodným velkým písmenem se statisticky významně neliší ($P \geq 0,05$).

9.2.2 Druhý experiment

Stanovení tvrdosti (N) probíhalo po 1 d, 5 d, 8 d, 15 d, a 22 d zrání. Hodnoceny byly kultury *P. camemberti* CCDM 799 a *P. nalgiovensis* M-EK-4, M-EK-6, M-EK-72.



Graf 12: Grafické vyjádření změny tvrdosti od 8 d do 22 d zrání.

Tvrdost byla nejnižší 1d u vzorku po solení, odlišovala ($P < 0,05$) se od nesoleného vzorku a vzorku po inokulaci. V 5 d zrání měl nejnižší tvrdost vzorek CCDM 799 a výrazně se odlišoval od ostatních ($P < 0,05$). Zvýšení tvrdosti je dáno nízkým pH, kdy syřidlo degraduje rychleji α_{s1} -kasein a sýr se stává drobnivý (Lawrence, Creamer, Gilles 1987). Po 8 d se tvrdost výrazně nezměnila ($P > 0,05$) u vzorků CCDM 799 a M-EK-72 (u vzorků M-EK-4 a M-EK-72 se měknutí projevilo ($P < 0,05$)). V 8 d zrání jsou patrné rozdíly tvrdosti mezi jednotlivými vzorky mimo M-EK-6 a M-EK-72. Nejvýraznější měknutí nastalo po 15 d zrání. Významně se snížila ($P < 0,05$) tvrdost všech vzorků, kromě M-EK-4, který se významně nezměnil ($P > 0,05$). V 15 d zrání byl vzorek CCDM 799 výrazně nejměkčí ($P < 0,05$) a odlišoval od ostatních vzorků *P. nalgiovensis* (M-EK-4, M-EK-6 a M-EK-72). Toto výrazné měknutí bylo pravděpodobně způsobeno činností plísňových kultur (zvýšení pH a aktivace enzymů, migrace minerálů z centra na povrch aj.). Ve 22 d zrání nastalo výrazné zvýšení tvrdosti způsobené zvýšením sušiny, pravděpodobně způsobené snížením teploty zrání a vlhkosti.

Tab. 7: Hodnoty tvrdosti vzorků v průběhu zrání*

Dny zrání	Název vzorku	Tvrdość [N] \pm SD	Variační koef. [%]
1	<i>před solením</i>	8,37 \pm 0,52 ^a	6,17
	<i>po solení</i>	6,09 \pm 0,58 ^b	9,56
	<i>po inokulaci</i>	7,93 \pm 0,62 ^a	7,87
5	<i>CCDM 799</i>	8,65 \pm 0,16 ^a K	1,82
	<i>M-EK-4</i>	15,08 \pm 1,68 ^b K	11,15
	<i>M-EK-6</i>	12,35 \pm 0,19 ^b K	1,55
	<i>M-EK-72</i>	12,13 \pm 1,08 ^b K	8,90
8	<i>CCDM 799</i>	7,22 \pm 0,59 ^a K	8,15
	<i>M-EK-4</i>	5,39 \pm 0,21 ^b L	3,87
	<i>M-EK-6</i>	8,92 \pm 0,05 ^c L	0,59
	<i>M-EK-72</i>	11,74 \pm 1,17 ^c K	9,96
15	<i>CCDM 799</i>	1,61 \pm 0,10 ^a L	6,37
	<i>M-EK-4</i>	4,71 \pm 0,73 ^b L	15,49
	<i>M-EK-6</i>	5,16 \pm 0,41 ^b M	8,02
	<i>M-EK-72</i>	6,00 \pm 1,62 ^b L	27,02
22	<i>CCDM 799</i>	11,68 \pm 0,66 ^a M	5,69
	<i>M-EK-4</i>	9,40 \pm 1,23 ^b K	13,07
	<i>M-EK-6</i>	9,71 \pm 1,02 ^{a,b} K,L	10,50
	<i>M-EK-72</i>	14,25 \pm 0,61 ^a K	4,29

*Výsledky stanovení tvrdosti jsou prezentovány jako průměry (vybráno měření $n = 3$). Průměry ve sloupcích (jednotlivé vzorky v určitém dnu zrání) se shodným horním indexem se statisticky významně neliší ($P \geq 0,05$). Hodnoty průměrů ve sloupcích (vliv doby zrání na jednotlivé plísňově kultury) následované shodným velkým písmenem se statisticky významně neliší ($P \geq 0,05$).

V druhém experimentu je patrné výraznější měknutí než u prvního experimentu. Toto výraznější měknutí bylo hlavně způsobeno vyššími teplotami zrání, dřívější inokulací vzorků, menším objemem výroby (menší vzorky). Výsledky prvního experimentu mohly být ovlivněny i kontaminující flórou na povrchu vzorků sýrů.

9.3 Senzorická analýza

Z důvodu kontaminace prvního experimentu byl statisticky vyhodnocen jen druhý experiment. Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí Kruskal-Wallisova testu doplněného Nemenyioho metodou vícenásobného párového porovnávání (Buňka, Kříž, Hrabě 2005).

Senzorickou analýzou byly sledovány změny v barvě, konzistenci, vůni, chuti a intenzity kyselé, slané, hořké, sýrové, houbové, amoniakální chuti. Senzorická analýza byla provedena v 14 d a 22 d zrání. Nebyly hodnoceny vzorky s plísní *P. camemberti* CCDM 799 z důvodu přezrání.

V první senzorické analýze (14 d) bylo zjištěno, že v barvě existovaly mezi vzorky statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti. Jako nejlepší byl hodnocen vzorek M-EK-72 a jako nejhorší M-EK-4 a právě mezi těmito vzorky byl statisticky významný rozdíl na 5 % hladině významnosti. Také ve vůni existovaly mezi vzorky statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti. Jako nejlepší byl zvolen vzorek M-EK-4 a jako nejhorší M-EK-6. Statisticky významný rozdíl na 5 % hladině významnosti byl pozorován jen u vzorků M-EK-4 a M-EK-6. V konzistenci nebyl shledán mezi vzorky statisticky významný rozdíl na 1 % hladině významnosti. V chuti mezi vzorky existovaly statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti. Nejlepší byl vzorek M-EK-6 a nejhorší M-EK-4. Statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti byly pozorovány u vzorků M-EK-4 a M-EK-6, M-EK-4 a M-EK-72.

V intenzitě kyselé, slané, houbové a amoniakální chuti nebyl shledán statisticky významný rozdíl na 1 % hladině významnosti. V intenzitě hořké chuti byly mezi vzorky statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti. Nejméně hořký byl vzorek M-EK-6 poté M-EK-72 a nejvíce hořký M-EK-4. Statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti byly pozorovány u vzorků M-EK-4 a M-EK-6, M-EK-4 a M-EK-72. Intenzita sýrové chuti měla mezi vzorky statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti. Jako nejvíce sýrový byl označen vzorek M-EK-6 poté M-EK-4 a nejméně sýrový M-EK-72. Statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti byly pozorovány u vzorků M-EK-6 a M-EK-72.

V druhé senzorické analýze (22 d) bylo zjištěno, že v barvě a vůni nebyl shledán mezi vzorky statisticky významný rozdíl na 1 % hladině významnosti. V konzistenci mezi vzorky existoval statisticky významný rozdíl na 5 % hladině významnosti. Nejlepší byl

vzorek M-EK-6 a nejhorší M-EK-72. Statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti byly pozorovány u vzorků M-EK-6 a M-EK-72, M-EK-4 a M-EK-6. V chuti mezi vzorky existoval statisticky významný rozdíl na 5 % hladině významnosti. Nejlepší byl vzorek M-EK-6 poté M-EK-72 a nejhorší M-EK-4. Statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti byly pozorovány u vzorků M-EK-4 a M-EK-72, M-EK-4 a M-EK-6.

V intenzitě slané, sýrové, houbové a amoniakální chuti nebyl shledán statisticky významný rozdíl na 1 % hladině významnosti. V intenzitě kyselé chuti byly mezi vzorky statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti. Nejméně kyselý byl vzorek M-EK-72 poté M-EK-6 a nejvíce kyselý byl M-EK-4. Statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti byly pozorovány u jen vzorků M-EK-4 a M-EK-6. Intenzita Hořké chuti měla mezi vzorky statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti. Jako nejvíce hořký byl označen vzorek M-EK-4 poté M-EK-72 a nejméně hořký M-EK-6. Statisticky významné rozdíly na 5 % hladině významnosti byly pozorovány u vzorků M-EK-4 a M-EK-6, M-EK-4 a M-EK-72.

Nejméně přijatelný byl vzorek M-EK-4, který měl nejhorší chuť po celou dobu hodnocení. Měl nejintenzivnější hořkou chuť. Naopak jako přijatelný vzorek se jeví M-EK-6, který měl nejlepší chuť po celou dobu hodnocení. Byl také nejméně hořký po celou dobu hodnocení a nejvíce sýrový po 14 dnech zrání.

ZÁVĚR

Záměrem mé diplomové práce bylo srovnání rozdílné tvrdosti sýrů s plísňovými kulturami *P. nalgiovense*, využívané pro výrobu fermentovaných masných výrobků a *P. camemberti*. Mým cílem bylo zjistit, zda se plísňové kultury *P. nalgiovense* hodí také pro výrobu sýrů s plísní na povrchu. K tomuto účelu jsem vyrobil sýry s plísní *P. nalgiovense* na povrchu a měřil jsem tvrdost, pH a sušinu. Zajímaly mě senzorické vlastnosti sýrů s plísní *P. nalgiovense* během zrání.

Na základě stanovených cílů jsem v průběhu zkoumání zjistil:

- Tvrdost sýrů výrazně ovlivňuje metabolická aktivita plísně, sušina a teplota zrání.
- Vyšší teploty zrání obecně více podporují růst plísně *P. camemberti* i její metabolickou aktivitu než plíseň *P. nalgiovense*.
- U sýrů s plísní *P. camemberti* obecně dochází k většímu měknutí než u sýrů s plísní *P. nalgiovense*.
- Na základě senzorického hodnocení je nejlepší kultura *P. nalgiovense* M-EK-6 Bactoferm™, kdy sýry s touto kulturou měly nejlepší chuť.

Vzhledem k zjištěným výsledkům navrhuji následující doporučení:

- Provést další experimenty s kulturou *P. nalgiovensis* M-EK-6 Bactoferm™, s cílem optimalizace podmínek zrání.
- Zaměřit se na sledování tvorby sekundárních metabolitů.
- Zaměřit se na sledování proteolytické a lipolytické aktivity.
- Zaměřit se více na senzorickou jakost vyrobených sýrů.

Dle mého názoru lze kulturu *P. nalgiovensis* M-EK-6 Bactoferm™ využít pro další experimenty. Svou prací bych tak rád přispěl k oživení již zaniklého Nalžovského sýra, kde se právě plíseň *P. nalgiovense* využívala pro jeho zrání. Doufám, že se má práce stane zdrojem inspirace, jedním z pomyslných dílků mozaiky, jež povede k znovuobnovení již zaniklé výroby tohoto sýra.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ANDERSEN, S. J.; FRISVAD, J. C. Penicillin production by *Penicillium nalgiovense*. *Letters in Applied Microbiology*. 19 (1994), s. 486-488.
- BABÁK, Libor; ŠUPINOVÁ, Petra; VÍTOVÁ, Eva. Vývoj sýřících vlastností mléka. *Chemické Listy*. 104, (2010), s. 572.
- BEJBLOVÁ, Martina. *Změny proteinů v průběhu zrání měkkých sýrů s plísní na povrchu*. Zlín, 2010. 93 s. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- BŘEZINA, P.; KOMÁR, A.; HRABĚ, J. *Technologie, zbožiznalství a hygiena potravin, II.* část. Technologie, zbožiznalství a hygiena potravin živočišného původu. Vyškov: VVŠ PV, 2001. ISBN 80-7231-079-8.
- BŘEZINA, Pavel; JELÍNEK, Jaroslav. *Chemie a technologie mléka*. Vyd. 1. Praha: MON, 1990. 166 s. ISBN 8070800755.
- BUŇKA, František. *Technologie mléka a mléčných výrobků: (přednášky)*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Zlín, 2010.
- BUŇKA, František; KŘÍŽ, Oldřich; HRABĚ, Jan. *Statistický software STATVYD verze 2.0 beta*. Zlín, 2005.
- BUŇKOVÁ, Leona a kol. Vliv aerobního/anaerobního prostředí na dekarboxylázovou aktivitu vybraných bakterií mléčného kvašení. *Potravinářstvo*. 2, (2010a), s. 5-7.
- BUŇKOVÁ, Leona a kol. Komparace různých metod detekce dekarboxylázové aktivity u bakterií mléčného kvašení. *Potravinářstvo*. Mimořádné číslo, (2010b), s. 372-380.
- CARREIRA, Alexandra a kol. Influence of selected factors on browning of Camembert cheese. *Journal of Dairy Research*. 69, (2002), s. 281-292.
- CORSETTI, A.; ROSSI, J.; GOBBETTI, M. Interactions between yeasts and bacteria in the smear surface-ripened cheeses. *International Journal of Food Microbiology*. 69, (2001), s. 1-10.
- DOLEŽÁLEK, Jiří. *Biochemie a technologie plísňových sýrů*. Praha: Středisko technických informací potravinářského průmyslu, 1967. 287 s.
- DRDÁK, M. *Základy potravinářských technologií*. Vyd. 1. Bratislava: Malé centrum. 1996, 512 s. ISBN 80-967064-1-1

- DURIEUX, Alain; SIMON, Jean-Paul. *Applied Microbiology*. New aspects of fungal starter cultures for fermented foods. Nizozemí: Springer, 2002. s. 13-27. ISBN 0-303-46888-3.
- ENGEL, Erwan a kol. Determination of taste-active compounds of a bitter Camembert cheese by omission tests. *Journal of Dairy Research*. 68, (2001), s. 675-688.
- FÄRBER, P.; GEISEN, R. Karyotype of *Penicillium nalgiovense* and assignment of the penicillin biosynthetic genes to chromosome IV. *International Journal of Microbiology*. 58 (2000), s. 59-63.
- FÄRBER, P.; GEISEN, R. Antagonistic activity of the food-related filamentous fungus *Penicillium nalgiovense* by the production of penicillin. *Applied and Environmental Microbiology*. 7, (1994), s. 3401-3404.
- FOX, Patrick F. a kol. *Cheese - chemistry, physics and microbiology*. 3 vyd. San Diego: Academic, 2004. ISBN 0-1226-3652-X.
- FOX, Patrick F.; FUQUAY, John W; ROGINSKI, Hubert. *Encyclopedia of dairy sciences*. Amsterdam: Academic Press, 2003. ISBN 0122272358.
- FOX, Patrick F. *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg, Maryland: Aspen. 2000, 587 s. ISBN 978-0-8342-1260-2.
- FOX, Patrick F.; MCSWEENEY, P. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Springer: Blackie Academic & Professional. 1998. 478 s. ISBN 0-412-72000-0
- GAJDŮŠEK, Stanislav. *Mlékařství*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2000. 135 s. ISBN 80-715-7342-6.
- GAJDŮŠEK, Stanislav. Význam bílkovin mléka na výtěžnost při výrobě sýrů. *Sýry 1997*. Kroměříž: Vyšší odborná škola potravinářská a Střední průmyslová škola mlékařenská Kroměříž a Českomoravský svaz mlékárenský, 1997. s. 30-35.
- HENRI-DUBERNET, Ségolène; DESMASURES, Nathalie; GUÉGUEN, Micheline. Culture-dependent and culture-independent methods for molecular analysis of the diversity of lactobacilli in "Camembert de Normandie" cheese. *Lait*. 84, (2004), s. 179-189.
- HRABĚ, Jan; BŘEZINA, Pavel; VALÁŠEK, Pavel. *Technologie výroby potravin živočišného původu*. 1 vyd. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008. 180 s. ISBN 978-80-7318-405-6.

- HUDEČEK, Ladislav; MLČOUŠKOVÁ, Hana. *Učební texty. Laboratoř, poloprovoz, mlékárna*. Kroměříž: Vyšší odborná škola potravinářská a Střední průmyslová škola mlékárenská Kroměříž, 2005. 29 s.
- JESENSKÁ, Zdenka. *Penicillium nalgiovense Laxa*. Slovensko: Ústav preventivní a klinické medicíny, 1999.
- KADLEC, Pavel; MELZOCH, Karel; VOLDŘICH, Michal. *Co byste měli vědět o výrobě potravin? Technologie mléka a mlékárenských výrobků*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2010. s. 227-294. ISBN 978-80-7418-051-4.
- KOHAJDOVÁ, Z.; KAROVIČOVÁ, J.; GREIF, G. Biogénne aminy v potravinách. *Potravinářstvo*. 1, (2008), s. 30-49.
- KOPÁČEK, Jiří. Zapomenuté sýry. *Potravinářská revue*. 3 (2008), s. 35-36.
- LAICH, Federico; FIERRO, Francisco; MARTÍN, F. Juan. Production of penicillin by fungi growing on food products: identification of a complete penicillin gene cluster in *Penicillium griseofulvum* and a truncated cluster in *Penicillium verrucosum*. *Applied and Environmental Microbiology*. 68, (2002), s. 1211-1219.
- LAICH, Federico a kol. Organization of the gene cluster for biosynthesis of penicillin in *Penicillium nalgiovense* and antibiotic production in cured dry sausages. *Applied and Environmental Microbiology*. 65, (1999), s. 1236-1240.
- LARSEN, Thomas Ostenfeld; BREINHOLT, Jens. Dichlorodiaportin, diaportinol, and diaportinic acid: three novel isocoumarins from *Penicillium nalgiovense*. *Journal of Natural Products*. 62, (1999), s. 1182-1184.
- LAWRENCE, R. C., CREAMER, L. K., GILLES J. Texture development during cheese ripening. Symposium: cheese ripening technology. *Journal of Dairy Science*. 70, (1987), s. 1748-1760.
- LECLERCQ-PERLAT, Marie-Noëlle a kol. Controlled production of Camembert-type cheeses. Part I: Microbiological and physicochemical evolutions. *Journal of Dairy Research*. 71, (2004a), s. 346-354.
- LECLERCQ-PERLAT, Marie-Noëlle a kol. Controlled production of Camembert-type cheeses. Part II. changes in the concentration of the more volatile compounds. *Journal of Dairy Research*. 71, (2004b), s. 355-366.
- LUND, F.; FILTENBORG, O.; FRISVAD, J. C. Associated mycoflora of cheese. *Food Microbiology*, 12, (1995), s. 173-180.

- LUNDEMANN, Vanesa a kol. Toxicological assessment of *Penicillium nalgiovense* strains for use as starter cultures in the manufacture of dry fermented sausages. *Journal of Food Protection*. 72, (2009), s. 1666–1670.
- MÁRA, František. Výroba tzv. Nalžovského sýra v sýrárně kolineckého velkostatku. *Dějiny městečka kolince I*. 1996.
- MCSWEENEY, P. L. H. The flavour of milk and dairy products: III. Cheese: taste. *International Journal of Dairy Technology*. 50, (1997). s. 123-128.
- MICHALSKI, Marie-Caroline a kol. The size of native milk fat globules affects physico-chemical and sensory properties of Camembert cheese. *Lait*. 83, (2003), s. 131–143.
- Mlékárenské technologie I distanční text*. Vzdělávací portál Sdružení CEPAC-Morava Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, 2007a.
- Mlékárenské technologie II distanční text*. Vzdělávací portál Sdružení CEPAC-Morava Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, 2007b.
- MRÁZEK, Josef a kol. Plíseň *Penicillium nalgiovense* jako alternativa k výrobě plísňového sýra. *Potravinářská revue*. 1, (2009), s. 53-55
- MRÁZEK, Josef. *Přírodní sýry I: sýry sladkého sýrařství: (přednáška)*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Kroměříž, 2008. 61 s.
- MRÁZEK, Josef a kol. Využití plísně *Penicillium nalgiovense* k výrobě plísňového sýra. *Celostátní přehledky sýrů 2007*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2007a. s. 232-236.
- MRÁZEK, Josef. Strojní vybavení faremního mlékárenského provozu. *Praktické možnosti zpracování kravského, ovčího a koziho mléka*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2007b. ISBN 978-80-7318-580-0.
- MRÁZEK, Josef. Schémata technologických postupů výroby sýrů. Sýrařský pracovní sešit. Vyšší odborná škola potravinářská a Střední průmyslová škola mlékárenská Kroměříž, 1996. s. 14.
- NEHYBA, Antonín. Domácí výroba sýrů a tvarohu. *Praktické možnosti zpracování kravského, ovčího a koziho mléka*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2007. ISBN 978-80-7318-580-0.
- PAGOT, Yves a kol. Metabolism of phenylalanine and biosynthesis of styrene in *Penicillium camemberti*. *Journal of Dairy Research*. 74, (2007), s. 180–185.

- PLOCKOVÁ, Milada. Problematika ovlivňování mikrobiální kvality sýrů. *Sýry 1997*. Kroměříž: Vyšší odborná škola potravinářská a Střední průmyslová škola mlékárenská Kroměříž, Českomoravský svaz mlékárenský, 1997. s. 99-105.
- PRILLINGER, Hansjörg a kol. Phenotypic and genotypic identification of yeasts from cheese. *Antonie van Leeuwenhoek*, 75, (1999), s. 267–283.
- PRÍVARA, Štefan a kol. Vplyv ošetrenia mlieka na kvalitu syra typu Camembert. *Potravinárstvo*. Mimořádné číslo, (2010), s. 224-230
- PROKŠ, Josef. *Mlékařství díl II*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1965. 365 s.
- PROKŠ, Josef. *Mlékařství díl I*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1964. 222 s.
- RAISTRICK, H.; ZIFFER, J. The colouring matters of *Penicillium nalgiovensis* Laxa. Part 1. nalgiovensin and nalgiofaxin. Isolation, derivatives and partial structures. *Studies in the Biochemistry of Microorganisms*. (1951). s. 563-574.
- STANDAROVÁ, Eva; VORLOVÁ, Lenka; BORKOVCOVÁ Ivana. Zastoupení vybraných biogenních aminů v sýrech s bílou plísní na povrchu. *Acta fytotechnica et zootechnica*. Mimořádné číslo, 2009, s. 610-617.
- STANĚK, Karel. *Vliv plísní Penicillium nalgiovensis na přírodní sýry*. Zlín, 2009. 95 s. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- SVOBODA, Miloslav a kol. *Abeceda mlékárenství*. 2. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1966. 315 s.
- ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. vyd. Praha: Academia, 2002. 363 s. ISBN 8-85605-71-6.
- TAMIME, Adnan Y. (2007). *Structure of Dairy Products*. 1 vyd. John Wiley & Sons. ISBN-13: 978-1-4051-2975-6.
- TEPLÝ, Miloš a kol. *Výroba sýrů, kaseinů a kaseinátů*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1985. 185 s.
- TEPLÝ, Miloš; MAYERA, Artur. *Technologie mléčných výrobků*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1981. 371 s.
- TEPLÝ, Miloš a kol. *Nové směry v technice a technologii mlékárenského průmyslu*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1980. 243 s.

- VÁLKOVÁ, Iveta. *Stanovení biochemických vlastností plísní rodu Penicillium*. Zlín, 2009. 52 s. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- VÍTOVÁ, Eva a kol. Srovnání aromatického profilu sýrů s bílou plísní. *Sborník. Nezařazené články*. 3. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 2006. s. 287-290. ISBN: 80-8069-682- 9.
- VELÍŠEK, Jan; HAJŠLOVÁ, Jana. *Chemie potravin I*. 3. vyd. Tábor: Osis, 2009a, 580 s. ISBN 978-80-86659-15-2.
- VELÍŠEK, Jan; HAJŠLOVÁ, Jana. *Chemie potravin II*. 3. vyd. Tábor: Osis, 2009b, 623 s. ISBN 978-80-86659-16-9.
- Vyhláška č. 77/2003 Sb., Ministerstva zemědělství České republiky z 6. března 2003, kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje.
- WEIMER, Bart. *Improving the flavou of cheese*. Cambridge: Woodhead, 2007. ISBN 978-0-8493-9158-3.
- WONG, Noble P. a kol. *Fundamentals of dairy chemistry*. 3 vyd. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers. 1999, 779 s. ISBN 0-8342-1360-5.
- ZIMÁK, Evžen. *Technologie pro 4. ročník SPŠ studijního oboru zpracování mléka*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1988. 362 s.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PCR	Polymerázová řetězová reakce.
PFGE	Elektroforéza v pulzním elektrickém poli.
Mb	Páry megabasi.
BMK	Bakterie mléčného kvašení.
t. v s.	Tuk v sušině
κ-CN	κ-Kasein
PP	Proteosopeptony
MK	Mastné kyseliny
VMK	Volné mastné kyseliny
tps	Tukuprostá sušina (mléka)
d	Dny

SEZNAM OBRAZKŮ

Obr. 1: Vztah k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra (Vyhláška č. 77/2003 Sb.)	10
Obr. 2: Rozmanitost sýrů, sýry jsou rozděleny do variet podle způsobu srážení, zrání a technologie (Fox a kol. 2004, s. 8, upraveno).....	11
Obr. 3: Etiketa Nalžovského sýra (Kopáček 2008, s. 35)	12
Obr. 4: Provozní výpočet množství syřidla (Buňka 2010)	23
Obr. 5: Srážení mléka (Fox, McSweeney 1998, s. 382, upraveno).....	23
Obr. 6: Hydrolýza κ -kaseinu chymosinem (Velíšek, Hajšlová 2009a, s. 57)	24
Obr. 7: Zrání sýra s plísní na povrchu (Weimer 2007, s. 10, upraveno).....	29
Obr. 8: Mechanismus reakcí homofermentativního mléčného kvašení (Velíšek, Hajšlová 2009, s. 54).....	31
Obr. 9: Plasminový / plasminogenový systém v mléce (Fox a kol. 2004, s. 394, upraveno).....	33
Obr. 10: Degradace dodekapeptidů působením laktokokových peptidas: oligopeptidasy (PepO), různé aminopeptidasy (PCP, PepN, PepA, PepX), tripeptidasy (TRP), prolidasy (PRD) a dipeptidasy (DIP) (Fox a McSweeney 1998, s. 412, upraveno)	34
Obr. 11: Katabolismus MK <i>Penicillium</i> spp. (Fox a kol 2004, s. 378).....	36
Obr. 12a: Vliv pH na texturu (Lawrence, Creamer, Gilles 1987, s. 1754)	40
Obr. 12b: Vztah mezi pH, ionty vápníku a roztažností sýra (Lawrence, Creamer, Gilles 1987, s. 1755).....	40
Obr. 13: Schématická ilustrace krájení vzorků (vytvořeno v Google SketchUp)	50

SEZNAM TABULEK A SCHÉMÁT

Tab. 1: Tučnost mléčné směsi plísňových sýrů v závislosti.....	21
Tab. 2: Hodnoty pH (na povrchu, pod plísní a středu) vzorků v průběhu zrání.....	56
Tab. 3: Hodnoty sušiny vzorků v průběhu zrání	58
Tab. 4: Hodnoty pH (na povrchu, pod plísní a středu) vzorků v průběhu zrání.....	61
Tab. 5: Hodnoty sušiny vzorků v průběhu zrání	63
Tab. 6: Hodnoty tvrdosti vzorků v průběhu zrání	65
Tab. 7: Hodnoty tvrdosti vzorků v průběhu zrání	67
Schéma 1: Výroba sýra s plísní na povrchu.....	18
Schéma 2: První experiment	48
Schéma 3: Druhý experiment.....	51

SEZNAM GRAFŮ A ROVNIC

Graf 1: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku <i>P. camemberti</i> CCDM 799 od 8d do 29d zrání.	53
Graf 2: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku <i>P. nalgiovense</i> CCDM 321 od 8d do 29d zrání.	54
Graf 3: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku M-EK-6 s <i>P. nalgiovense</i> od 8d do 29d zrání.	54
Graf 4: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku M-EK-72 s <i>P. nalgiovense</i> od 8d do 29d zrání.	55
Graf 5: Grafické vyjádření změny sušiny od 8d do 29d zrání.	57
Graf 6: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku <i>P. nalgiovense</i> CCDM 799 od 5d do 22d zrání.	59
Graf 7: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku M-EK-4 s <i>P. nalgiovense</i> od 5d do 22d zrání.	59
Graf 8: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku M-EK-6 s <i>P. nalgiovense</i> od 5d do 22d zrání.	60
Graf 9: Grafické vyjádření změny pH (na povrchu, pod plísní a středu) u vzorku M-EK-72 s <i>P. nalgiovense</i> od 5d do 22d zrání.	60
Graf 10: Grafické vyjádření změny sušiny od 8d do 22d zrání.	62
Graf 11: Grafické vyjádření změny tvrdosti od 8d do 29d zrání.	64
Graf 12: Grafické vyjádření změny tvrdosti od 8d do 22d zrání.	66
Rov. 1	21
Rov. 2	24

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Fotodokumentace druhého experimentu.....	II
Příloha P II: Přehled kvasinek izolovaných ze sýrů zrajících od povrchu.....	VI

PŘÍLOHA P I: FOTODOKUMENTACE DRUHÉHO EXPERIMENTU



Obr. 1: Vzorek *P. camemberti* CCDM 799 5 d po výrobě.



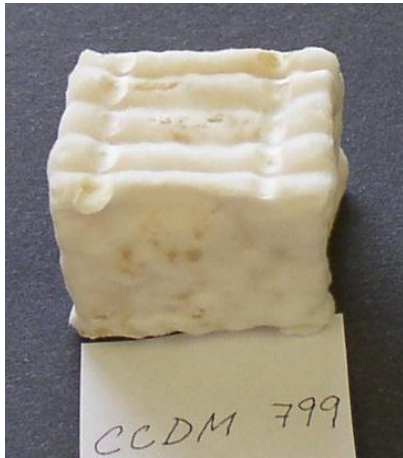
Obr. 2: Vzorek *P. nalgiovensis* M-EK-4 Bactoferm™ 5 d po výrobě.



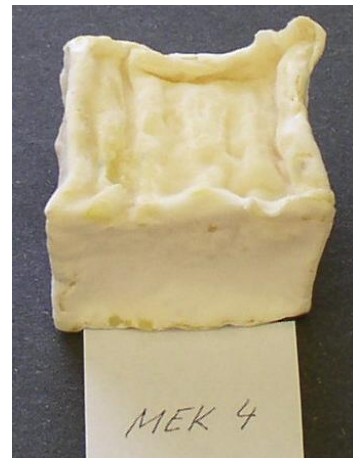
Obr. 3: Vzorek *P. nalgiovensis* M-EK-6 Bactoferm™ 5 d po výrobě.



Obr. 4: Vzorek *P. nalgiovensis* M-EK-72 Bactoferm™ 5 d po výrobě.



Obr. 5: Vzorek *P. camemberti* CCDM
799 8 d po výrobě.



Obr. 6: Vzorek *P. nalgiovensis* M-EK-4
Bactoferm™ 8 d po výrobě.



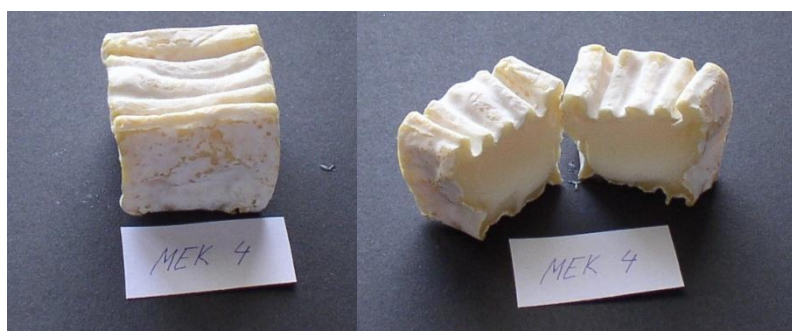
Obr. 7: Vzorek *P. nalgiovensis* M-EK-6
Bactoferm™ 8 d po výrobě.



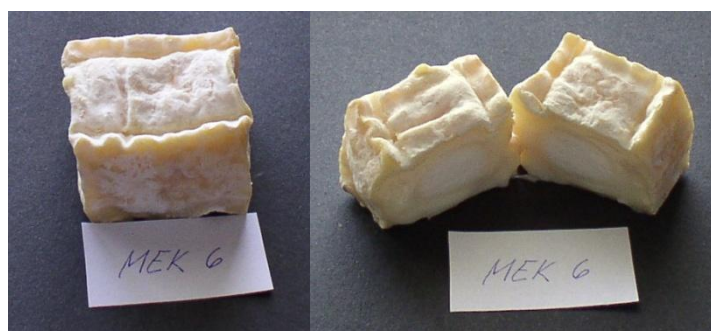
Obr. 8: Vzorek *P. nalgiovensis* M-EK-72
Bactoferm™ 8 d po výrobě.



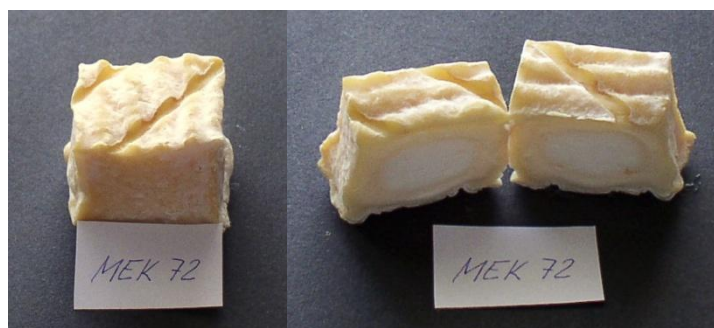
Obr. 9: Vzorek *P. camemberti* CCDM 799 15 d po výrobě.



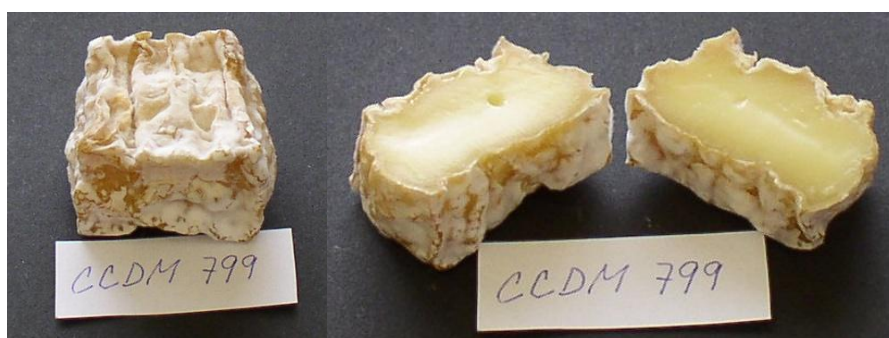
Obr. 10: Vzorek *P. nalgiovensis* M-EK-4 Bactoferm™ 15 d po výrobě.



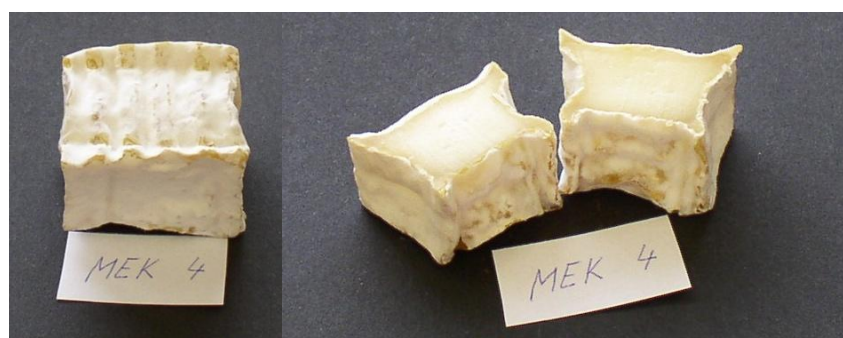
Obr. 11: Vzorek *P. nalgiovensis* M-EK-6 Bactoferm™ 15 d po výrobě.



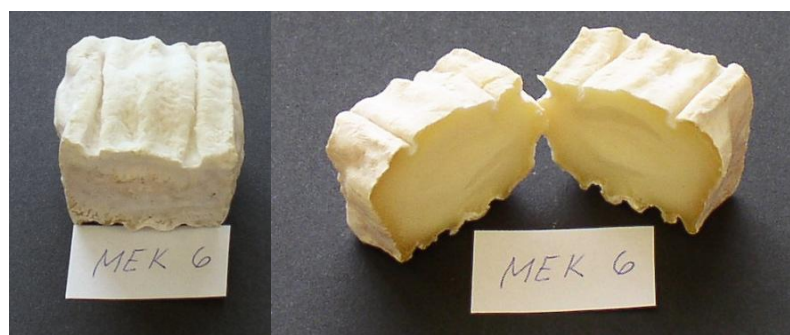
Obr. 12: Vzorek *P. nalgiovensis* M-EK-72 Bactoferm™ 15 d po výrobě.



Obr. 13: Vzorek *P. camemberti* CCDM 799 22 d po výrobě.



Obr. 14: Vzorek *P. nalgiovensis* M-EK-4 Bactoferm™ 22 d po výrobě.



Obr. 15: Vzorek *P. nalgiovensis* M-EK-6 Bactoferm™ 22 d po výrobě.



Obr. 16: Vzorek *P. nalgiovensis* M-EK-72 Bactoferm™ 22 d po výrobě.

PŘÍLOHA P II: PŘEHLED KVASINEK IZOLOVANÝCH ZE SÝRŮ ZRAJÍCÍCH OD POVRCHU

U sýrů s plísní na povrchu brzy po formování začínají objevovat kvasinky stejně jako u sýrů zrajících pod mazem a vytváří hustou vrstvou o tloušťce asi 200 μm . Po 4 až 6 dnech zrání můžeme pozorovat bílý povlak plísně *P. camemberti*, která je poté na sýrech dominantní. Nejdůležitější kvasinky izolované z plísňových sýrů, které se mohou účastnit zrání jsou: *Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus*, *Debaryomyces hansenii*, *D. catenulata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Geotrichum candidum* a *Yarrowia lipolytica*. Kvasinky se přímo i nepřímo zapojují do procesu zrání (přeměna kyseliny mléčné, tvorba zásaditých metabolitů, tvorba růstových faktorů pro bakterie, fermentace laktózy, lipolýza, proteolýza, tvorba aromatických sloučenin aj.). Metabolismus kyseliny mléčné a produkce amoniaku z deaminace aminokyselin vede k odkyselení povrchu sýra a umožňuje růst méně kyselinotolerantních, ale více proteolytických, solo-tolerantních mikroorganismů jako jsou mikrokoky, *B. linens*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium* spp. Kvasinky začnou syntetizovat značné množství kyseliny pantotenové a dalších vitamínů užitečných pro růst bakterií. Buněčné stěny kvasinek praskají při solení na povrchu sýra a uvolňují metabolity (nukleotidy, peptidy, vitaminy, atd.) a tak podporují růst některých mikroorganismů jako mikrokoky. Role kvasinek při zvyšování pH značně závisí na činnosti iminopeptidas vzhledem k tomu, že kaseiny jsou velmi bohaté na prolin (α_{s1} -CN f17-199 a β -CN f35-209), který snižuje jejich citlivost ke štěpení. Peptidy obsahující prolin mají hořkou chuť a mohou se vyskytnout během zrání. Ale dostatečné množství aktivních peptidáz hořkost snižuje. Proteinázy způsobují značnou hydrolýzu α_{s1} - a β -CN při pH 6,0. Jsou více aktivní na β -CN než na α_{s1} -CN. Hydrolýza β -CN proteázami z BMK a chymozinu je v sýru velmi limitována, pravděpodobně intramolekulárními hydrofobními interakcemi maskující vhodná místa štěpení (Fox, Fuquay, Roginski 2003, Corsetti, Rossi, Gobbetti 2001, Prillinger a kol. 1999).

Název uváděný podle autora	Zdroj izolace (autoři jsou uvedeni v závorkách)
<i>Brettanomyces anomalous</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978).
<i>Candida</i> spp.	Brie a Camembert (Nooitgedagt a Hartog, 1988); Gruyere, Beaufort (Accolas a kol., 1978).
<i>C. catenulata</i>	Australský Camembert (Roostita a Fleet, 1996); Tilsit (Eliskases-Lechner a Ginzinger, 1995b); Reblochon (Bärtschi a kol., 1994); Brick var. Limburger a Romadur (Valdés-Stauber a kol., 1997); Pont l'Eveque (Gueguen a Schmidt, 1992).
<i>C. colliculosa</i>	Reblochon (Bärtschi a kol., 1994).
<i>C. famata</i>	Australský Camembert (Roostita a Fleet, 1996); Reblochon (Bärtschi a kol., 1994); Pont l'Eveque (Gueguen a Schmidt, 1992); Taleggio (Bodini a kol., 1969).
<i>C. gropengiesseri</i>	Taleggio (Bodini a kol., 1969).
<i>C. intermedia</i>	Saint-Nectaire (Dale, 1972); Australský Camembert (Roostita a Fleet, 1996); Tilsit (Eliskases-Lechner a Ginzinger, 1995b); Brick var. Limburger a Romadur (Valdés-Stauber a koll., 1997).
<i>C. kefir</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978); Australský Camembert (Roostita a Fleet, 1996); Reblochon (Bärtschi a kol., 1994); Pont l'Eveque (Gueguen a Schmidt, 1992).
<i>C. lambica</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1980).
<i>C. lipolytica</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978); Australský Camembert (Roostita a Fleet, 1996); Reblochon (Bärtschi a kol., 1994).
<i>C. mycoderma</i>	Taleggio (Carini a Volonterio, 1969).
<i>C. polymorpha</i>	Reblochon (Bärtschi a kol., 1994).
<i>C. pseudotropicalis</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978).
<i>C. robusta</i>	Reblochon (Bärtschi a kol., 1994).
<i>C. rugosa</i>	Reblochon (Bärtschi a kol., 1994).
<i>C. sake</i>	Saint-Nectaire (Dale, 1972).
<i>C. tropicalis</i>	Australský Camembert (Roostita a Fleet, 1996).
<i>C. sphaerica</i>	Camembert (Baroiller a Schmidt, 1990); Reblochon (Bärtschi a kol., 1994).
<i>C. utilis</i>	Saint-Paulin (Ducastelle a Lenoir, 1965).
<i>C. valida</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1980).
<i>C. vini</i>	Reblochon (Bärtschi a kol., 1994).
<i>C. zeylanoides</i>	Tilsit (Eliskases-Lechner a Ginzinger, 1995b); Reblochon (Bärtschi a kol., 1994).
<i>Cryptococcus albidus</i>	Brie a Camembert (Nooitgedagt a Hartog, 1988); Australský Camembert (Roostita a Fleet, 1996).
<i>C. laurentii</i>	Reblochon (Bärtschi a kol., 1994).
<i>Debaryomyces</i> spp.	Gruyere, Beaufort (Accolas a kol., 1978).

<i>D. hansenii</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978); Saint-Nectaire (Dale, 1972; Vergeade, 1975); Brie a Camembert (Nooitgedagt a Hartog, 1988); Australský Camembert (Roostita a Fleet, 1996); Tilsit (Eliskases-Lechner, Ginzinger, 1995); Brick var. Limburger a Romadur (Valdés-Stauber a kol., 1997); Pont l'Eveque (Gueguen a Schmidt, 1992); Münster (Wyder, Puhan, 1999); Taleggio (Bodini a kol., 1969).
<i>D. kloeckeri</i>	Taleggio (Carini a Volonterio, 1969).
<i>D. subglobosus</i>	Limburger (Capriotti, 1957).
<i>Endomycopsis lipolytica</i>	Saint-Nectaire (Dale, 1972).
<i>Galactomyces geotrichum</i>	Brick var. Limburger a Romadur (Valdés-Stauber a kol., 1997); Münster (Wyder a Puhan, 1999).
<i>Geotrichum candidum</i>	Camembert (Lenoir, 1984); Saint-Nectaire, Tome de Savoie (Gripon, 1993); Brie a Camembert (Nooitgedagt a Hartog, 1988); Tilsit (Eliskases-Lechner a Ginzinger, 1995b); Limburger (Kelly, 1937); Reblochon (Bärtschi a kol., 1994); Münster (Leuschner a Hammes, 1998).
<i>Hansenula</i> spp.	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978).
<i>H. silvicola</i>	Taleggio (Bodini a kol., 1969).
<i>Kluyveromyces</i> spp.	Gruyere, Beaufort (Accolas a kol., 1978).
<i>K. bulgaricus</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978).
<i>K. fragilis</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978); Saint-Paulin (Ducastelle a Lenoir, 1965); Cantal (Millet a kol., 1974).
<i>K. lactis</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978); Cantal (Millet a kol., 1974); Saint-Nectaire (Vergeade a kol., 1976).
<i>K. marxianus</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1980); Brie a Camembert (Nooitgedagt a Hartog, 1988); Pont l'Eveque (Gueguen a Schmidt, 1992).
<i>K. marxianus</i> var. <i>lactis</i>	Camembert (Baroiller a Schmidt, 1990)
<i>K. marxianus</i> var. <i>marxianus</i>	Taleggio (Bodini a kol., 1969)
<i>Pichia</i> spp.	Cantal (Millet a kol., 1974).
<i>P. jadinii</i>	Münster (Wyder a Puhan, 1999)
<i>P. bovis</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978).
<i>P. membranaefaciens</i>	Pont l'Eveque (Gueguen a Schmidt, 1992).
<i>Rhodotorula</i> spp.	Cantal (Millet a kol., 1974); Camembert (Schmidt a Lenoir, 1980); Gruyere, Beaufort (Accolas a kol., 1978).
<i>R. incospicua</i>	Tilsit (Eliskases-Lechner a Ginzinger, 1995b).
<i>R. lactosa</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978).
<i>R. minuta</i>	Tilsit (Eliskases-Lechner a Ginzinger, 1995b).
<i>R. mucilaginosa</i>	Taleggio (Carini a Volonterio, 1969); Brie a Camembert (Nooitgedagt a Hartog, 1988).
<i>Saccharomyces bailii</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978).
<i>S. cerevisiae</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978); Saint-Paulin (Ducastelle a Lenoir, 1965); Australský Camembert (Roostita a Fleet, 1996).
<i>S. dairensis</i>	Reblochon (Bärtschi a kol., 1994).
<i>S. italicus</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978).

<i>S. rouxii</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978).
<i>S. unisporus</i>	Brie a Camembert (Nooitgedagt a Hartog, 1988).
<i>Sterigmatomyces nectairii</i>	Saint-Nectaire (Dale, 1972).
<i>Torula</i> spp.	Camembert (Guittonneau a kol., 1939).
<i>Torulaspota delbrueckii</i>	Brie a Camembert (Nooitgedagt a Hartog, 1988); Tilsit (Eliskases-Lechner a Ginzinger, 1995b); Brick var. Limburger (Valdés-Stauber a kol., 1997); Taleggio (Bodini a kol., 1969).
<i>Torulopsis bovina</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1980).
<i>T. candida</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978); Taleggio (Carini a Volonterio, 1969); Saint-Nectaire (Vergeade a kol., 1976).
<i>T. dattila</i>	Taleggio (Carini a Volonterio, 1969).
<i>T. holmii</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978); Taleggio (Carini a Volonterio, 1969).
<i>T. mogii</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978).
<i>T. pinus</i>	Taleggio (Carini a Volonterio, 1969).
<i>T. sphaerica</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978); Saint-Nectaire (Dale, 1972; Vergeade a kol., 1976); Cantal (Millet a kol., 1974); Taleggio (Carini a Volonterio, 1969).
<i>T. versatilis</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1978).
<i>Trichosporon beigelii</i>	Brie a Camembert (Nooitgedagt a Hartog, 1988); Tilsit (Eliskases-Lechner a Ginzinger, 1995b); Brick var. Romadur (Valdés-Stauber a kol., 1997).
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Brie a Camembert (Nooitgedagt a Hartog, 1988); Saint-Nectaire (Marcellino a Benson, 1992); Tilsit (Eliskases-Lechner a Ginzinger, 1995b); Brick var. Limburger a Romadur (Valdés-Stauber a kol., 1997); Münster (Wyder a Puhan, 1999).
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Brie a Camembert (Nooitgedagt a Hartog, 1988).
<i>Z. rouxii</i>	Camembert (Schmidt a Lenoir, 1980).