

# **Texturní a mikrobiální změny ve vybraných částech eidamské cihly v průběhu jejího zrání**

Bc. Lenka Nenutilová

---

Diplomová práce  
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky  
akademický rok: 2010/2011

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Lenka NENUTILOVÁ**  
Osobní číslo: **T09583**  
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie a ekonomika výroby tuků, detergentů  
a kosmetiky**

Téma práce: **Texturní a mikrobiální změny ve vybraných částech  
eidamské cihly v průběhu jejího zrání**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. Popis technologie výroby sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou.
2. Změny jakostních parametrů v průběhu zrání sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou.

### II. Praktická část

1. Založte zrací pokus a sledujte změny jakosti eidamských sýrů.
2. Zjistěte změny obsahu vybraných skupin mikroorganismů (celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, koliformní bakterie a bakterie mléčného kvašení).
3. Charakterizujte změny vybraných texturních parametrů testovaných vzorků během zrání.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] FOX, P.F., McSWEENEY, P.L.H.: Dairy Chemistry and Biochemistry, SpringeVelag, 1998, ISBN 978-0-412-72000-0.

[2] KADLEC, P a kolektiv: Technologie potravin II., Vydavatelství VŠCHT, Praha, 2007, ISBN 80-7080-510-2.

[3] FOX, P.F.: Fundamentals of cheese science, Gaithersburg, Maryland : Aspen, 2000, ISBN 978-0-8342-1260-2.

[4] FOX, P.F., McSWEENEY, P.L.H., COGAN, T.M., GUINEE, T.P.: Cheese – Chemistry, Physics and Microbiology, London: Champan & Hall.

Vedoucí diplomové práce:

**doc. Ing. František Buňka, Ph.D.**

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

**25. února 2011**

Termín odevzdání diplomové práce:

**20. května 2011**

Ve Zlíně dne 25. února 2011

doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
*děkan*



doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: Nenutilová Lenka

Obor: CHTP

## 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 <sup>1)</sup>;
- 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 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> 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 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, 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. 2011

Nenutilová Lenka

<sup>1)</sup> 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.

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

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

<sup>3)</sup> 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 výtěžku 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 přihlídí k výši výtěžku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Teoretická část práce je zaměřena na technologii výroby sýrů eidamského typu, na změny jakostních parametrů probíhajících v průběhu zrání sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou a na vývoj mikroorganismů v průběhu výroby a zrání sýrů.

Praktická část se zabývá zracím pokusem, který simuloval zrání eidamských sýrů za 2 odlišných zracích, resp. skladovacích podmínek. Byla provedena mikrobiologická analýza, která byla zaměřena na změny obsahu vybraných skupin mikroorganismů (celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, koliformní bakterie a bakterie mléčného kvašení) v jednotlivých částech eidamské cihly v průběhu 126denního zrání při 2 odlišných teplotách (4 °C a 10 °C). Dále byly studovány texturní změny eidamských sýrů v jednotlivých částech sýru v průběhu 126denního zrání při teplotě obvyklé pro zrání tohoto typu sýru (10 °C).

Pomocí mikrobiologické analýzy bylo zjištěno, že rozdílná teplota nemá výrazný vliv na trendy změn obsahu vybraných skupin mikroorganismů, pouze při vyšší teplotě tyto změny nastávají dříve. Při hodnocení vybraných texturních parametrů bylo zjištěno, že ani po 126 dnech zrání nedojde k úplnému vyrovnání texturních parametrů. Povrchové vrstvy po celou dobu zracího pokusu vykazovaly vyšší hodnoty tvrdosti, a to ve všech 3 testovaných plátech.

**Klíčová slova:** eidam, zrání sýrů, mikroorganismy, textura sýrů

## **ABSTRACT**

The theoretical part was focused on the technology of production of Edam cheese, the changes in quality parameters during ripening Edam cheese and development of microorganisms during manufacture and ripening of cheese.

The practical part deals with simulating of Edam cheese ripening in 2 different ripening and storage conditions. Microbiological analysis was performed. Selected groups of microorganisms (total mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms, coliform bacteria and lactic acid bacteria) in different parts of Edam cheese block during the 126day ripening at two different temperatures (4 °C a 10 °C were studied). Textural changes of Edam cheese were also observed.

Different conditions of ripening or storage have no influence on trend of changes of the contents of selected groups of microorganisms. At higher temperature, the changes occur earlier. Differences in textural parameters of individual parts of cheese block were observed even after 126days of ripening. The hardness of edge layers was higher than the other parts of cheese block during the whole experiment (126 days).

Keywords: Edam, cheese ripening, microorganisms, cheese texture

Děkuji vedoucímu své diplomové práce, doc. Ing. Františku Buňkovi, Ph.D., za odborné vedení, trpělivost, podnětné připomínky a cenné rady, které mi poskytl při zpracování mé diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala Ing. Vendule Pachlové, doc. RNDr. Leoně Buňkové, Ph.D. a Olze Haukové.

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

Ve Zlíně .....

.....



# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>11</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>12</b>
<b>1 SÝRY</b> .....	<b>13</b>
1.1    TECHNOLOGIE VÝROBY SÝRŮ EIDAMSKÉHO TYPU .....	14
1.1.1    Úprava mléka před zpracováním.....	15
1.1.2    Přídavek kyselých kultur .....	17
1.1.3    Sýření mléka.....	17
1.1.4    Zpracování sýřeniny .....	18
1.1.5    Formování a lisování sýrů .....	20
1.1.6    Solení sýrů.....	21
<b>2 ZRÁNÍ SÝRŮ</b> .....	<b>23</b>
2.1    ZRACÍ SKLEPY .....	25
2.2    REAKCE A PROCESY V PRŮBĚHU ZRÁNÍ SÝRŮ .....	27
2.2.1    Metabolismus laktózy .....	27
2.2.2    Metabolismus laktátu .....	28
2.2.3    Metabolismus citrátů.....	29
2.2.4    Lipolýza.....	30
2.2.5    Metabolismus volných mastných kyselin .....	31
2.2.6    Proteolýza.....	33
2.2.7    Metabolismus aminokyselin .....	35
2.3    VÝVOJ MIKROORGANISMŮ BĚHEM VÝROBY A ZRÁNÍ.....	37
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>41</b>
<b>3 CÍL PRÁCE</b> .....	<b>42</b>
<b>4 MATERIÁL A METODY</b> .....	<b>43</b>
4.1    VÝROBA EIDAMSKÉ CIHLY.....	43
4.2    SCHÉMA POKUSU .....	43
4.3    MIKROBIOLOGICKÁ ANALÝZA .....	45
4.4    HODNOCENÍ TEXTURY .....	45
<b>5 VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>48</b>
5.1    VÝSLEDKY MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZY .....	48
5.1.1    Výsledky stanovení celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů.....	48
5.1.2    Výsledky stanovení koliformních bakterií .....	50
5.1.3    Výsledky stanovení bakterií mléčného kvašení .....	51
5.2    VÝSLEDKY TEXTURNÍ ANALÝZY .....	52
5.3    DISKUZE.....	63
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>66</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>68</b>

<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>73</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>74</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>75</b>
<b>SEZNAM GRAFŮ.....</b>	<b>76</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>77</b>

## ÚVOD

Sýry představují velkou a relativně různorodou skupinu mléčných výrobků. Sýry jsou významným zdrojem vitaminů, minerálních látek a jemně rozptýlených bílkovin, což umožňuje jejich lehkou stravitelnost.

Výroba sýrů je řazena mezi nejstarší odvětví zpracování mléka, která patří právem mezi nejnáročnější. Principiálně se jedná o koncentraci mléčných bílkovin, které jsou společně s minerálními látkami a tukem, nejdůležitějšími složkami sušiny sýrů.

Sýry během zrání podstupují významné změny, ať už se jedná o primární (metabolismus laktózy, laktátu a citrátu, lipolýza a proteolýza) či sekundární (metabolismus volných mastných kyselin a volných aminokyselin) biochemické děje. Doba a podmínky během zrání se liší typem sýru. Různé podmínky zrání (vlhkost prostředí, teplota a doba zrání) mohou způsobit změnu texturních vlastností sýru. Během zrání se nevyvíjí pouze výsledné aroma sýru, ale i jeho texturní vlastnosti.

Mikroflóra sýru je ovlivněna mnoha faktory, jako je vlhkost, vodní aktivita ( $a_w$ ), redoxní potenciál, aerobní nebo anaerobní podmínky, pH, kyselost a koncentrace soli. Mikrobiální kontaminace tvrdých a polotvrdých sýrů je poněkud omezena kvůli relativně nízké vlhkosti a hodnotě pH. [52] Nejčastější mikroorganismy v sýru jsou bakterie mléčného kvašení (LAB), jejichž primární funkce je produkce kyseliny mléčné v průběhu výroby sýrů na snížení pH mléka na požadovanou úroveň, ale přispívají také ke zrání sýrů prostřednictvím svého metabolismu [17].

Teoretická část diplomové práce je zaměřena na technologii sýrů eidamského typu (první kapitola), na zrání sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou, na reakce a procesy probíhající v průběhu zrání a na vývoj mikroorganismů během výroby a zrání eidamských sýrů (druhá kapitola). Ve třetí kapitole je uveden cíl diplomové práce.

V praktické části je popsána metodika práce a schéma pokusu (čtvrtá kapitola), ve kterém byly srovnány 2 rozdílné zrací podmínky téže šarže vyrobených eidamských cihel. Eidamské cihly pro texturní analýzu byly po celou dobu zrání (126 dnů) uskladněny ve zracím sklepě ( $10 \pm 2$  °C). Část vzorků sýrů pro mikrobiologickou analýzu byla taktéž po celou dobu zrání uskladněna ve zracím sklepě a část byla 34. den přemístěna do lednice ( $4 \pm 2$  °C) a v ní skladována až do 126. dne. V poslední, páté, kapitole jsou uvedeny vlastní výsledky stanovení mikrobiologické a texturní analýzy a stručná diskuze výsledků.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 SÝRY

Sýry představují velkou a relativně různorodou skupinu mléčných výrobků [4] a patří k nejhodnotnějším potravinám z pohledu svého složení [3]. Komoditní vyhláška 77/2003 Sb. pro mléko a mléčné výrobky v platném znění definuje sýry jako mléčné výrobky vyrobené srážením mléčné bílkoviny z mléka působením syřidla nebo jiných koagulačních činidel, prokysáním a oddělením podílu syrovátky [1].

Hlavním důvodem zpracování mléka na sýry je především prodloužení trvanlivosti. Toto prodloužení je zapříčiněno fermentací laktózy na kyselinu mléčnou, dále snížením vodní aktivity a pH [4].

Velká rozmanitost sýrů umožňuje dělit sýry podle následujících kritérií:

1. podle původu rozlišujeme sýry přírodní (výchozí surovinou je přímo mléko), přepracované (surovinou je vyrobený přírodní sýr), syrovátkové (výchozí surovinou je syrovátka) a analogy sýrů (jsou připravovány rekonstitucí jednotlivých složek mléka, nebo sýry, v nichž je tuk nahrazen rostlinnými tuky),
2. podle způsobu srážení rozlišujeme sýry sladké (koagulace mléčné bílkoviny se docílí použitím syřidla - proteáza živočišného, rostlinného nebo mikrobiálního původu, která má schopnost definovaným způsobem štěpit kasein, vzniklý koagulát se nazývá syřenina), kyselé (koagulace mléčné bílkoviny se docílí změnou pH - biochemickým rozkladem laktózy nebo přímým přidávkem kyselin) a sýry se smíšeným způsobem srážení,
3. podle druhu použitého mléka rozlišujeme sýry z kravského mléka, z ovčího mléka, z kozího mléka, z mléka ostatních savců (např. buvolí) a z mléka směsného,
4. podle obsahu tuku v sušině rozlišujeme sýry vysokotučné (více než 60,0% včetně), plnotučné (více než 45,0 % včetně), polotučné (více než 25,0 % včetně), nízkotučné (více než 10,0 % včetně) a odtučněné (méně než 10,0 %),
5. podle konzistence ve vztahu k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra rozlišujeme sýry extra tvrdé (obsah vody max. 47,0 %), tvrdé (obsah vody nad 47,0 do 54,9%), polotvrdé (obsah vody 55,0 - 61,9 %), poloměkké (obsah vody 62,0 - 68,0 %) a měkké (obsah vody více než 68,0 %) [2, 3].

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

$$\% VVTPH = \frac{g(\text{vody})}{100 - g(\text{tuku})} \cdot 100 \quad [1]$$

Měkké sýry jsou dále děleny dle způsobu zrání (viz. příloha I). Polotvrdé a tvrdé sýry jsou dále děleny dle výše dohřívací teploty při jejich výrobě (viz. příloha II).

### 1.1 Technologie výroby sýrů eidamského typu

Sýry eidamského typu mají původ v Holandsku. Již od 14. století se v okolí města Edam vyráběly sýry, které byly v jiných regionech napodobovány a označovány jako eidamské sýry. Z pohledu systematiky sýrů se tato skupina dělí na sýry nalévané a lisované a dále sýry tvořící a netvořící pravá oka [2].

Během technologického postupu dochází k regulaci mikroflóry, vlhkosti, pH a obsahu soli, což určuje typickou chuť, vůni a konzistenci všech druhů sýrů [50].

Základním předpokladem výroby sýrů je syrové mléko standardní kvality [7] a to nejen z pohledu fyzikálně-chemických parametrů, ale hlavně z pohledu sensorických vlastností finálního produktu [2]. Mléko ve vemeni zdravých zvířat je v podstatě sterilní, během dojení a skladování však může dojít ke kontaminaci. Mléko získané z vemene zdravé dojnice za hygienických podmínek obsahuje méně než  $5 \cdot 10^3$  CFU.ml<sup>-1</sup>. Rychlost a stupeň chlazení mléka má významný dopad na mikrobiální mikroflóru [17]. Mléko zchlazené dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady č.853/2004 o zvláštních hygienických pravidlech pro potraviny živočišného původu v platném znění na 8 °C při denním svozu nebo 6 °C [56] při obdenním svozu zpomalí růst většiny mikroorganismů, ale psychrotrofní bakterie (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus weihensiensis*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter* apod.) i nadále pomalu rostou [17]. V České republice je to mléko kravské, čtené druhy sýrů se vyrábějí také z mléka ovčímho nebo mléka kozího, ale i z mléka buvolího a mléka dalších zvířat [7].

Kromě složení mléka jsou neméně důležité i další parametry jako jsou např. schopnost růstu kulturních mikroorganismů záměrně přidávaných během technologie s cílem ovlivnit biochemické procesy, obsah rozpustných vápenatých iontů, ale i složení mikroflóry syrového mléka, zdravotní stav dojnic a úroveň hygieny a sanitace při vlastní výrobě [2].

Při hodnocení suroviny pro výrobu sýrů se hodnotí znaky:

- fyzikálně-chemické (obsah tuku, tukuprosté sušiny, obsah bílkovin),
- mikrobiální (celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, koliformní bakterie, sporotvorné bakterie), účinnost pasterace,

- důležitou vlastností je sýřitelnost (schopnost mléčných bílkovin srážet se účinkem syřidla za vzniku sýřeniny) [2].

### 1.1.1 Úprava mléka před zpracováním

Po příjmu mléka jsou případné mechanické nečistoty odstraněny filtrací nebo centrifugací. Další operace, jako termizace, pasterace, baktofugace, mikrofiltrace, přidavek dusičnanu draselného, lysozymu a jiných antibakteriálních látek, ovlivňují mikroflóru a enzymy přítomné v syrovém mléce.

Termizace redukuje nežádoucí změny mléka při skladování za chladu, ale při výrobě sýrů eidamského typu se nepoužívá, jelikož teplota (57 až 68 °C) a doba (minimálně 15 minut) jsou z hlediska zdravotní nezávadnosti nedostačující [2, 8].

Pasterace zajišťuje z mikrobiologického hlediska zdravotní nezávadnost sýrů, dále minimalizuje chemické a senzorické změny, pokud nejsou požadovány. Pro výrobu sýrů se nejčastěji používá šetrná pasterace (72-73 °C s expozicí 15-20 s) [2, 36]. Důsledkem pasterace je kromě odstranění technologicky nežádoucí mikroflóry mléka (patogenní mikroorganismy), včetně nativních a mikrobiálních enzymů, tak i běžné mikroflóry, především indukce spór sporulujících mikroorganismů, které jsou růstově preferovány vlivem často ne dostatečně nízké teploty během skladování, popřípadě transportu při jeho předispozicích [2, 24, 50]. Pasterací se zničí 99,9 % mikroorganismů syrového mléka. Nicméně, spóry rodů *Bacillus* spp. a *Clostridium* spp. a mikroorganismy jako např. *Microbacterium*, *Enterococcus* a *Micrococcus* mohou pasterační záhřev přežít [17]. Vyšší pasterační záhřevy způsobují denaturaci sérových bílkovin, které neodchází do syrovátky, což zvyšuje výtěžnost u tvarohů, ale také ovlivňuje zvýšenou vazbou vodné fáze snižování sušiny finálního produktu. Výroba sýrů ze syrového mléka je mnohem více rozšířena v mlékařsky vyspělých zemích s tradiční výrobou jako je např. Francie, u nás se syrové mléko k výrobě sýrů téměř nepoužívá [2, 8], veterinární předpisy to však umožňují, pokud sýr bude dlouhodobě zrát (déle jak 60 dní dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu) [2, 8, 56]. Tepelné ošetření mléka lze kombinovat s netepelným způsobem ošetření – baktofugací nebo membránovými procesy [2].

Spóry *Clostridium tyrobutyricum* jsou redukovány baktofugací o 95 – 97 % nebo mikrofiltrací až o 99,5 %. Baktofugace se používá k odstranění bakterií, především jejich spór, po-

mocí odstředivé síly, poté se používá i šetrná pasterace k inaktivaci nativních enzymů. Teplota při baktofugaci mléka se pohybuje v rozmezí 55 až 60 °C [8, 15, 36]. Mikrofiltrace zachytí bakterie a velké makromolekuly či jejich shluky. Je především používána k redukci počtu bakterií v odstředěném mléku [14]. Při mikrofiltraci se používají filtry s póry 0,8 – 1,4 µm, teplota 50 °C a tlak < 0,2 MPa [36, 55].

Každý sýr je charakterizován určitou hodnotou tuku v sušině (tvs), proto se v průběhu tepelného ošetření provádí také standardizace mléka. Obsah bílkovin a tuku v mléce není v průběhu roku stálý a jejich poměr se musí při standardizaci zohlednit, aby bylo dosaženo požadovaného obsahu tvs. Nejvyšší obsah bílkovin má mléko v podzimním období, to znamená, že i sýřené mléko musí mít v tomto období nejvyšší tučnost. Homogenizace je vhodná pro výrobu některých čerstvých sýrů. Obvykle se také homogenizuje smetana pro standardizaci mléka pro výrobu sýrů, u kterých je žádoucí lipolýza v průběhu zrání, např. u sýrů s plísni v těstě. Homogenizace mléčného tuku má vliv na jeho dokonalé rozptýlení a současně na snížení rychlosti vyvstávání. Homogenizací se také zvyšuje styčná plocha s lipázami, což může urychlovat lipolytické procesy (ty jsou až na výjimky nežádoucí). Homogenizací však dochází i k rozbíjení kaseinových micel s následným zhoršením syřitelnosti (proto je vhodná oddělená homogenizace tuku) [2, 8]. Při výrobě sýrů eidamského typu se homogenizace nepoužívá z toho důvodu, že kaseinové micely se váží na obal tukových kuliček a tím se snižuje syneréze koagulátu [37].

Do sýrařského mléka se přidávají technologicky důležité přísady. Přídavek chloridu vápenatého zlepšuje syřitelnost a zvyšuje pevnost vzniklého gelu, do určité míry snižuje přirozenou variabilitu v syřitelnosti. Obvyklá dávka CaCl<sub>2</sub> je v rozmezí 5 – 20 g na 100 kg mléka zpravidla ve formě nasyceného roztoku. Dusičnan draselný (15 g na 100 kg mléka) se přidává do mléka pro výrobu sýrů – zejména u sýrů s nižší kyselostí, aby se omezilo jejich duření, způsobené činností koliformních bakterií a bakterií máselného kvašení. Vysoké dávky KNO<sub>3</sub> mohou brzdit činnost i zákysových kultur, po redukci na dusitany mohou reagovat např. s tyrosinem za vzniku barevných vad, existuje také riziko tvorby nitrosaminů. Z těchto důvodů je snaha použít dusičnanu maximálně omezit. Přídavek KNO<sub>3</sub> se stále častěji nahrazuje jinými preparáty (např. na bázi antibiotika nisinu nebo lysozymu způsobujícího rozklad buněčné stěny nežádoucích mikroorganismů), nebo využíváním baktofugace. Zlepšení barvy sýrů lze dosáhnout pomocí některých barviv, jako je annato (extrakt z keře *Bixa oreghana*), bixin, norbixin, karoteny a další [2, 8].



### 1.1.2 Přídavek zákysových kultur

Tepelným ošetřením mléka dochází ke zničení nejen „škodlivé“, ale i „užitečné“ mikroflóry, která má nezastupitelný technologický význam, proto je nutné znovuosídlit mléko „kulturními“ mikroorganismy [2].

V sýrařství jsou používány primární kultury a sekundární kultury.

Primární kultury, respektive základní kultury, zajišťují prokysávání mléka i sýrů, dále uvolňují enzymy, které se podílejí na tvorbě aroma. Tyto kultury svou biochemickou aktivitu zahajují před koagulací mléka. Z mezofilních kultur (teplota dohřívání nižší než 40 °C), používaných zejména do smetanového zákysu, se uplatňují *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* či *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, všechny produkují především L(+) kyselinu mléčnou z laktózy. Kromě toho *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* produkuje sensoricky aktivní látky, hlavně diacetyl a CO<sub>2</sub>. Termofilní kultury (teplota dohřívání 45 – 54 °C) jsou využívány při výrobě sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou, např. *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

Sekundární kultury (doplňkové) jsou používány k vytvoření typických sensorických znaků a daného druhu sýru. Mezi tyto kultury patří například:

- tvrdé a polotvrdé sýry – *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*,
- sýry ementálského typu – *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii*, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*,
- sýry s mazem na povrchu – *Brevibacterium linens*,
- sýry s plísní na povrchu – *Penicillium camemberti*,
- sýry s plísní v těstě – *Penicillium roqueforti* [3, 9, 12, 50, 53].

### 1.1.3 Sýření mléka

Sýření je technologická operace, při které je vytvořen bílkovinný gel, polotuhý koagulát – sýřenina, která vytváří trojrozměrnou síť. Ke srážení mléka může dojít buď pomocí kyseliny mléčné, nebo působením syřidla. Kyselé srážení kaseinu probíhá optimálně při pH 4,2 – 4,6 (což odpovídá izoelektrickému bodu kaseinu) a teplotě 30 – 40 °C [6].

Podstatou sladkého srážení mléka je působení proteolytických enzymů na strukturu kaseinu s následným propojováním „vápníkovými můstky“ na útvary s vysokou molekulovou hmotností, které vypadávají z roztoku. Syřidlové enzymy působí na kasein ve třech fázích:

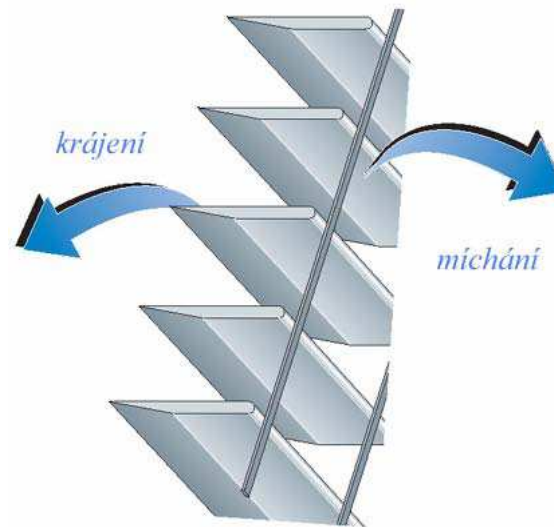
- primární (enzymová nebo destabilizační) fáze – štěpení specifické peptidové vazby v  $\kappa$ -kaseinu (mezi 105. a 106. aminokyselinou, čili mezi fenylalaninem a metioninem), ze kterého tak vznikne para- $\kappa$ -kasein (zůstává v koagulátu) a  $\kappa$ -kaseinmakropeptid (odchází do syrovátky). Podmínkou je nutná přítomnost enzymů, teplota 0 až 60 °C a  $\text{pH} < 7$ .
- sekundární (koagulační) fáze – tvorba trojrozměrného gelu vyplněného syrovátkou, vlivem smršťování koagulátu se uvolňuje syrovátka (syneréze). Nezbytnou podmínkou je teplota vyšší než 6 °C (optimálně 37 °C), přítomnost  $\text{Ca}^{2+}$  iontů a koagulace vyžaduje klid.
- terciární fáze - je další působení proteolytických enzymů během následného zpracování koagulátu až do doby zrání sýrů i v průběhu zrání sýrů; vzhledem k tomu, že zrání sýrů požadovaným směrem má ovlivňovat především mikroflóra specifická pro daný druh sýra, je toto působení syřidlových enzymů nežádoucí (štěpení i  $\alpha$ - a  $\beta$ -kaseinů, což má za následek vznik hořkých peptidů) [2, 9].

Teploty používané pro srážení mléka při výrobě Eidamu se pohybují v rozmezí 30 až 32 °C. Tyto teploty usnadňují růst většiny mikroorganismů [17].

#### 1.1.4 Zpracování sýřenin

Zpracování sýřeniny slouží k vytvoření sýrových zrn ( $1 - 2 \text{ cm}^3$ ) [50] a k oddělení potřebného množství syrovátky ze struktury gelu. Zpracování sýřeniny se zahajuje krájením v okamžiku, kdy je dosažena požadovaná tuhost gelu. Při této operaci trvajícím přibližně 20 minut vzniká sýrové zrno, tj. částice o velikosti 3 – 15 mm. Krájení je prováděno mechanicky pomocí „sýrařské harfy“ (obrázek 1), což jsou kovové rámy vyplněné svislými a podélnými kovovými noži (z jedné strany tupé, z druhé ostré) [2, 8].

Zrno se dále míchá v uvolněné syrovátce. Míchání, zejména na počátku musí být šetrné, protože zrno je v této fázi křehké a je nebezpečí jeho rozbití na jemné částice, tzv. sýrový prach, který není zadržen v sýru a zvyšují se tak ztráty do syrovátky. Současně však nesmí docházet k sedimentaci a slepování zrna [8].



Obrázek 1: Sýrařská harfa umožňující krájení nebo míchání [2]

U polotvrdých a tvrdých sýrů jsou zařazeny ještě operace dohřívání a dosoušení. V průběhu dohřívání se zvyšuje teplota z teploty sýření na teplotu dosoušení, které představuje výdrž při této teplotě. U nízkodohříváných sýrů s obsahem tvs 30 % je teplota dosoušení 36 – 37 °C, teplota 39 – 40 °C je vhodná pro sýry se 45 % tvs, u vysokodohříváných sýrů se dohřívá na 48 – 56 °C. Sýry s nižším obsahem tuku vyžadují nižší teploty a kratší dobu zpracování [8]. Teploty dosažené během dohřívání a dosoušení jsou schopny inhibovat růst většiny mikroorganismů [17].

U některých typů sýrů (gouda, eidam) se provádí tzv. praní sýrového zrna, při kterém se snižuje obsah laktózy a reguluje průběh prokysávání, současně se sýřenina dohřívá, protože k praní se používá teplá voda. Obvykle se nejprve odpustí 35 % syrovátky a přidá se 50 – 80 % jejího objemu vody teplé 50 – 60 °C [2, 8]. Teplota prací vody ovlivňuje průběh syneréze. Uvolnění syrovátky podporuje také snížení pasteračního záhřevu, zvyšování obsahu vápenatých solí, vyšší sýřící teplota, vyšší dávka syřidla, rychlejší kysání, zpracování na menší zrno, míchání zrna, zvýšení dosoušecí teploty a zvýšení počtu obrácení sýrů [39]. Díky snížené koncentraci laktózy klesne pH pouze na hodnotu 5,2 – 5,4, jinak by pokles pokračoval až na 4,6 – 4,8. Odčerpávání syrovátky musí být dostatečně rychlé (5 – 6 minut), protože se provádí bez míchání a mohlo by dojít ke slepování zrna. Kromě přídavku horké prací vody se může dohřívát přes plášť výrobce nebo se oba způsoby kombinují.

Během dohřívání a dosoušení pokračuje míchání zrna v syrovátce. Doba těchto operací je závislá na požadované sušině a průběhu prokysávání.

Operace při zpracování sýřeniny podporují její synerézi, tj. smršťování a uvolňování syrovátky. Mechanické zpracování zkrátí dráhu, kterou musí syrovátka proniknout gelem, a zvětší se též plocha, kterou prochází. Zvýšená teplota podporuje uvolnění vody z některých vazeb, které tvoří síť gelu, a vytvoření nových četnějších vazeb s těsnějším uspořádáním výsledné struktury. Synerézi dále ovlivňuje pasterační záhřev, pH, obsah  $\text{Ca}^{2+}$  iontů a koncentrace mléka, např. ultrafiltrací [2, 3, 8].

### 1.1.5 Formování a lisování sýrů

Formování sýrů odpovídá požadovanému typu a tvaru sýra. Během tvarování probíhají mechanické procesy (např. uvolňování syrovátky, slepování zrn, vytváření pokožky) a pokračují i přeměny biochemického charakteru (např. prokysávání). K tvarování se používají speciální tvořítka (plastová či kovová). K dobrému odvodu syrovátky jsou opatřeny perforací, která nahrazuje dříve používané textilní syrníky nebo plastové tvarované proložky mezi hmotou sýra a nepropustným povrchem tvořítka. Do těchto tvořitek se sýřenina nalévá buď společně se syrovátkou anebo po odtoku syrovátky mimo tvořítka, ale zrno přitom nesmí oschnout [2, 8].

Podle tlaku, který působí na sýr během tvarování, rozeznáváme:

- odkapávání – probíhá za atmosférického tlaku. Je používáno u sýrů s nižší sušinou, které nemají celistvou konzistenci, ale ve struktuře mají různě velké dutinky. Pokračují i biochemické procesy, hlavně intenzivní prokysávání. Je nutné zajistit optimální podmínky (teplota 18 – 24 °C, relativní vlhkost 75 – 95 %, doba 0,5 – 12 hodin a opakované obracení, jehož důsledkem je rovnoměrný odvod syrovátky a pravidelný tvar) [2].
- lisování – probíhá za tlaku vyššího, než je tlak atmosférický. Vyšší síla působící na zrno způsobí jeho větší odvodnění (spojeno s nižším obsahem laktózy a tím i nižší kyselostí), těsnější spojení jednotlivých zrn, pravidelnější tvar a tvorbu uzavřené a pevné pokožky na povrch. Podle toho, jakým způsobem je na sýr vyvíjena lisovací síla, rozdělují se lisy na mechanické (jednopákové nebo dvoupákové), hydraulické a pneumatické (pístové nebo membránové). Hlavní zásady lisování jsou přiměřenost,

postupné zvyšování tlaku a rovnoměrnost tlaku. Procesy, které při lisování probíhají, jsou až na rychlost prokysávání, intenzivnější, než u sýrů odkapávaných [2].

### 1.1.6 Solení sýrů

Solení sýrů je nezbytná operace všech druhů tvarovaných a zrajících sýrů. Solení zpevňuje povrch sýra, reguluje obsah vody v těstě sýra, což má návaznost na konzistenci těsta a mikroflóru (inhibice růstu mikroorganismů během skladování), průběh kysání a zrání [3, 17, 50], ovlivňuje aktivitu kultur a enzymů při zrání sýrů. Obsah soli u sýrů eidamského typu je mezi 1,5 a 2,5 %. Sůl proniká do sýra difúzí, osmotické jevy se uplatňují na povrchu sýrových zrn [8].

Sýry se mohou solit následujícími způsoby:

- solení do zrna – přímé přidání a míchání suché soli do rozkrájené nebo pomleté sýřeniny na konci zpracování před formováním,
- solení na sucho – suchá sůl nebo kaše se roztírá na povrch vyformovaných sýrů,
- solení v solné lázni – tímto způsobem se u nás solí většina sýrů. Koncentrace solné lázně se pohybuje nejčastěji v rozmezí 18 – 22 %, její pH je 5,2 pro tvrdé sýry, 4,8 – 5,0 pro měkké sýry. Žádoucí je i obsah vápníku (0,1 – 0,2 %). Teplota solení je většinou mezi 10 a 14 °C, doba solení je závislá na velikosti a tvaru sýra a na požadovaném obsahu soli. Sýry by měly být při vkládání do solné lázně dobře prokysané, tj. u tvrdých a polotvrdých sýrů na pH kolem 5,9. Sýry s vysokým pH absorbují méně soli, sýry budou příliš měkké; u sýrů s nízkým pH bude konzistence naopak tuhá a křehká [8]. Při solení sýrů se uplatňují především osmoticko-difúzní procesy. Vlivem difúze pronikají na povrchu přes pokožku sýra a drobnými kanálky mezi splenými zrny látky z roztoku. Rychlost tohoto procesu je závislá na koncentračním spádu, který je na začátku solení nejvyšší. V opačném směru ze sýra uniká zbytek laktózy, kyselina mléčná a další rozpustné látky. Sůl při solení prostupuje od povrchu do středu sýra. Nejvíce NaCl obsahuje pokožka a hmota pod povrchem sýra (tzv. solný prstenec), pod ním jsou pásma s nižším obsahem soli (solné pásmo a výměnné pásmo). Obsah soli ve středu sýra je minimální. K vyrovnání obsahu soli dochází až v průběhu zrání po přeměně jednotlivých zrn v celistvou hmotu [2]. Průmyslové solanky se většinou používají opakovaně a jsou zřídka pasterizované,

ale používá se u nich filtrace. Zatímco relativně vysoký obsah NaCl inhibuje růst většiny mikroorganismů, vyplavování proteinů a jejich dusíkatých sloučenin ze sýra do slané lázně může zvýšit přežití některých mikroorganismů (např. *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Debaromyces hansenii*, *Candida versatilis* apod.). Přítomnost těchto mikrobů v nálevu přispívá k povrchovému rozvoji mikroflóry sýru, ale je nepravděpodobné, že by tyto mikroby pronikly dovnitř sýru [17].

V další fázi dochází ke zrání sýrů (blíže charakterizováno v kapitole 2), balení a expedici. Schéma výroby sýrů eidamského typu je znázorněno v příloze III.

## 2 ZRÁNÍ SÝRŮ

S výjimkou nezrajících sýrů, které se konzumují v čerstvém stavu, procházejí všechny sýry procesem zrání. Zrání představuje komplexní souhrn změn způsobených syřidlovými enzymy, nativními enzymy (zejména u sýrů ze syrového mléka), enzymatickou činností kultur a působením enzymů po lyzi jejich buněk, případně činností nezákysových kultur, při kterých sýr získává typický vzhled, konzistenci, chuť, vůni a složení. Primárními reakcemi jsou metabolismus laktózy, proteolýza a lipolýza [8]. Probíhají i sekundární reakce – např. metabolismus volných mastných kyselin či metabolismus volných aminokyselin [16].

K typicky fyzikálním změnám patří např. vyrovnávání obsahu NaCl, ale také změna barvy (původně bílá až mírně krémová barva se mění podle druhu sýra na barvu slámovou až světle hnědou – sýry parmezánského typu). Mezi typické chemické reakce lze zařadit např. reakci vápníku s kyselinou mléčnou a následný vznik rozpustného monokalciumpkaseinátu, který se podílí na vzniku celistvé hmoty sýra [2].

Zrání sýrů může probíhat buďto v celé hmotě sýra (anaerobně), nebo od povrchu dovnitř (aerobně) působením povrchové mikroflóry.

U řady sýrů se oba typy zrání doplňují, u tvrdých sýrů převládá anaerobní zrání. Sýry, které zrají v celé hmotě, se po solení balí do zracích fólií, ošetřují se ochranným plastovým nátěrem, v menší míře je jejich povrch při zrání ošetřován solným roztokem (2 – 3 %) nebo lněným olejem. Zrací fólie a nátěry představují bariéru nepropustnou pro kyslík a vodu, propustnou pro CO<sub>2</sub>. Zrací fólie téměř vylučují činnost kontaminující povrchové mikroflóry a snižují ztráty dříve obvyklé v rozsahu 5 – 10 % na minimum.

Při zrání se také výrazně mění konzistence sýrů, která tvoří jeden ze základních jakostních parametrů. Nejprve dochází především k rozkladu laktózy vlivem enzymů přítomné mikroflóry. Rozklad je nejintenzivnější v době odkapávání nebo lisování. Poslední zbytky laktózy vymizí u polotvrdých sýrů během prvních dní zrání. Současně dochází ke změnám kaseinu, vznikající kyselina mléčná uvolňuje z para-κ-kaseinu vápník za vzniku mléčnanu vápenatého. Vzniká monokalciumpkaseinát, který bobtná ve vodě a roztoku NaCl, čímž dochází ke spojování zrn a vzniká celistvá struktura a rovněž dochází k vyrovnání obsahu NaCl [2, 3, 10]. Ionty Na<sup>+</sup> vytěsní v para-κ-kaseinu vápenatém ionty Ca<sup>2+</sup> a vysolený sýr postupně zvláčňuje v konzistenci, bobtná. V případě přebytku kyseliny mléčné reakce nenastává a tvoří se nerozpustný dilaktát, vápník je vytěsněn kyselinou a konzistence sýra je

tuhá [8]. Dále dochází ke snížení titrační kyselosti jednak vazbou kyseliny mléčné, ale také její mikrobiální přeměnou na jiné produkty (kyselina octová, případně kyselina propionová, oxid uhličitý a voda) – záleží na typu sýra. Současně dochází i k tvorbě ok (schematicky znázorněno v obrázku 2), jejichž tvorba je způsobena uvolňováním oxidu uhličitého a jeho rozpuštěním ve vodě. Následně dochází k nasycení syřeniny a hromadění CO<sub>2</sub> v dutinkách. Poté dochází k difúzi oxidu uhličitého do větších útvarů a k tvorbě ok. Množství vzniklého oxidu uhličitého, a tím i četnost a velikost ok, je nutné regulovat dobou zrání ve zracím sklepe, protože jinak může dojít až k potrhání těsta sýra a vzniku prasklin [2, 38].

Vlivem proteolýzy dochází k různě intenzivnímu rozkladu bílkovin. Podle typu sýra a použité proteolytické mikroflóry může rozklad probíhat anaerobně v celé hmotě (typické pro tvrdé sýry), nebo aerobně od povrchu (sýry s mazem). Působením enzymů proteolytické mikroflóry (případně působením terciární fáze syřidlových enzymů, pokud během zpracování nebyly inaktivovány) dochází k postupnému rozkladu bílkovin. Nejprve vznikají vysokomolekulární (více než 35 aminokyselin) a pak nízkomolekulární peptidy (6 až 15 aminokyselin), které se dále štěpí až na dipeptidy a aminokyseliny. U některých sýrů nastává další degradace až na produkty jako jsou H<sub>2</sub>S a NH<sub>3</sub>, které se typicky projeví na vůni a chuti sýrů zrajících pod mazem [2]. Dále jsou zde aktivní exopeptidázy, tripeptidázy a dipeptidázy, jejichž hlavním produktem jsou přímo volné aminokyseliny. Exopeptidázy hydrolyzují terminální peptidové vazby (na konci peptidového řetězce) [40].

Míra degradace bílkovin se posuzuje rozsahem zrání a hloubkou zrání. Rozsah zrání je podíl obsahu rozpustného dusíku k celkovému obsahu dusíku, hloubka zrání je definována jako podíl obsahu dusíku volných aminokyselin a amoniakálního dusíku k celkovému obsahu dusíku [2].

Zrání sýrů je pomalý, a tudíž drahý proces, který je obtížně kontrolovatelný, i přestože při zahrnutí znalostí mikrobiologie a biochemie zrání sýrů lze zvýšit pravděpodobnost produkce kvalitního sýra. Některé důvody, zejména ekonomické a kapacitní, nutí výrobce ke zkracování doby zrání (celková chuť a texturní vlastnosti jsou téměř nezměněny) [4, 11, 17].

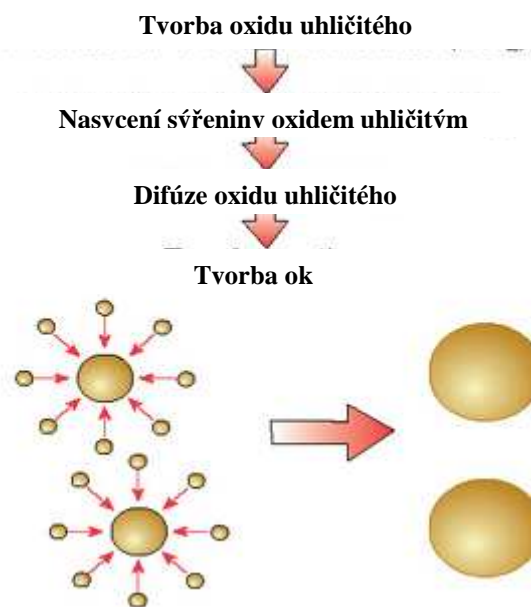
Zkoušejí se nové chemicky nebo geneticky modifikované bakteriální kultury či doplňkové kultury. Přidávají se exogenní enzymy k urychlení zracího procesu nebo se zvyšuje teplota v průběhu zrání. Každá z těchto metod má své výhody i omezení [4, 5].



Pokud je při výrobě sýrů použita některá z těchto metod, tak se k zákazníkovi dostává výrobek dostatečně dozrálý. V dnešní praxi se spíše setkáváme s tím, že sýry jsou předčasně vyskladňovány a distribuovány k zákazníkovi, ačkoliv proces zrání nebyl ještě zdaleka ukončen.

K jednoduchým a úspěšným přístupům k urychlení zrání sýrů patří zvýšená teplota zrání. Sýry eidamského typu zrají obecně v rozmezí teplot 10 – 14 °C. Teploty kolem 20 °C jsou horním limitem pro zrání sýrů, pokud jsou použity vyšší teploty, pak dochází k měknutí sýru a rychle se rozvíjejí různé deformace [5, 8, 17].

Některé přístupy, zejména používání startérů s oslabenou buněčnou stěnou a doplňkových kultur, mohou zintenzivnit chuť tvrdého sýru s nízkým obsahem tuku, aniž by se nutně snižovala doba zrání [17].



Obrázek 2: Schematické znázornění tvorby ok [2]

## 2.1 Zrací sklepy

Zrání sýrů probíhá ve zracích sklepech. K tomu, aby v průběhu zrání probíhaly v sýrech požadované změny, je třeba vytvořit optimální podmínky. Optimální podmínky teploty, relativní vlhkosti a přiměřené výměny vzduchu jsou závislé na typu sýra. Sýrařské zrací sklepy jsou prostory s vhodnými klimatickými podmínkami pro daný druh sýra. Většinou se jedná o speciálně navrhované stavby, ale často se využívají i upravené přírodní útvary

(štoly, jeskyně,...) [2, 3]. Rozhodujícími parametry pro zrání sýrů je teplota a doba zrání, u sýrů, které nezrají ve fóliích též relativní vlhkost vzduchu [8].

Teplota zásadním způsobem ovlivňuje průběh a intenzitu biochemických přeměn. Během určité fáze zrání by měla být konstantní. Obecně platí, že na počátku zrání je teplota vyšší a při dozrávání nižší. Podle teploty se sklepy rozdělují do 3 základních skupin:

- teplé (kvasné) – teplota 22 až 26 °C; jsou využívány zejména při výrobě sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou k tomu, aby propionové bakterie vytvářely dostatečné množství CO<sub>2</sub>,
- zrací – teplota 8 až 14 °C pro tvrdé sýry; pro sýry zrající pod mazem teplota 16 až 20 °C; probíhá zde hlavně proteolýza a tento typ sklepu je využíván zejména pro tvrdé a polotvrdé sýry,
- chladné – teplota 4 až 8 °C; tento typ sklepa využíván např. při výrobě sýru Zlato [2].

Relativní vlhkost vzduchu je závislá na teplotě sklepu. Měkké sýry zrající pod mazem nebo zrající s plísní v těstě vyžadují relativní vlhkost velmi vysokou – 90 až 95 %, sýry tvrdé 80 až 90 %. Tyto údaje platí pro klasický způsob tzv. „volného“ zrání. Pokud sýry zrají ve zracích fóliích nebo pod speciálními nátěry, pohybuje se relativní vlhkost v rozmezí 60 až 90 % [2].

Doba zrání je velmi rozdílná a pro jednotlivé skupiny sýrů i charakteristická. Může být velmi krátká – 24 hodin (čerstvé sýry solené), několik dnů (sýry zrající pod mazem), týdnů (sýry zrající s plísní v těstě), nebo až několik měsíců (sýry ementálského typu) [2, 3].

Ošetřování sýrů je velmi důležité, jelikož mikroklima zracích sklepů podporuje nejen zrání sýrů, ale umožňuje také nárůst nežádoucí mikroflóry na povrchu sýrů. Proto je nutné volně zrající sýry „ošetřovat“. Způsoby ošetření jsou velmi různorodé – u tvrdých sýrů je to např. omývání roztokem NaCl a současné odstranění povrchové mikroflóry kartáči, pro sýry zrající pod mazem je nutné zvlhčování, sýry zrající s plísní v těstě, které na rozdíl od jiných sýrů nezrají položené na čelní ploše, je nutné pravidelně otáčet ve zracích žlabech o 1/3 obvodu. Sýry eidamského typu se do zracích sklepů umisťují v cryovakové fólii, takže se během zrání ve zracím sklepu již neošetřují [2].

## 2.2 Reakce a procesy v průběhu zrání sýrů

Zrání je velmi důležitou součástí výroby sýrů. V průběhu zrání dochází ke změnám, díky nimž sýr získává své typické vlastnosti. Uplatňují se fyzikální, chemické a biochemické reakce, pomocí kterých dochází k žadoucím změnám. Mezi nejvýznamnější skupinu reakcí patří mikrobiologické a biochemické procesy, které při zrání sýrů probíhají poměrně intenzivně a v širším rozsahu [2].

Biochemické reakce vyskytující se v sýrech v průběhu zrání lze rozdělit do čtyř hlavních kategorií:

- proces odbourávání laktózy a katabolismus laktátu,
- metabolismus citrátu,
- proteolýza (proces rozkladu bílkovinné struktury) a katabolismus aminokyselin,
- lipolýza (proces štěpení tuků) a katabolismus volných mastných kyselin [16, 17].

Mikroorganismy, včetně bakterií, kvasinek a plísní, jsou obsaženy v sýru během zrání a přispívají pozitivním i negativním způsobem k procesu zrání, buďto přímo prostřednictvím jejich metabolické aktivity, nebo nepřímo prostřednictvím uvolňování enzymů do sýra. Mikroflóra související se zráním sýrů je velmi různorodá a může být rozdělena do dvou skupin – startérové (zákysové) bakterie mléčného kvašení (LAB) a nstartérové (nezákysové) bakterie mléčného kvašení (NSLAB) např. laktobacily, pediokoky, enterokoky aj. LAB jsou primárně odpovědné za tvorbu kyseliny mléčné při výrobě, a tedy musí být schopné produkovat dostatek kyseliny mléčné ke snížení pH mléka ( $\text{pH} < 5,3$ ) v závislosti na typu sýra. Sekundární mikroflóra nehraje aktivní roli při výrobě sýrů, ale je spojena s LAB v procesu zrání a má vliv na vývoj chuti v průběhu zrání. Sýr je nejen vhodné prostředí pro tyto mikroorganismy, ale i pro mikroorganismy jako jsou potravinové patogeny, které mají negativní dopad na kvalitu sýru a negativním způsobem ovlivňují zdravotní nezávadnost sýru [17].

### 2.2.1 Metabolismus laktózy

Klíčovým rysem při výrobě sýrů je metabolismus laktózy na kyselinu mléčnou pomocí vybraných kultur bakterií mléčného kvašení (LAB). Za normálních podmínek je tato metabolická dráha zprostředkována startérovými kulturami už během přípravy sýřeniny nebo v prvních dnech zrání. Většina laktózy odchází z mléka do syrovátky jako laktóza nebo kyselina mléčná [17]. Na konci výroby zůstává v sýřenině nízká koncentrace laktózy (0,8 –

1,0 %) [5, 17, 18]. V případě, kdy metabolismus laktózy není kompletní pomocí LAB, mohou k jejímu proběhnutí přispět také NSLAB [5]. Rychlost a rozsah okyselení závisí na výchozí textuře sýřeniny [16]. Na rychlosti okyselení v průběhu výroby je také závislá hodnota pH. Hodnota pH ovlivňuje strukturu sýřeniny a má přímý vliv na rozpustnost kaseinů. Sýry s vyšším pH jsou jemnější než sýry, u kterých je pH v kyselé oblasti [22]. Kompletní fermentace laktózy v sýru je důležitá k zabránění rozvoji kontaminující mikroflóry (plísně – *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. či bakterie – *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Micrococcus* spp.) [17].

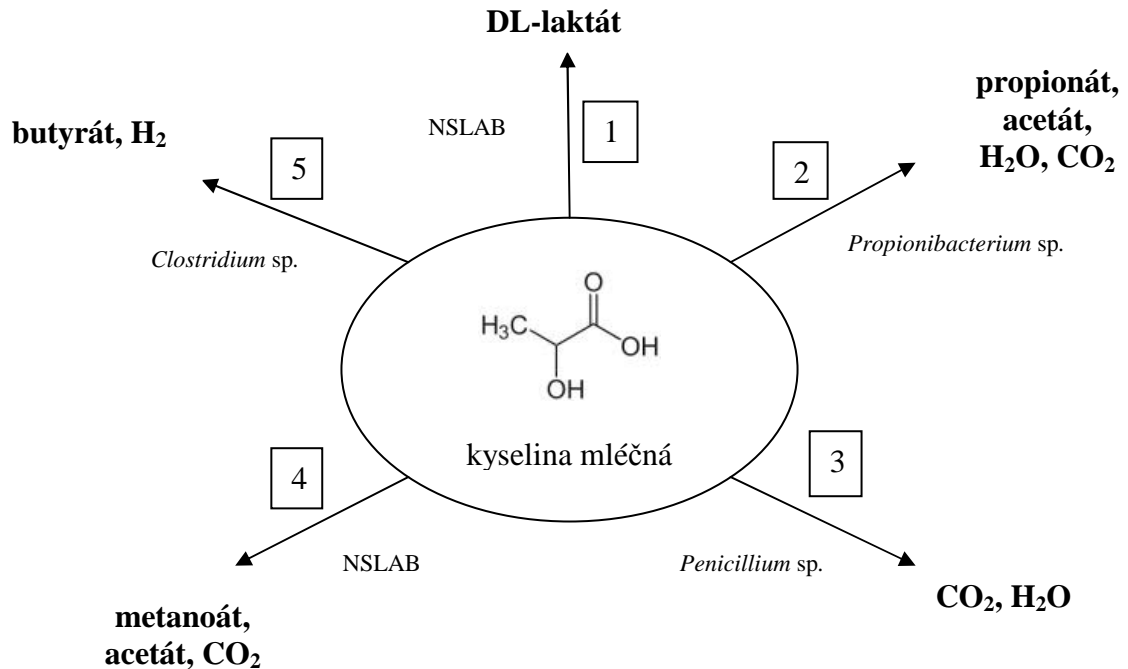
Zbytková laktóza je poměrně rychle metabolizována na L-kyselinu mléčnou a to v průběhu prvních dnů zrání v závislosti na teplotě [17]. Přítomnost zbytkové laktózy nebo monosacharidů, ze kterých se laktóza skládá - glukóza a galaktóza, může vést k Maillardově reakci (neenzymatické hnědnutí) a to především u sýrů, které byly dohřívány při vyšších teplotách [5]. Zbytková laktóza, která zůstává v sýřenině po formování, je rychle metabolizována přítomnými mikroorganismy [20].

### 2.2.2 Metabolismus laktátu

Laktát, konečný produkt glykolýzy, je důležitý substrát pro celou řadu reakcí, které přispívají pozitivně, nebo negativně na zrání všech druhů sýrů. Laktát přispívá k chuti sýru, a to zejména v rané fázi dozrávání, zejména u nezrajících sýrů, u kterých nejsou vyvinuty ostatní chuťové látky [17]. D-kyselina mléčná může být tvořena přímo z laktózy a to startérovými laktobacily nebo NSLAB [19, 20] nebo může vznikat racemizací L-kyseliny mléčné (obrázek 3). Rychlost, se kterou je L-kyselina mléčná racemizována, závisí na složení NSLAB mikroflóry – například pediokoky racemizují kyselinu mléčnou rychleji než laktobacily [17]. Racemizace probíhají rychleji v mléce syrovém než v mléce pasterovaném [21]. Racemizace pravděpodobně zahrnuje oxidaci L-laktátu pomocí L-laktátdehydrogenázy na pyruvát, který je pak přeměněn pomocí D-laktátdehydrogenázy na D-laktát [17]. Kyselina mléčná může být v sýrech oxidována na produkty, jako jsou kyselina octová, kyselina mravenčí, etanol či oxid uhličitý (obrázek 3) [17].

Anaerobní metabolismus kyseliny mléčné probíhá např. pomocí *Clostridium tyrobutiricum* na kyselinu máselnou a vodík (obrázek 3). Tyto produkty způsobují tzv. pozdní duření sýrů, kdy vznikají v sýru trhliny, které se objevují v průběhu zrání sýrů a vzniká také nepříjemná příchut' [17].

K metabolismu laktózy pomocí *Propionibacterium* spp. dochází při výrobě sýrů s vysoko-dohřívanou sýřeninou, při jejichž výrobě se tento mikroorganismus využívá [10].



Obrázek 3: Metabolismus laktózy v průběhu zrání sýrů: 1 – racemizace, 2 – metabolismus způsobený *Propionibacterium* spp., 3 – oxidace, 4 – anaerobní metabolismus pomocí NSLAB, 5 – anaerobní metabolismus pomocí *Clostridium* spp. [17]

### 2.2.3 Metabolismus citrátu

Díky relativně nízké koncentraci citrátu v mléce ( $10^{-8}$  mmol.l<sup>-1</sup>) má jeho metabolismus v mnoha sýrech vyrobených s použitím mezofilních kultur malý význam. Přibližně 94 % citrátu je rozpuštěno v mléce a většina z něj odchází do syrovátky. Citrát není metabolizován např. kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* nebo *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, ale je metabolizován citrát-pozitivními kmeny (např. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, starším názvem *Streptococcus diacetylactis*) za vzniku diacetylu, acetátu, acetoinu a CO<sub>2</sub>. Při zrání sýrů se množství citrátu snižuje a v některých případech citrát úplně vymizí [17].

V polotvrdých sýrech holandského typu (Eidam, Gouda) vznikají malá okrouhlá oka, které způsobuje CO<sub>2</sub>, který je produkován kvašením z citrátů pomocí bakterií mléčného kvašení, ovšem v mnohem menší míře než v případě sýrů ementálského typu. Na řezu kvalitního Eidamu by se mělo vyskytovat jen jedno až dvě takováta oka [38].

#### 2.2.4 Lipolýza

Lipidy mají vliv na texturu sýrů, působí jako zdroj mastných kyselin, které pak mohou být katabolizovány na další sensoricky aktivní látky a působí jako rozpouštědlo pro chuťově aktivní látky. Lipidy přítomné v sýrech mohou podléhat oxidačním, nebo rozkladným reakcím. Oxidace lipidů pravděpodobně v sýrech nenastane kvůli jeho nízké hodnotě redox – potenciálu (okolo -250 mV) [17, 23, 24]. Enzymatická hydrolýza (lipolýza) triacylglycerolů na mastné kyseliny a glycerol, mono- nebo diacylglyceroly, je považována za zásadní pro vývoj chuti u některých sýrů (např. tvrdé italské sýry nebo sýry s plísní v těstě – *Penicillium roqueforti* má lipolytické schopnosti). V případě sýru, jako je eidamská cihla, je úroveň lipolýzy během zrání nízká a relativně málo ovlivní chuť sýru [17].

Lipolytické enzymy v sýru mohou být klasifikovány jako esterázy nebo lipázy. Pomocí lipáz, ať už původních, endogenních nebo exogenních, triacylglyceroly podléhají hydrolýze ve všech typech sýrů. Výsledkem činnosti těchto lipáz je uvolnění mastných kyselin v průběhu zrání sýrů [17, 23, 24]. Mastné kyseliny mají přímý podíl na aroma sýrů. Volné mastné kyseliny jsou také důležité prekurzory několika těkavých látek, které přispívají k chuti sýru [17]. Triacylglyceroly obsažené v mléčném tuku z mléka přežvýkavců jsou poměrně bohaté na mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které po odštěpení významně přispívají k vytvoření chuti v mnoha druzích sýrů [23, 24].

Existuje několik druhů lipáz, podle původu jsou to lipázy endogenní pocházející přímo z mléka (lipoproteinlipáza) či mikrobiální lipázy (*Lactococcus* spp. a *Lactobacillus* spp. v sýrech s nízkodohřívanou sýřeninou vyráběných z pasterovaného mléka, *Penicillium roqueforti* v sýrech s plísní v těstě aj.) [5, 17, 23, 24, 25].

Lipázy jsou hydrolázy, které katalyzují hydrolýzu esterů z karboxylových kyselin. Lipázy vykazují různé druhy specifity:

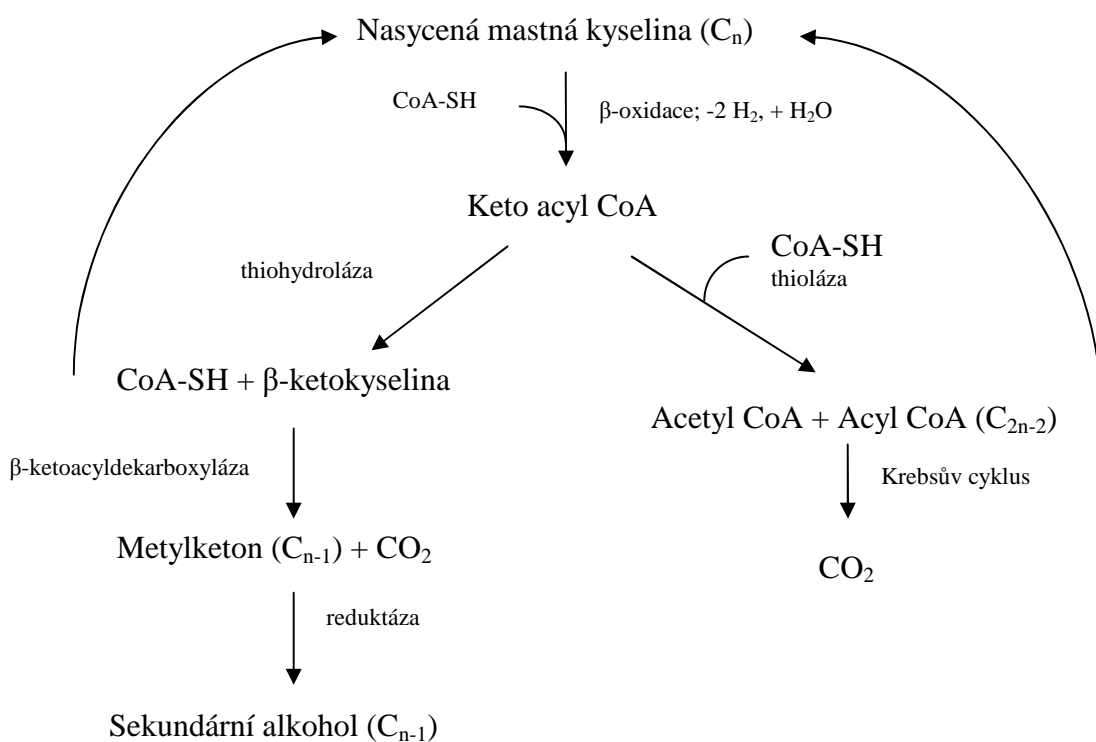
- obvykle hydrolyzují 1,2- a 2,3-diglyceridy a poté 2-monoglyceridy,
- vykazují specifitu pro mastné kyseliny s určitou délkou svého mastného řetězce,

- některé vykazují specifitu pro nasycené nebo nenasycené mastné kyseliny [17].

### 2.2.5 Metabolismus volných mastných kyselin

V sýrech jsou volné mastné kyseliny (FFAs) prekurzory mnoha významných aromatických látek, jako jsou metylketony, laktony, estery, alkyly a sekundární alkoholy [17].

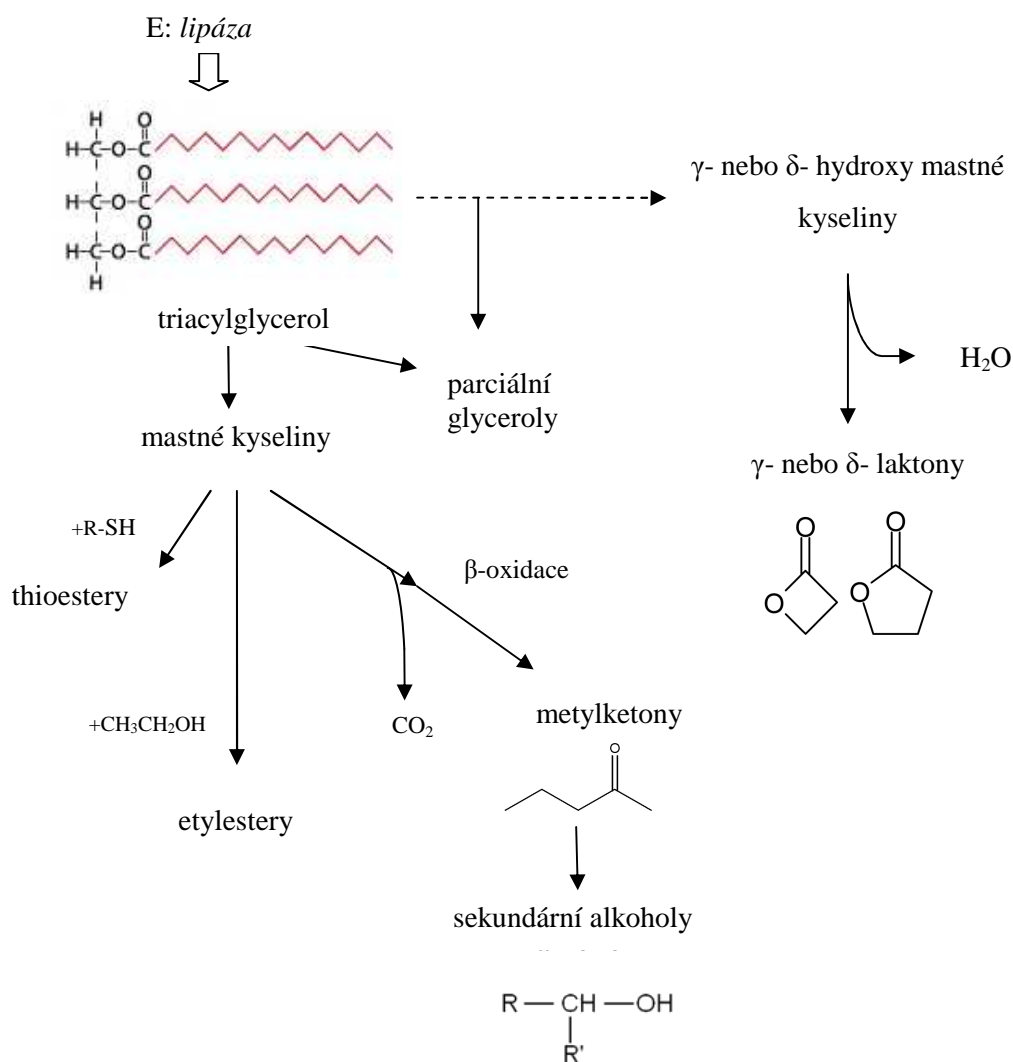
Obvyklým konečným produktem metabolických drah, které v průběhu zrání probíhají, je etanol. Při metabolismu volných mastných kyselin vznikají estery reakcí FFAs s alkoholem. Obvykle se vyskytuje etylester [17]. Mezi další estery, které se v sýrech nacházejí, patří metylester, propylester a také butylester [26]. Etanol je limitujícím reaktantem v produkci esterů – tento alkohol je sekundárním produktem při fermentaci laktózy nebo při katabolismu aminokyselin [17, 21].



Obrázek 4: Schematické znázornění β-oxidace mastných kyselin pomocí *Penicillium roqueforti* a následná redukce na sekundární alkohol [17]

Cesty katabolismu volných mastných kyselin jsou shrnuty v obrázku 5. Metylketony jsou nejdůležitější aromatické složky sýru s plísní v těstě (Niva) a jsou přítomny ve velmi vysokých koncentracích. Metylketony vznikají v Nivě působením *Penicillium roqueforti*. Metabolismus volných mastných kyselin pomocí *Penicillium* spp. zahrnuje čtyři hlavní kroky,

kteřé odpovídají prvním stádiím  $\beta$ -oxidace (obrázek 4). Množství metylketonů v sýru je ovlivněno teplotou, pH, fyziologickým stavem plísně a koncentrací prekurzorů FFAs. Sekundární alkoholy mohou být tvořeny v sýru enzymatickou redukcí metylketonů. Thioestery jsou tvořeny reakcí volných mastných kyselin se sulfhydrolovou sloučeninou a mohou být tvořeny také celou řadou mikroorganismů obsažených v sýru. Laktony jsou cyklické sloučeniny, které vznikají intramolekulární esterifikací hydroxy mastných kyselin za současného odštěpení vody a tím vzniká cyklická struktura. Prekurzory laktonů (hydroxy mastné kyseliny) mohou být produkovány působením lipoxygenáz a jiných enzymů přítomných v mikroflóře bacheru [17].  $\alpha$ -laktony a  $\beta$ -laktony jsou poměrně reaktivní,  $\gamma$ -laktony a  $\delta$ -laktony jsou naproti tomu méně reaktivní a byly objeveny v sýrech. Laktony mají poměrně silné aroma a podílí se na celkové chuti sýrů [23]. Aldehydy mohou vznikat pomocí katabolizmu aminokyselin. Některé aldehydy, např. butanal, heptanal a nonanal, mohou vznikat  $\beta$ -oxidací nenasycených mastných kyselin [17].



Obrázek 5: Cesty katabolizmu volných mastných kyselin [17]



### 2.2.6 Proteolýza

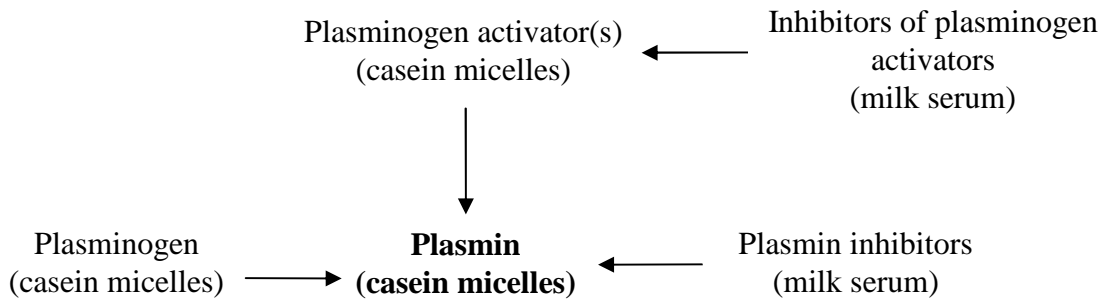
Proteolýza je komplexní a velmi důležitý biochemický děj, který se vyskytuje u sýrů v průběhu jejich zrání. Proteolýza přispívá zejména k měknutí textury sýrů v průběhu zračního procesu a to v důsledku hydrolýzy kaseinové matrice v sýřenině a vlivem snížení hodnoty vodní aktivity sýřeniny. Proteolýza má rovněž přímý vliv na chuť sýrů a to díky produkci krátkých peptidů a aminokyselin, některé z nich jsou chuťovými látkami. Proteinázy a peptidázy katalyzující proteolýzu v průběhu zrání sýrů pocházejí ze 6 primárních zdrojů a to: zbytková aktivita syřidla, mléko, startérové bakterie mléčného kvašení (LAB), nestrartérové bakterie mléčného kvašení (NSLAB), sekundární (doplňkové) kultury (např. *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* např. ve švýcarských typech sýrů, *Penicillium roqueforti* v sýrech s plísní v těstě, *Penicillium camemberti* u sýrů s plísní na povrchu, aj.) a exogenní proteinázy či peptidázy přidávané do mléka či sýřeniny za účelem urychlení zrání sýrů [17, 41, 42].

Významný zdroj proteolytických enzymů v mnoha druzích sýrů je zbytkové syřidlo, zejména chymozin, který zůstává v sýřenině i po odtoku syrovátky. Až 30 % sýřící aktivity, která zůstává v sýřenině, závisí na faktorech, jakou jsou: dohřívací teplota či pH při odtoku syrovátky [17, 27]. V roztoku chymozin štěpí  $\beta$ -kasein [28], čímž mohou vznikat krátké hydrofobní peptidy, které mohou být hořké. Primární aktivita chymozinu na  $\alpha_{S1}$ -kasein je zaměřena na místo Phe<sub>23</sub>-Phe<sub>24</sub>, která má za následek produkci krátkých peptidů a je zodpovědná za počáteční měknutí textury sýrů [17, 34].

$\alpha_{S2}$ -kasein je vůči aktivitě chymozinu odolnější než  $\alpha_{S1}$ -kasein – rozštěpení molekuly  $\alpha_{S2}$ -kaseinu je omezeno pouze na hydrofobní oblasti molekuly. Přestože para- $\kappa$ -kasein obsahuje několik míst, které by mohl chymozin štěpit, tak doposud nebylo zjištěno, že by byl hydrolyzován, ať už v roztoku, tak i v sýru. Pravděpodobně to způsobuje vysoce uspořádaná sekundární struktura  $\kappa$ -kaseinu v porovnání s jinými typy kaseinů. [17, 29]

Mléko je významným zdrojem proteolytických enzymů. Hlavní původní proteinázou v mléce je plazmin. Je důležitý při zrání sýrů, urychluje proteolýzu. Má původ v krvi a optimální aktivitu vykazuje při teplotě 37 °C a pH 7,5. Do krve je vylučován jako negativní plazminogen, který je pak aktivován aktivátory (PAs) na plazmin. Hlavní fyziologická funkce plazminu je ta, že se účastní degradace sraženin fibrinu v průběhu procesu srážení krve. V mléce jsou plazmin, plazminogen a PAs převážně spojovány s kaseinovými mice-

lami, zatímco inhibitory plazminu a inhibitory aktivátoru odcházejí spolu se syrovátkou (obrázek 6) [17].



Obrázek 6: Schematické znázornění systému plazminu v mléce [17]

Plazmin degraduje kaseiny v následujícím pořadí:  $\beta$ -kasein  $\approx$   $\alpha_{S2}$ -kasein  $>$   $\alpha_{S1}$ -kasein.  $\kappa$ -kasein je odolný vůči hydrolýze působením plazminu.  $\alpha_{S2}$ -kasein je poměrně citlivý na činnost plazminu, což je důvodem ztráty tohoto proteinu, což bylo pozorováno během zrání sýrů [17, 30].

Aktivitu plazminu může ovlivnit také pasterace. Plazmin je tepelně stabilní enzym. Plazmin a plazminogeny nejsou ničeny vysokotepelem krátkodobou pasterací, stejně tak i teplotami při dohřívání sýrů. Inhibitory PA jsou vlivem pasterace inaktivovány a tak může dojít ke zvýšení aktivity plazminu, který je odpovědný za průběh proteolýzy u sýrů s vysokodohřívanou syřeninou. Činností plazminu vznikají středně-velké až velké peptidy, které se přímo nepodílí na chuti sýru, ale které mohou být další hydrolýzou pomocí peptidáz přeměněny až na volné aminokyseliny, které jsou důležité prekurzory chuťových látek [17].

Bakterie mléčného kvašení (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*) vyžadují poměrně značné množství aminokyselin, proto mají proteolytický systém, který uvolňuje aminokyseliny z proteinů v prostředí. Tyto bakterie obsahují intracelulární proteinázy vázané na buněčnou stěnu, které jsou velmi důležité pro další stupně proteolýzy v průběhu zrání sýrů [17, 34].

Kaseiny jsou bohaté na prolin a díky jeho unikátní struktuře jsou potřeba speciální peptidázy, které je jsou schopny odštěpovat. LAB obsahují tyto enzymy ve značné míře a to jim umožňuje uvolňovat je a jsou schopny využívat substrát pro svůj růst [31].

Proteolýza v mnoha případech může být shrnuta do následujících kroků: zpočátku jsou kaseiny hydrolyzovány zbytkovým syřidlem, které je zadržováno v syřenině, a plazminem

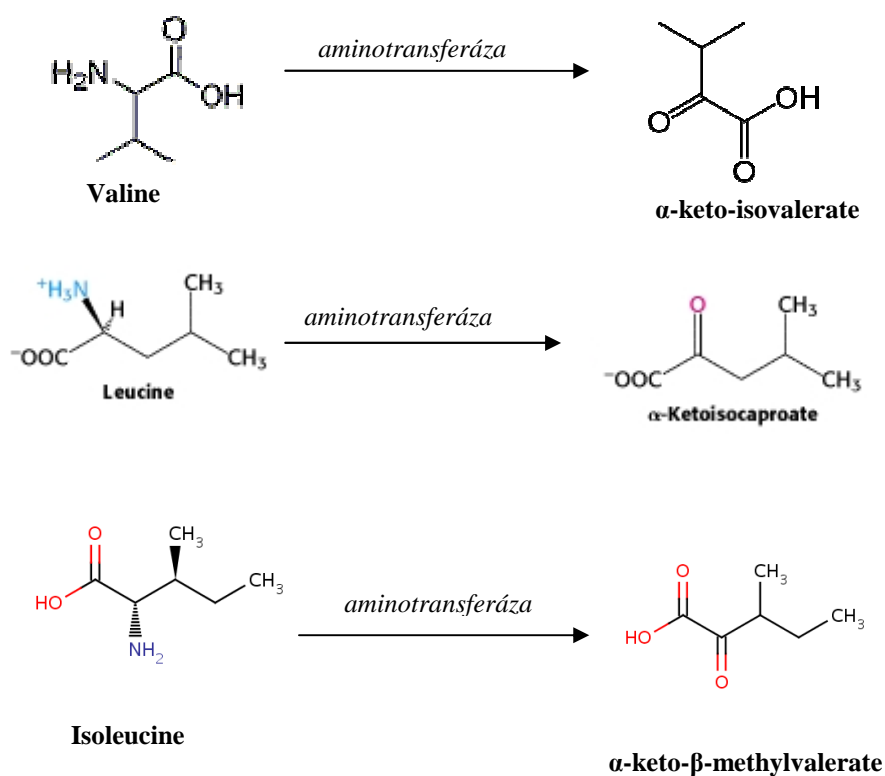
(možná i další proteolytické enzymy mléka) na řadu středně-velkých a velkých peptidů, které jsou hydrolyzovány proteinázami a peptidázami startérových LAB a NSLAB (možná i sekundární mikroflórou např. propionovou kulturou, plísněmi, G+ bakteriální mikroflórou pro sýry zrající pod mazem) na kratší peptidy a aminokyseliny. Typ a stupeň hydrolýzy je rozdílný u jednotlivých typů sýrů. Tyto rozdíly jsou způsobeny zejména odlišnostmi v průběhu výroby sýrů (především výše dohřívací teploty) a také průběhem zrání (doba zrání, vlhkost, zbytková aktivita syřidla, aktivace plazminogenu na plazmin, rozvojem proteolytické sekundární mikroflóry aj.). Rozsah proteolýzy (tj. do jaké míry jsou hydrolyzovány kaseiny na peptidy) se v jednotlivých typech sýrů liší od velmi nízkého (např. sýr Mozzarella) až po velmi rozsáhlý (např. Niva) [17, 34].

### 2.2.7 Metabolismus aminokyselin

Konečné produkty proteolýzy jsou aminokyseliny. Malé a střední peptidy přispívají v mnoha typech sýrů k chuti. Krátké, hydrofobní peptidy jsou hořké. Aminokyseliny jsou hlavní chuťové a aromatické látky sýrů. Některé z nich jsou sladké (např. Gly, Ser, Ala, Pro, Thr), kyselé (např. Glu, Asp) nebo hořké (např. Arg, Met, Val, Leu, Phe, Tyr, Ile, Trp) [17].

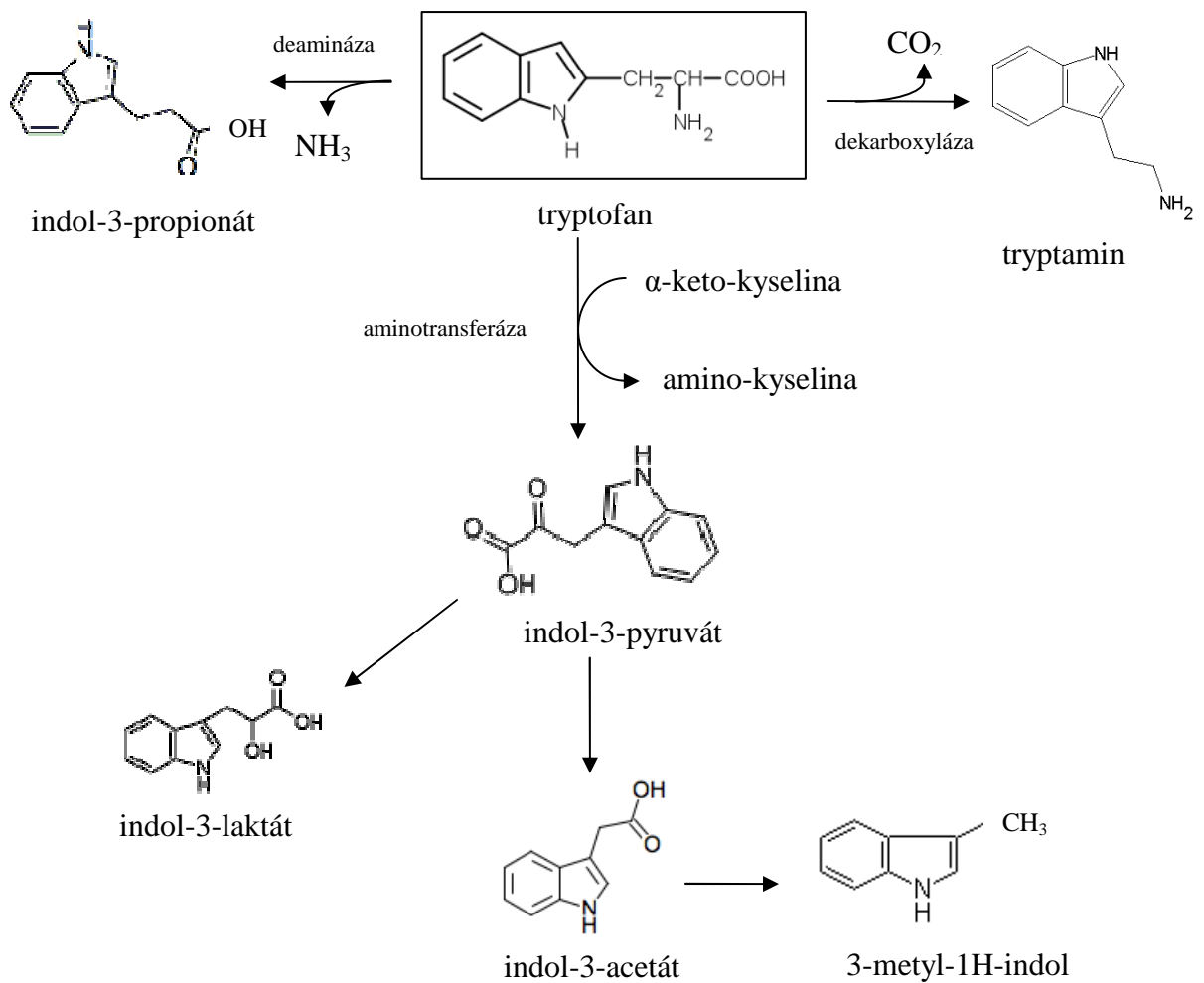
Katabolismus aminokyselin hraje hlavní roli ve vývoji chuťových a aromatických látek během zrání sýrů. První metabolická dráha je zahájena činností aminotransferázy, která přeměňuje aminoskupinu aminokyselin na odpovídající  $\alpha$ -ketokyselinu [17]. Činnost aminotransferázy byla stanovena jako činitel limitující rychlost produkce těkavých sloučenin v průběhu zrání sýrů [23].  $\alpha$ -ketokyseliny mohou být redukovány na odpovídající hydroxykyseliny. Druhá metabolická dráha je zahájena činností lyáz, které štěpí řetězce aminokyselin. Tato metabolická dráha je důležitá zejména pro aromatické aminokyseliny a metionin. Velmi významné z hlediska tvorby aroma sýrů se jeví sirné sloučeniny [17]. Mezi tyto sloučeniny patří metanthiol, dimetyldisulfid, dimetyltrisulfid, metional a thioestery [33].

Vyskytují se však i jiné metabolické dráhy, jako například deaminace (odstranění aminoskupiny a přeměna na amoniak) nebo dekarboxylace (odštěpení  $\text{CO}_2$  z karboxylové skupiny). Existují dva typy deaminace zahrnující redoxní reakce, které se liší podle charakteru příjemce vodíku [17].



Obrázek 7: Transaminace rozvětvených aminokyselin na odpovídající  $\alpha$ -ketokyseliny [17]

Aminokyseliny mohou být degradovány deaminací, která zahrnuje činnost dehydrogenázy (využívá  $\text{NAD}^+$  jako akceptor elektronu a produkuje  $\alpha$ -ketokyselinu a amoniak) nebo oxidázy (využívá jako akceptor elektronu kyslík a tvoří aldehydy a amoniak) [32]. Amoniak produkovaný deaminací přispívá k tvorbě chuti zejména sýrů zrajících pod mazem, sýrů s plísní na povrchu a sýrů ementálského typu [24]. Dekarboxylace aminokyselin má zvláštní význam a to v produkci amino-sloučenin, které vykazují silný a nepříjemný zápach a způsobují tak nepříjemný fyziologický efekt na citlivější spotřebitele. Touto cestou mohou vznikat i biogenní aminy (histidin, tyramin, kadaverin a putrescin), které jsou toxickými zplodinami metabolismu aminokyselin [33].



Obrázek 8: Katabolismus tryptofanu zahrnující transaminaci, dekarboxylaci nebo deaminaci [17]

### 2.3 Vývoj mikroorganismů během výroby a zrání

Mikroflóra sýru je ovlivněna faktory, jako je vlhkost, vodní aktivita, redoxní potenciál, aerobní nebo anaerobní podmínky, pH, kyselost a obsah soli. Bakteriální kontaminace sýrů se mohou vyskytnout během technologického zpracování, ale kontaminace mikroorganismy může pocházet také ze syrového mléka nedostatečné kvality. Mikrobiální kontaminace tvrdých a polotvrdých sýrů je poněkud omezena kvůli relativně nízké vlhkosti (< 50 %) a hodnotě pH (~ 5,0), zatímco měkké sýry umožňují růst širšímu spektru mikroorganismů (psychrotrofní gramnegativní tyčinky, jako jsou *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter* a *Flavobacterium*) v důsledku vyšší vlhkosti (50 – 80 %) a pH (5,0 – 6,0) [52].

Nejčastější mikroorganismy v sýru, zejména na počátku zrání, jsou startérové bakterie mléčného kvašení (LAB). Primární funkcí LAB je produkovat dostatečné množství kyseliny mléčné v průběhu výroby sýrů na snížení pH mléka na požadovanou úroveň. Nicméně také přispívají ke zrání sýrů, protože jejich enzymy jsou zapojené do proteolýzy, lipolýzy a katabolizmu aminokyselin na sensoricky aktivní látky. Většina startérových enzymů nemá okamžitý přístup ke hmotě sýru. LAB jsou nejvýznamnější při výrobě tvarohů, kde během jednoho dne výroby mikroflóra dosáhne hustoty  $\geq 10^8$  CFU.g<sup>-1</sup> [17].

Nestartérové bakterie mléčného kvašení (NSLAB) se vyskytují v sýrech vyrobených ze syrového i tepelně ošetřeného mléka. Rozmanitost NSLAB je větší u sýrů vyrobených ze syrového mléka (v 1 ml až  $10^2$  laktobacilů). NSLAB nepřispívají k produkci kyseliny mléčné v průběhu zrání, ale mají vliv na vývoj chuti u zrajících sýrů. Hlavní skupiny NSLAB jsou laktobacily, leukonostoky, pediokoky a enterokoky. Laktobacily tvoří převážnou část NSLAB ve většině druhů sýrů, rostou při teplotách 2 až 53 °C a optimální pH pro jejich růst se pohybuje v rozmezí 5,5 až 6,2. Laktobacily byly podle způsobu zkvašování sacharidů rozděleny do tří skupin – obligátně homofermentativní způsobují typické homofermentativní mléčné kvašení sacharidů bez tvorby CO<sub>2</sub> (*Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus helveticus*), fakultativně heterofermentativní zkvašují hexózy homofermentativně a pentózy heterofermentativně (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*) a obligátně heterofermentativní zkvašují glukózu z 50 % na kyselinu mléčnou a zbývající produkty, jako jsou CO<sub>2</sub>, kyselina octová a etanol [13]. Nestartérové laktobacily byly zjištěny v řadě evropských sýrů a v sýrech eidamského typu byly zjištěny následující laktobacily: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* a *Lactobacillus rhamnosus* [17]. Laktobacily se vyznačují také proteolytickou aktivitou, která je způsobena protézami a peptidázami vázanými na buněčnou stěnu. Intracelulárními lipázami mohou někdy způsobovat také slabou lipolýzu [13]. Pediokoky (*Pediococcus acidilactici*) se používají jako doplňkové kultury ke zlepšení chuti sýrů Čedar a Feta. Leukonostoky (*Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc lactis*) zkvašují heterofermentativně cukry za vzniku levotočivé D(-) kyseliny mléčné, CO<sub>2</sub> a dalších produktů. Některé druhy tvoří z citrátů acetoin a diacetyl. Vzniklý CO<sub>2</sub> odpovídá za tvorbu ok v holandském typu sýru. Enterokoky jsou spojeny s gastrointestinálním traktem a jejich přítomnost v potravinách je vnímána jako ukazatel špatné hygieny. Mohou vykazovat probiotické vlastnosti či produkovat bakteriociny. Enterokoky jsou hlavní složkou bakteriální populace sýrů vyrobených v Itálii, Francii, Španělsku, Portugalsku, Řecku,

Turecku či Egyptě a jejich počet na konci zrání se pohybuje v rozmezí  $10^5$  až  $10^7$  CFU.g<sup>-1</sup>. Nejčastěji jsou izolované druhy *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* a *Enterococcus durans*, které jsou některými výrobci sýrů považovány za důležité, jelikož pozitivně přispívají k organoleptickým vlastnostem jednotlivých sýrů [17, 50].

Většina vegetativních patogenů původně přítomných v syrovém mléce ztratí životaschopnost během zrání a skladování, ale výzkum ukázal, že některé patogeny, zejména salmonely a *Listeria monocytogenes*, mohou přežít i zrání a skladování (salmonely mohou přežít více než 60 dní při chladírenském skladování). Výskyt salmonel je přisuzován špatnému výrobnímu procesu nebo použití kontaminovaného syrového mléka. Množství *Listeria monocytogenes* se zvyšuje se zvyšujícím se pH sýru během zrání. Výskyt a přežití patogenů v sýru ovlivňuje několik faktorů a to teploty používané při technologickém procesu, zrání a skladování, produkce kyseliny mléčné LAB, množství soli a další inhibitory [50].

Enteropatogenní *Escherichia coli* (EPEC) neroste dobře v průběhu procesu zrání, inhibuje ji nízké pH způsobené kyselinou mléčnou a obsah soli, ale pokud LAB mají sníženou aktivitu, může *Escherichia coli* přežít výrobní proces a růst i během zrání. Naproti tomu enterohemoragická *Escherichia coli* (EHEC) je odolnější vůči kyselému prostředí a byl zjištěn její růst v sýrech [50].

*Staphylococcus aureus* je často nalezen v mléce v nízkých koncentracích, zejména v mléce od krav, které trpí mastitidou, je zdrojem enterotoxigenních kmenů *Staphylococcus aureus*. Je inaktivován pasterací a kyselinou mléčnou. V sýrech se vyskytuje v důsledku špatného technologického procesu nebo použitím kontaminovaných startovacích kultur. Nízká aktivita startovacích kultur umožňuje růst stafylokoků na dostatečně vysoké hodnoty ( $> 10^6$  na g sýru či na ml syrovátky) umožňující produkci enterotoxinu. Nicméně populace *Styphylococcus aureus* během zrání rapidně poklesne [50].

Spory *Clostridium botulinum* mohou být přítomny v mléce a mohou přežít pasteraci, ale podmínky v sýru ( $a_w$ , pH, obsah soli a antimikrobiální látky produkované startovacími bakteriemi) brání klíčení a/nebo růstu, který je nezbytný pro produkci toxinů [50].

Z dalších patogenů se může vyskytovat *Shigella* spp., která se do sýrů může dostat neopatrnou manipulací s mlékem [50].

Pro řadu sýrů (sýry s plísní v těstě a sýry s plísní na povrchu) je růst plísní součástí technologického procesu k dosažení požadovaných organoleptických vlastností. Nicméně, růst

jiných plísní, zejména rodů *Penicillium*, *Mucor*, *Monilia*, *Aspergillus*, *Cladosporium* atd., vede k nežádoucím změnám (vizuální změny, tvorba plynu aj.) ovlivňujícím kvalitu výrobků. Kromě toho mohou plísně produkovat mykotoxiny, čímž sýr znehodnocují [50].

Bakteriální znehodnocení se dělí na skoré a pozdní duření. Skoré duření je sledováno v čerstvých sýrech po několika dnech zrání. Mohou jej způsobovat kvasinky, ale častěji bakterie jako jsou koliformní bakterie nebo bakterie schopné zkvašovat laktózu. K pozdnímu duření dochází během skladování a zrání. U Goudy či Eidamu ho lze pozorovat již po 10 dnech, u Ementálu až za 5 měsíců. Způsobují jej klostridia, hlavně *Clostridium tyrobutyricum* a *Clostridium butyricum*. Spory *Clostridium tyrobutyricum* přežívají pasteraci mléka a v průběhu zrání v sýrech vytvářejí kyselinu máselnou, CO<sub>2</sub>, který způsobuje praskliny a trhliny a vzniká nepříjemná vůně. *Clostridium tyrobutyricum* je častější v zimě a je přítomen v mléce od krav krmených siláží (tj. fermentovanými krmivy), zatímco *Clostridium butyricum* je častější v létě. Nesprávně fermentovaná siláž může obsahovat > 100 000 spor *Clostridium* spp. na 1 gram. Dokonce již deset spor klostridií v 1 litru mléka může způsobit pozdní duření [50, 51, 52, 53].



## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

### 3 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo založit zrací pokus sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou (sýr Eidam) a zaměřit se na změny jakostních parametrů v průběhu zrání, především na změny obsahu vybraných skupin mikroorganismů (celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, koliformní bakterie a bakterie mléčného kvašení) v jednotlivých částech eidamské cihly během zrání v závislosti na odlišných skladovacích podmínkách jednotlivých vzorků a charakterizovat změny vybraných texturních parametrů testovaných vzorků během 126denního zrání ve zracím sklepě.

Pro dosažení cílů bylo třeba:

- Zpracovat literární rešerši týkající se výroby sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou a změn jakostních parametrů v průběhu zrání sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou.

Pro zpracování praktické části diplomové práce bylo nutno naplnit tyto dílčí cíle:

- Založit zrací pokus a sledovat změny jakosti eidamských sýrů,
- Zaměřit se na změny obsahu vybraných skupin mikroorganismů pomocí plotnové metody,
- Charakterizovat vybrané texturní parametry testovaných vzorků během zrání.

Na základě teoretické části a výsledků praktické části formulovat závěry zjištěné během zracího pokusu.

## 4 MATERIÁL A METODY

### 4.1 Výroba eidamské cihly

Vzorky eidamské cihly byly odebrány z šarže vyrobené tradičním zpracovatelem, který mléčné výrobky produkuje z pasterovaného mléka. Mléko bylo upraveno na výrobní tučnost smícháním pasterovaného plnotučného mléka a pasterovaného odstředěného mléka. Nejdříve bylo do výrobníku napuštěno mléko tučné, poté mléko odstředěné a byla udržována určitá teplota. Poté byl přidán smetanový zákys. Následovala doba prokysání. Po uplynutí této doby byly ke směsi přidány přídatné látky – nasycený roztok chloridu vápenatého, dusičnan draselný a barvivo. Poté bylo do mléka přidáno syřidlo. Po přidavku syřidla byla směs uvedena do klidu a určitou dobu musela stát. Další operací bylo předkrojení syřeniny a poté následovalo krájení syřeniny na zrno velikosti 6 až 8 mm pomocí sýrařské harfy a odpouštění syrovátky. Poté probíhalo vytužování, kdy se usazující se zrno rozmíchalo pomocí reverze (změna směru otáčení) a současně byly rozrušeny případné „slepenice“. Následovalo dohřívání, kdy docházelo ke zkrápnění vodou o teplotě maximálně 75 °C. Následovalo dosoušení za teplot 36 – 40 °C, k dosažení této teploty je možno si dopomoci párou, která je napouštěna do pláště výrobníku. Po dosoušení bylo na řadě vypouštění zrna do lisovací vany a lisování. Zpočátku se volily tlaky nižší, poté postupně vyšší. Po ukončení lisování byly cihly rozkrojeny na půl. Cihly byly umístěny do solné lázně, ze které byly po určité době vytaženy, nechaly se odkapat a poté byly baleny do cryovackové fólie. Takto zabalené cihly byly uloženy do zracích sklepů, kde byly teploty  $10 \pm 2$  °C a relativní vlhkost ~ 90 %.

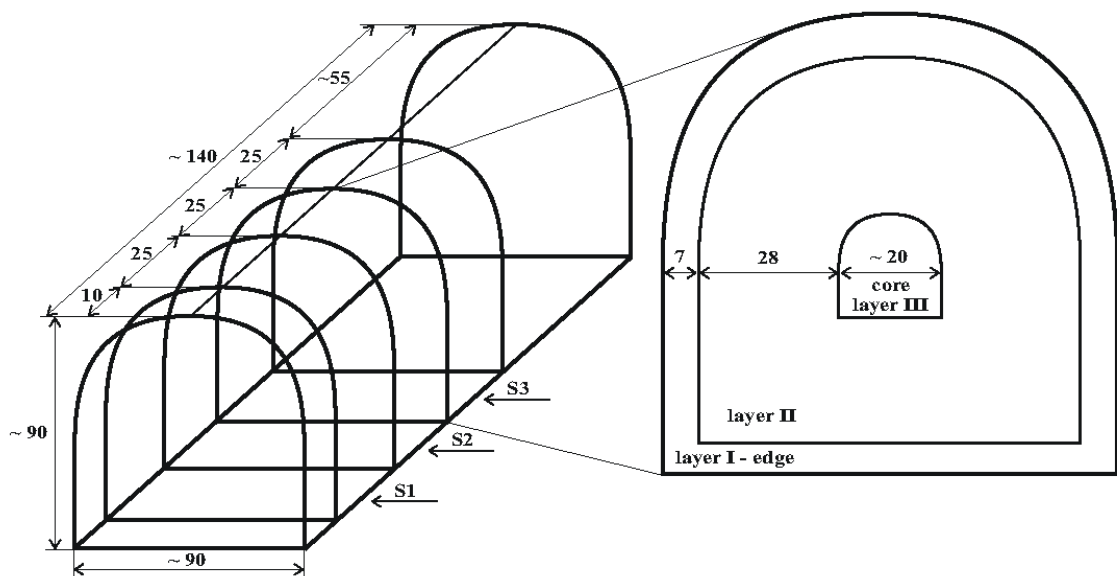
### 4.2 Schéma pokusu

Byla vyrobena šarže eidamských cihel, ze které bylo odebráno cca 53 kusů eidamských cihel pro zrací pokus a po ukončení výroby byly tyto cihly uskladněny ve zracím sklepě za teplot  $10 \pm 2$  °C (pro mikrobiologickou analýzu dále označeny jako vzorky S). Po 34 dnech, kdy byly všechny vyrobené cihly skladovány ve zracím sklepě, bylo 10 cihel ze zracího sklepa odebráno a dále skladováno v lednici za teplot  $4 \pm 2$  °C (pro mikrobiologickou analýzu dále označeny jako vzorky L). Tento pokus má za cíl srovnat odlišné skladovací teploty v průběhu zrání sýrů.

Cihly byly k analýzám odebírány postupně. Ve dnech 0, 3, 34, 56, 84 a 126 bylo prováděno mikrobiologické hodnocení vybraných skupin mikroorganismů (celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, koliformní bakterie a bakterie mléčného kvašení) u vzorků řady S a od 34. dne i u vzorků řady L. Ve dnech 0, 3, 7, 14, 42, 84 a 126 bylo prováděno hodnocení vybraných texturních parametrů pouze u vzorků, které byly po celou dobu zrání (126 dní) uskladněny ve zracím sklepe při teplotě obvyklé pro zrání tohoto typu sýru ( $10 \pm 2$  °C).

Den 0 označuje vzorky, které byly odebrány k analýze ještě před vstupem do solné lázně.

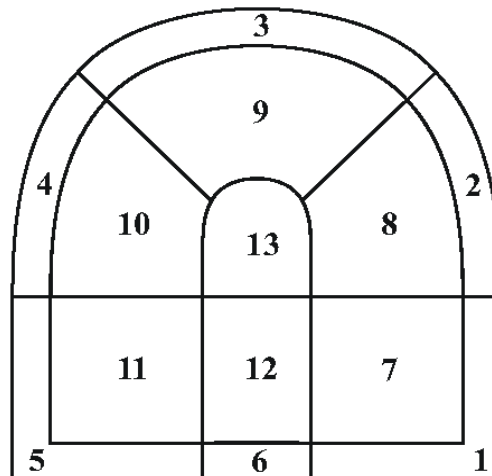
Pro texturní analýzu byly odebrány vždy 2 eidamské cihly a dané místo (pozice) bylo analyzováno pouze jednou, jelikož by další komprese poskytla jiný výsledek, který by předchozí deformace ovlivnila. Pro texturní analýzu byl z eidamské cihly nejprve odkrojen 10mm plát, který nebyl použit pro vlastní analýzu. Poté byla eidamská cihla rozdělena na 3 stejně velké pláty (výška 90 mm, šířka 90 mm a tloušťka po 25 mm) označené 1, 2 a 3. Pro mikrobiologickou analýzu nebyl odkrojen 10mm plát, eidamská cihla byla pouze rozdělena na 3 stejně velké pláty.



Obrázek 9: Znázornění odběru plátů 1, 2 a 3 z eidamské cihly pro texturní analýzu a znázornění vrstev I, II a III (střed)

Odebrané pláty 1, 2 a 3 byly pro hodnocení vybraných texturních vlastností rozděleny na 13 částí (schematicky znázorněno v obrázku 10). Pro mikrobiologické hodnocení vybra-

ných skupin mikroorganismů byly pláty 1, 2 a 3 rozděleny pouze na 2 části a to střed – vrstva III (na obrázku 9 odpovídá vrstva III vrstvě B) a okraj – vrstva I (na obrázku 9 odpovídá vrstva I vrstvě A). Rozdělení plátů pro mikrobiologickou analýzu je schematicky znázorněno v obrázku 9 v pravé části.



Obrázek 10: Schematické znázornění 13 míst, kde byly hodnoceny vybrané texturní vlastnosti

### 4.3 Mikrobiologická analýza

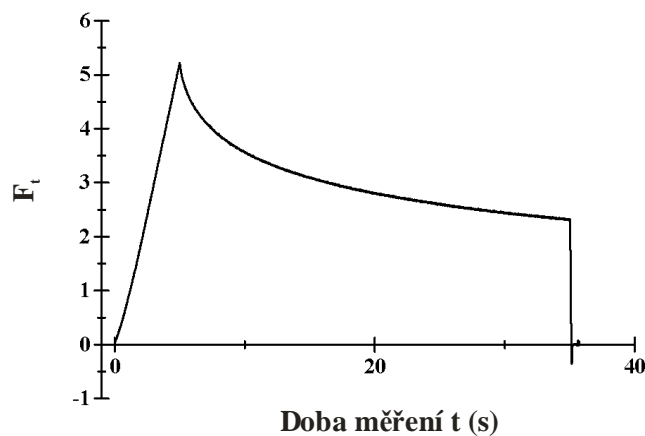
Při mikrobiologické analýze byl stanoven celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů (CPM) plotnovou metodou na Petriho miskách s PCA (plate-count-agar), počet koliformních bakterií plotnovou metodou na Petriho miskách s Endovým agarem (EA) a počet bakterií mléčného kvašení (BMK) taktéž plotnovou metodou na Petriho miskách s M17. Složení kultivačních půd a jejich příprava jsou uvedeny v příloze V.

### 4.4 Hodnocení textury

Pro texturní analýzu byl použit analyzátor textury TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Velká Británie) vybavený 30 kg měřicí celou. Vzorky (zabalené v cryovakové fólii jako prevence ztráty vlhkosti) byly před měřením 3 hodiny temperovány na 16 °C v temperační komoře [43].

Pro detailnější texturní analýzu každého testovaného plátu byly provedeny tzv. relaxační testy s použitím kulové sondy o průměru 5 mm (P5S). Relaxační testy byly aplikovány na celkem 13 míst v rámci jednoho testovaného plátu (schematicky znázorněno v obrázku 10). Při relaxačním testu byla sonda vtlačována rychlostí  $1 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  do hloubky 5 mm (aktivační síla 5 g), pak byla sonda udržována 30 s v této pozici a poté se vrátila zpět do původní polohy (rychlost sondy  $1 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Grafické znázornění závislosti síly  $F_t$  na čase  $t$  odpovídá tzv. zátěžové křivce, jejíž příklad je na obrázku 12. Ze zátěžové křivky byla odečtena maximální síla  $F_{\max}$  (N), která je považována za ukazatel tvrdosti („pevnosti“) [44, 45].

Data z relaxačního testu je možné podrobit další analýze, ke které se však použila pouze část zátěžové křivky počínaje maximální silou ( $F_{\max}$ ) a konče okamžikem zahájení vytahování sondy ze vzorku (tedy cca 30 s analýzy) – viz. obrázek 11 a 12A. Z relaxačního testu lze rovněž odhadnout viskoelastické vlastnosti analyzovaných vzorků [46, 47].



Obrázek 11: Typická zátěžová křivka závislosti síly  $F_t$  na čase  $t$  získaná ze stres testu

Peleg [48, 49] navrhl analyzovat část zátěžové křivky (obrázek 12A). Hodnoty sil  $F_t$  v čase  $t$  se nejprve normalizují podle vztahu:

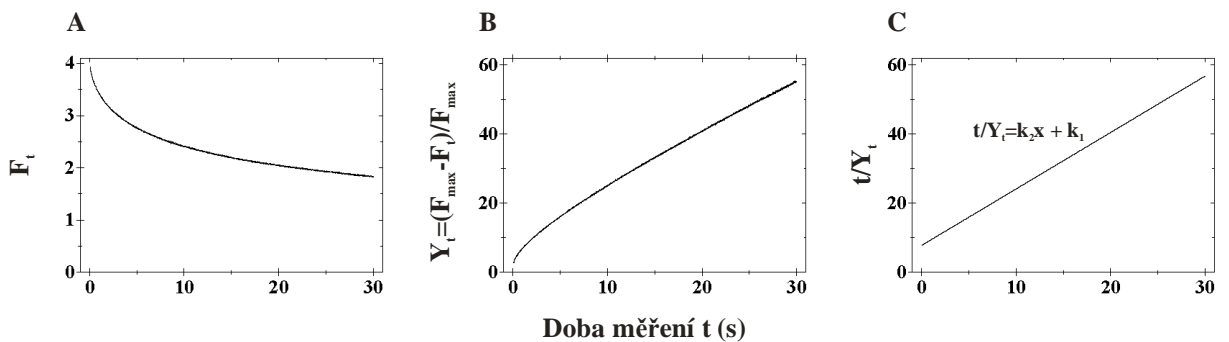
$$Y_t = \frac{F_{\max} - F_t}{F_{\max}}$$

Normalizovaná zátěžová křivka (obrázek 12B) se dále převede do linearizované podoby podle vztahu:

$$\frac{t}{Y_t} = k_2 x + k_1$$

V pravé části vztahu je regresní křivka, jejíž parametry  $k_1$  a  $k_2$  se odhadnou metodou nelineární regresní analýzy (Marquardt-Levenburg metoda). Pro výpočty byl využit statistický software Unistat 5.5.

Hodnocen je především parametr  $k_2$ , který indikuje rozsah relaxace materiálu. Hodnoty  $k_2 = 1$  odpovídají ideálně viskóznímu materiálu, při zvyšujícím se  $k_2$  narůstá podíl elastické složky. Parametr  $k_1$  svědčí o počáteční rychlosti relaxace. Vysoké hodnoty  $k_1$  odpovídají pomalé relaxaci, a proto indikuje vyšší podíl elastické složky [46]. Hodnoty tvrdosti ( $F_{\max}$ ) a parametrů  $k_1$  a  $k_2$  byly podrobeny statistické analýze pomocí třírozměrné analýzy rozptylu (ANOVA) a Duncanova testu. Závislost mezi hodnotami tvrdosti a parametry  $k_1$  a  $k_2$  byla následně posouzena pomocí Pearsonova korelačního koeficientu ( $r$ ).



Obrázek 12: Grafické znázornění transformací prováděných v rámci Pelegova modelu: A – část zátěžové křivky použitá pro výpočet Pelegova modelu; B – normalizace hodnot  $F_t$  na  $Y_t$  (pomocí  $F_{\max}$ ); C – proložení linearizovaných hodnot  $t/Y_t$  regresní přímkou

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem mikrobiologických analýz bylo zjistit, jak se mění zastoupení vybraných skupin mikroorganismů eidamské cihly během 126denního zrání ve zracím sklepě, v porovnání s eidamskou cihlou, která zrála pouze 34 dní ve zracím sklepě a poté byla skladována v lednici až do 126. dne. Mikrobiologické analýzy spočívaly ve stanovení celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů (CPM), koliformních bakterií a bakterií mléčného kvašení (BMK). Analýzy byly prováděny ve dnech 0, 3, 34, 56, 84 a 126. Analýzy byly provedeny u vzorků, které byly:

- po celou dobu pokusu ve zracím sklepě při teplotách  $10 \pm 2$  °C (vzorky řady S),
- po 34 dnech ze zracího sklepa vytaženy a dále skladovány v lednici při teplotě  $4 \pm 2$  °C (vzorky řady L).

Cílem texturních analýz eidamské cihly bylo studovat texturní změny v jednotlivých částech sýru v průběhu 126denního zrání při teplotě obvyklé pro zrání tohoto typu sýru ( $10 \pm 2$  °C). Texturní vlastnosti byly studovány pomocí relaxačních testů, ze kterých byla odečtena  $F_{\max}$  (N), kterou lze považovat za ukazatel tvrdosti. Analýzy byly prováděny ve dnech 0, 3, 7, 14, 42, 84 a 126.

### 5.1 Výsledky mikrobiologické analýzy

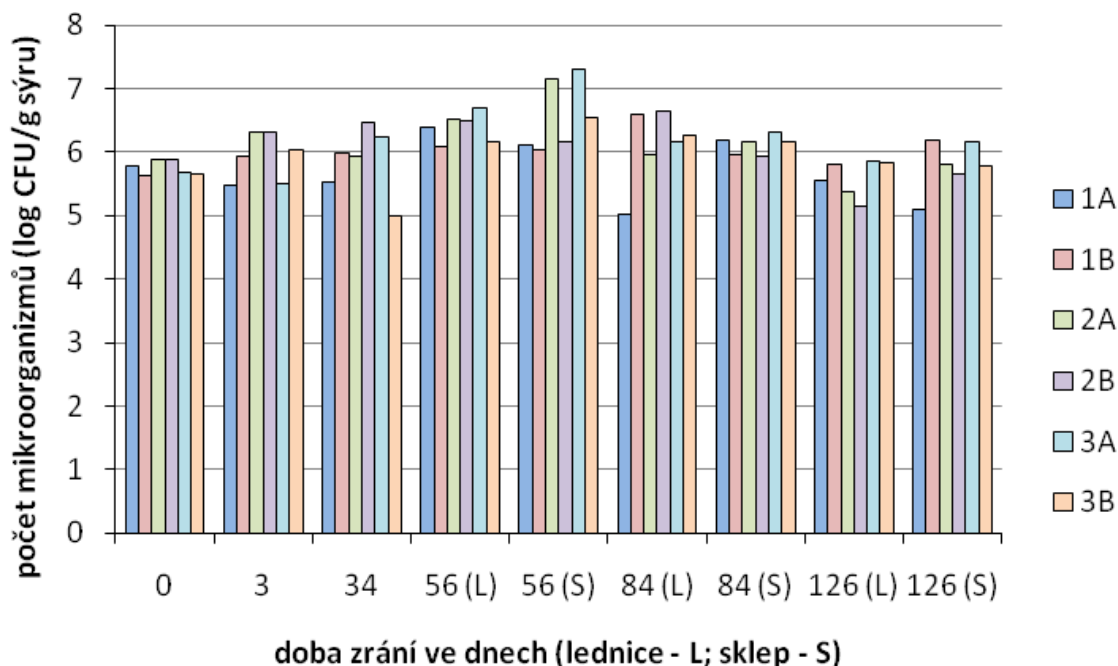
V rámci mikrobiologické analýzy byl stanoven celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů (CPM), počet koliformních bakterií a bakterií mléčného kvašení (BMK). Ve dni 0 byly stanoveny i pneumonády na PA (Pseudomonas agar), stafylokoky na MSA (mannitol salt agar) a salmonely a shigely na XLD (xylose lysine deoxycholate agar), ale ani jedna z těchto skupin bakterií nebyla v eidamské cihle prokázána, a proto nebyly dále stanovovány.

#### 5.1.1 Výsledky stanovení celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů

Byly sledovány změny CPM ve vrstvě I a III (střed) v jednotlivých plátech eidamské cihly v průběhu 126denního zrání ve zracím sklepě a u vzorků, které zrály pouze 34 dnů ve zracím sklepě a následně byly skladovány v lednici až do 126. dne. CPM bylo stanoveno plotnovou metodou na PCA (plate-count-agar). CPM byly přepočteny na 1 g sýru ( $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$



sýru). Hodnoty CFU na 1 g sýru jsou graficky znázorněny v grafu 1 (změny CPM v jednotlivých částech eidamské cihly v průběhu jejího zrání).



Graf 1: Grafické znázornění změn celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů v jednotlivých částech eidamské cihly v průběhu jejího zrání

Mikrobiologický rozbor prokázal, že se CPM postupně zvyšuje a poté opět klesá, jak u vzorků ponechaných po celou dobu ve zracím sklepě, tak i u vzorků, které byly ze sklepa 34. den přemístěny do lednice a v ní nadále skladovány. Na počátku zrání dosahuje CPM přibližně hodnot  $10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru, během zrání se zvyšuje až na hodnoty na  $10^7$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru a ke konci zrání opět klesá na hodnoty  $10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru. U vzorků ponechaných celou dobu ve zracím sklepě je nárůst CPM patrnější. Nejvyšších hodnot nabývá CPM 56. den zrání a to ve středovém plátu (3), konkrétně v jeho okrajové části (A). CPM se zvyšuje od krajního plátu (1) směrem ke středu (3) a v okrajových částech (A) jsou sledovány vyšší hodnoty CPM, nežli v části středové (B).

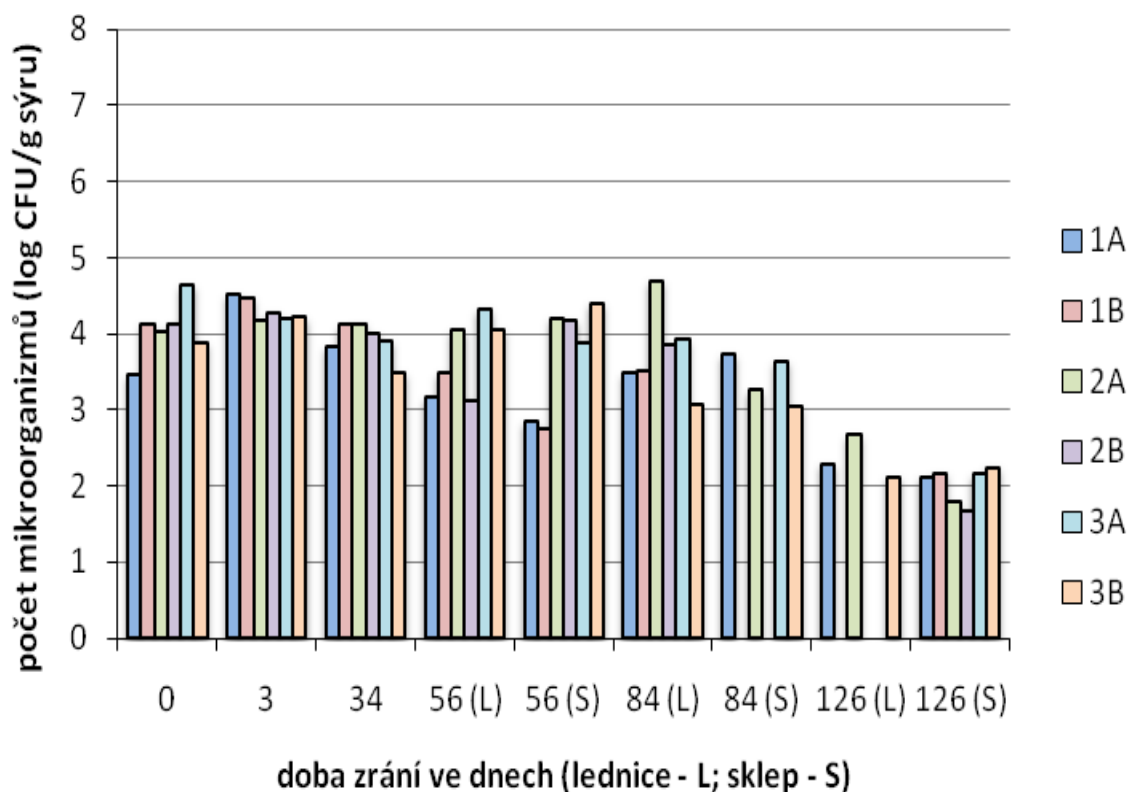
U vzorků sýrů, které byly 34. den přemístěny ze zracího sklepa do lednice, dosahuje CPM nejvyšších hodnot mezi 56. až 84. dnem skladování v lednici a to konkrétně ve středovém plátu (3) a jeho okrajové části (A) a v plátu 2 a jeho středové části (B). CPM se i v tomto případě zvyšuje od krajního plátu (1) směrem ke středu (3) a v okrajových částech (A) jsou

sledovány vyšší hodnoty CPM než v částech středových (B). Výjimkou je plát 2, kde jsou vyšší hodnoty CPM pozorovány naopak v jeho středové části.

V 56. dni byly u vzorků uskladněných od 34. dne v lednici přítomny i kvasinky, jejichž nárůst rozlezlých světlých kolonií byl pozorován na živné půdě PCA i M17 agar.

### 5.1.2 Výsledky stanovení koliformních bakterií

Byl sledován růst koliformních bakterií ve vrstvě I a III (střed) v jednotlivých plátech eidamské cihly v průběhu jejího 126denního zrání ve zracím sklepě a u vzorků, které zrály pouze 34 dnů ve zracím sklepě a následně byly skladovány v lednici až do 126. dne. Koliformní bakterie byly stanoveny plotnovou metodou na EA (Endův agar). Koliformní bakterie byly přepočteny na 1 g sýru ( $\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$  sýru). Hodnoty CFU na 1 g sýru jsou graficky znázorněny v grafu 2 (změny v počtu koliformních bakterií v jednotlivých částech eidamské cihly v průběhu jejího zrání).

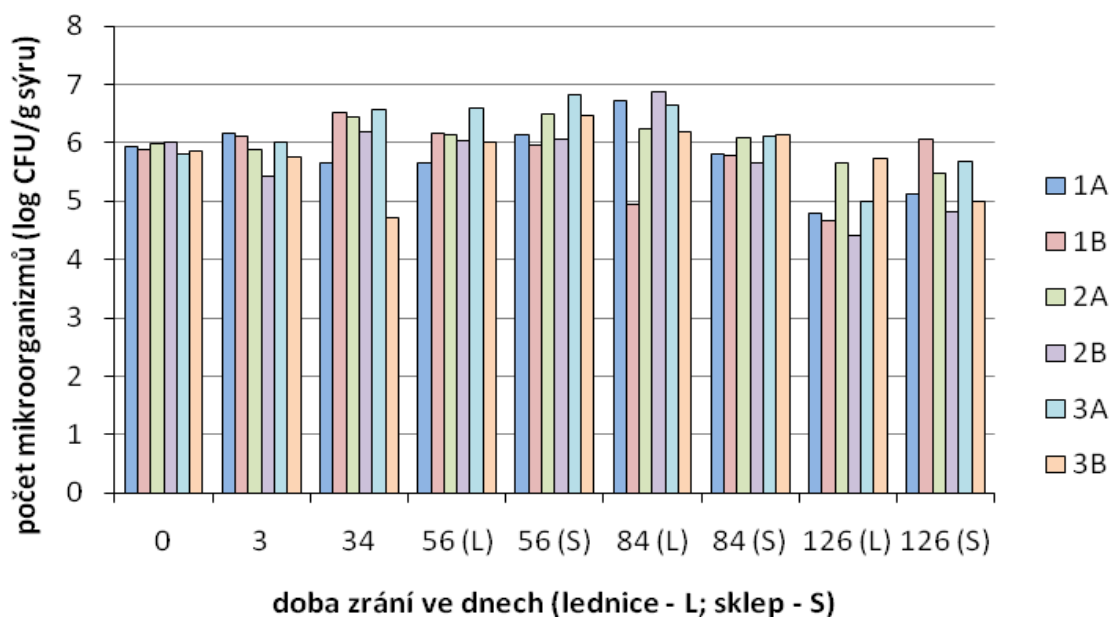


Graf 2: Grafické znázornění změn v počtu koliformních bakterií v jednotlivých částech eidamské cihly v průběhu jejího zrání (1B a 2B u 84 (S) a 1B, 2B a 3A u 126 (L) nebyly detekovány žádné koliformní bakterie)

Mikrobiologický rozbor prokázal, že se počet koliformních bakterií v průběhu zrání postupně snižuje, jak u vzorků ponechaných po celou dobu zrání ve zracím sklepě, tak i u vzorků, které byly 34. den přemístěny ze zracího sklepa do lednice a v ní i nadále skladovány až do 126. dne. Na počátku zrání dosahuje počet koliformních bakterií hodnot nad  $10^4$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru a postupně klesá až na hodnoty kolem  $10^2$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru, v některých částech eidamské cihly ke konci zrání či skladování v lednici nebyly detekovány žádné koliformní bakterie. Více koliformních bakterií se u obou vzorků nachází v okrajových vrstvách (A), nežli ve středu (B). Větší pokles koliformních bakterií u vzorků řady S je pozorován po 56. dni zrání a u vzorků řady L je pokles koliformních bakterií patrnější až po 84. dni skladování.

### 5.1.3 Výsledky stanovení bakterií mléčného kvašení

Byl sledován růst BMK ve vrstvách I a III (střed) v jednotlivých plátech eidamské cihly v průběhu 126denního zrání ve zracím sklepě a u vzorků, které zrály pouze 34 dnů ve zracím sklepě a následně byly skladovány v lednici až do 126. dne. BMK byly stanoveny plotnovou metodou na agaru M17. BMK byly přepočteny na 1 g sýru (CFU.g<sup>-1</sup> sýru). Hodnoty CFU na 1 g sýru jsou graficky znázorněny v grafu 3 (změny v počtu BMK v jednotlivých částech eidamské cihly v průběhu jejího zrání).



Graf 3: Grafické znázornění změn v počtu bakterií mléčného kvašení v jednotlivých částech eidamské cihly v průběhu jejího zrání

Mikrobiologický rozbor prokázal, že se počet BMK postupně zvyšuje a poté opět klesá, jak u vzorků ponechaných celou dobu ve zracím sklepe, tak i u vzorků, které byly 34. den přemístěny ze zracího sklepa do lednice a v ní i nadále skladovány. Na počátku zrání dosahuje počet BMK hodnot  $10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru. U obou vzorků se v průběhu zrání či skladování zvyšuje až k hodnotám  $10^7$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru a poté postupně klesá pod hodnotu  $10^5$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru. U vzorků ponechaných po celou dobu ve zracím sklepe dosahuje počet BMK nejvyšších hodnot mezi 34. až 56. dnem zrání. A u vzorků, které byly 34. den přemístěny do lednice, dosahuje počet BMK nejvyšších hodnot mezi 56. až 84. dnem skladování. Počet BMK se postupně zvyšuje od krajního plátu (1) směrem ke středu (3). Vyšší počet BMK je pozorován v okrajových vrstvách (A), nežli ve středu (B), výjimkou je plát 2 a jeho středová část (B) u vzorků řady L (34. den byly přemístěny ze zracího sklepa do lednice a v ní skladovány až do 126. dne), který dosahuje nejvyšších hodnot v počtu BMK.

## 5.2 Výsledky texturní analýzy

Pro hodnocení vybraných texturních parametrů byl použit analyzátor textury TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Velká Británie). Z grafického znázornění závislosti síly  $F_t$  na čase  $t$  byla získána tzv. zátěžová křivka, ze které byla odečtena maximální síla  $F_{max}$  (N), která je považována za ukazatel tvrdosti. Hodnoty  $F_{max}$  v jednotlivých testovaných plátech (1, 2 a 3) jsou zaznamenány v tabulce 1 (hodnoty  $F_{max}$  v jednotlivých pozicích plátu 1 v průběhu zrání eidamské cihly), v tabulce 2 (hodnoty  $F_{max}$  v jednotlivých pozicích plátu 2 v průběhu zrání eidamské cihly) a v tabulce 3 (hodnoty  $F_{max}$  v jednotlivých pozicích plátu 3 v průběhu zrání eidamské cihly). Směrodatná odchylka se pohybovala v intervalu 3 – 8 % ( $n = 2$ ).

Hodnoty tvrdosti získané v jednotlivých pozicích reprezentující úseky ve všech 3 testovaných plátech v průběhu 126denního zrání při teplotě  $10 \pm 2$  °C jsou graficky znázorněny v příloze VI. Grafické zpracování lépe znázorňuje změnu tvrdosti v jednotlivých pozicích během 126denního zrání.

Tabulka 1: Hodnoty  $F_{\max}$  (N) v jednotlivých pozicích plátu 1 v průběhu zrání

Pozice/Den	1	4	7	14	42	84	126
1	4,0	12,9	13,0	10,7	6,8	4,9	5,0
2	4,6	13,9	12,7	10,2	6,7	4,3	4,1
3	4,4	13,7	12,6	10,6	6,1	5,0	4,9
4	4,8	13,7	12,5	10,6	6,4	4,4	4,1
5	4,1	12,3	12,2	10,8	6,1	4,6	5,0
6	3,2	11,1	9,2	4,4	4,2	2,7	2,4
7	5,0	10,7	9,3	4,1	3,8	3,0	2,6
8	4,7	10,8	9,5	4,1	3,8	2,6	2,7
9	4,2	10,7	9,4	4,3	3,5	2,5	2,8
10	4,8	10,1	9,7	4,7	3,4	2,7	2,8
11	4,9	10,8	9,2	4,8	3,8	2,2	2,3
12	4,1	6,3	7,6	3,2	2,2	2,5	2,5
střed	4,6	6,4	5,3	3,2	2,8	2,4	2,0

Tabulka 2: Hodnoty  $F_{\max}$  (N) v jednotlivých pozicích plátu 2 v průběhu zrání

Pozice/Den	1	4	7	14	42	84	126
1	4,5	13,2	12,5	9,6	5,9	4,7	4,5
2	4,0	13,4	12,3	9,7	5,9	4,9	5,0
3	4,1	12,3	12,1	9,9	5,7	4,3	4,7
4	4,4	13,0	12,3	9,0	5,1	5,0	4,2
5	4,6	12,7	12,2	9,9	5,5	4,1	4,6
6	5,0	11,7	6,1	5,2	3,0	2,3	2,3
7	4,5	5,0	5,2	4,9	3,9	2,4	2,6
8	4,4	5,1	6,0	4,8	3,6	2,8	2,7
9	4,5	5,9	6,0	4,6	3,3	3,0	2,2
10	4,7	5,3	5,2	4,7	3,3	2,9	2,7
11	4,8	5,2	5,6	4,3	3,6	3,0	2,8
12	5,0	4,2	4,3	3,3	2,5	2,6	2,3
střed	4,5	3,3	3,1	3,1	2,9	2,7	2,6

Tabulka 3: Hodnoty  $F_{\max}$  (N) v jednotlivých pozicích plátu 3 v průběhu zrání

Pozice/Den	1	4	7	14	42	84	126
1	4,0	12,6	10,9	9,8	4,8	4,5	4,9
2	4,5	12,5	11,0	9,5	4,7	4,6	4,6
3	4,6	12,5	10,6	9,5	4,4	4,3	4,6
4	4,6	12,9	10,4	9,1	4,2	4,2	5,0
5	4,4	13,1	10,3	9,5	4,7	4,8	4,9
6	4,3	10,9	6,1	4,7	3,9	2,2	2,8
7	4,6	4,5	5,4	4,8	3,3	2,4	2,6
8	4,5	4,1	5,6	4,6	3,2	2,8	2,8
9	4,0	4,8	5,6	4,5	3,7	2,2	2,3
10	5,0	4,8	5,4	4,7	3,1	2,6	2,8
11	4,9	4,9	5,6	4,8	3,8	2,0	2,7
12	4,9	3,6	4,3	3,7	2,2	2,6	2,2
střed	4,4	3,5	2,9	2,9	2,5	2,6	2,5

V den 0 (den, kdy byly vyrobeny eidamské cihly) byla tvrdost sýrů před vložením do solné lázně v jednotlivých pozicích ve všech plátech (1, 2 a 3) podobná a odpovídala hodnotám v intervalu 4,0 – 5,0 N.

Čtvrtý den po výrobě (den 4), kdy byly sýry už vysoleny, se pevnost ve všech testovaných plátech v pozicích 1 až 5 výrazně zvýšila na hodnoty v intervalu 12,3 až 13,9 N. U plátu 1, který je nejbližší okraji, se výrazně zvýšila i pevnost v pozicích 7 až 11 na hodnoty mezi 10,1 a 10,8 N. U plátu 2 byl tento nárůst taktéž sledován, ale jeho hodnoty dosahovaly pouze 5,0 – 5,9 N. U plátu 3 nedošlo v pozicích 7 až 11 k významnému zvýšení pevnosti ve srovnání se stejnými pozicemi ve dni 0 (den, kdy ještě nebyly sýry vysoleny). Pozice 6 ve všech testovaných plátech vykazovala čtvrtý den také vyšší pevnost než v den 0, ale na druhou stranu tato pozice byla měkčí než ostatní pozice ve vrstvě I. Pozice 12 a střed pouze u plátu 1 vykazovaly čtvrtý den taktéž vyšší tvrdost než v den 0, ale i tak byla tvrdost rapidně nižší než u jiných pozic ve vrstvě II. U plátu 2 nedošlo po čtyřech dnech v pozici 12 k významné změně pevnosti. U pozice 12 a střed v plátech 2 a 3 došlo po čtyřech dnech dokonce ke snížení pevnosti v porovnání se dnem 0, a to na 3,3 – 4,2 N.

Během dalších třech dnů (tj. sedmý den) se tvrdost v pozicích 1 až 5 v plátech 1 a 2 významně nezměnila. Taktéž se významně nezměnila pevnost v pozicích 7 až 12 u plátu 2. U středu plátu 1 a pozice 6 u všech testovaných plátů byl pozorován pokles pevnosti. Tvrdost pozice 12 plátu 1 se oproti čtvrtému dni výrazně zvýšila, a to na 7,6 N. U plátu 3 došlo ke snížení pevnosti v pozicích 1 až 6 a střed, naproti tomu pozice 7 až 12 vykazovaly zvýšení tvrdosti.

Do 42. dne docházelo postupně k poklesu pevnosti ve všech pozicích a ve všech testovaných plátech. Od 84. dne došlo k ustálení tvrdosti v pozicích 1 až 5 na hodnotách 4,1 až 5,0 N a u pozic 6 až střed na hodnotách 2,0 až 3,0 N. Tyto hodnoty pevnosti se v porovnání se 126. dnem již výrazně neměnily.

V tabulce 4 jsou uvedeny hodnoty parametrů  $k_1$  a  $k_2$  vypočtené metodou nelineární regrese ve 13 pozicích v jednotlivých plátech cihly v průběhu 126denního zrání. Pozice 1 až 5 byly vyjádřeny pomocí jedné hodnoty, protože rozdíly mezi 1., 2., 3., 4. a 5. místem byly nevýznamné ve všech plátech po celou dobu zrání. Stejná situace platí pro pozice 7 až 11.

Den	Plát	Pozice	$k_2$ – hodnota	$k_1$ – hodnota
0	1	1–5	$1.61 \pm 0.02^a A_a$	$7.69 \pm 0.26^a A_a$
		6	$1.58 \pm 0.01^{a,b} A_a$	$7.60 \pm 0.11^a A_a$
		7–11	$1.56 \pm 0.01^b A_a$	$7.45 \pm 0.14^a A_a$
		12	$1.54 \pm 0.01^b A_a$	$7.27 \pm 0.09^{a,b} A_a$
		střed	$1.56 \pm 0.01^b A_a$	$7.12 \pm 0.15^b A_a$
	2	1–5	$1.58 \pm 0.02^a A_a$	$7.50 \pm 0.50^a A_a$
		6	$1.56 \pm 0.01^{a,b} A_a$	$7.41 \pm 0.13^a A_a$
		7–11	$1.54 \pm 0.01^b A_a$	$7.31 \pm 0.21^{a,b} A_a$
		12	$1.53 \pm 0.01^b A_a$	$7.27 \pm 0.23^{a,b} A_a$
		střed	$1.53 \pm 0.01^b A_b$	$7.10 \pm 0.15^b A_a$
	3	1–5	$1.59 \pm 0.02^a A_a$	$7.71 \pm 0.26^a A_a$
		6	$1.57 \pm 0.01^a A_a$	$7.24 \pm 0.08^b A_b$

(Tabulka 4 – pokračování)

Den	Plát	Pozice	$k_2$ - hodnota	$k_1$ - hodnota
		7–11	$1.55 \pm 0.01^b A_a$	$7.31 \pm 0.13^b A_a$
		12	$1.51 \pm 0.02^c A_a$	$6.99 \pm 0.10^c A_b$
		střed	$1.53 \pm 0.01^{b,c} A_b$	$7.00 \pm 0.08^c A_a$
4	1	1–5	$1.89 \pm 0.02^a B_a$	$7.03 \pm 0.43^a B_a$
		6	$1.82 \pm 0.01^b B_a$	$6.63 \pm 0.09^b B_a$
		7–11	$1.83 \pm 0.01^b B_a$	$7.06 \pm 0.07^a B_a$
		12	$1.80 \pm 0.02^c B_a$	$6.97 \pm 0.19^a B_a$
		střed	$1.80 \pm 0.01^c B_a$	$7.06 \pm 0.11^a A_a$
	2	1–5	$1.84 \pm 0.02^a B_b$	$6.71 \pm 0.21^a B_a$
		6	$1.80 \pm 0.01^b B_a$	$7.18 \pm 0.24^b A_b$
		7–11	$1.73 \pm 0.01^c B_b$	$6.61 \pm 0.21^a B_b$
		12	$1.72 \pm 0.02^c B_b$	$6.62 \pm 0.19^a B_b$
		střed	$1.69 \pm 0.02^c B_b$	$6.53 \pm 0.17^a B_b$
	3	1–5	$1.82 \pm 0.03^a B_b$	$6.78 \pm 0.37^{a,b} B,C_a$
		6	$1.75 \pm 0.01^b B_b$	$6.51 \pm 0.22^a B_a$
		7–11	$1.73 \pm 0.01^b B_b$	$6.85 \pm 0.13^b B_b$
		12	$1.68 \pm 0.01^c B_c$	$6.55 \pm 0.29^{a,b} B_b$
		střed	$1.67 \pm 0.01^c B_b$	$6.50 \pm 0.10^a B_b$
7	1	1–5	$1.91 \pm 0.02^a B_a$	$7.17 \pm 0.25^a B_a$
		6	$1.82 \pm 0.01^b B_a$	$7.05 \pm 0.24^a C_a$
		7–11	$1.81 \pm 0.02^b B_a$	$6.60 \pm 0.29^b C_a$
		12	$1.78 \pm 0.01^c B_a$	$6.52 \pm 0.27^b C_a$
		střed	$1.74 \pm 0.02^c C_a$	$6.39 \pm 0.25^b B_a$



(Tabulka 4 – pokračování)

Den	Plát	Pozice	$k_2$ – hodnota	$k_1$ – hodnota
	2	1–5	$1.92 \pm 0.02^a C_a$	$7.60 \pm 0.39^a A_b$
		6	$1.82 \pm 0.01^b B_a$	$7.13 \pm 0.21^a A_a$
		7–11	$1.72 \pm 0.02^c B_b$	$6.46 \pm 0.19^b B, C_{a,b}$
		12	$1.67 \pm 0.01^d C_b$	$6.21 \pm 0.16^b C_b$
		střed	$1.60 \pm 0.01^e C, D_b$	$6.10 \pm 0.27^b B_{a,b}$
	3	1–5	$1.84 \pm 0.01^a B_b$	$7.32 \pm 0.23^a A, C_a$
		6	$1.81 \pm 0.01^b C_a$	$7.00 \pm 0.24^a A_a$
		7–11	$1.70 \pm 0.02^c B, C_b$	$6.37 \pm 0.22^b C_b$
		12	$1.66 \pm 0.01^d B, C_b$	$6.08 \pm 0.30^{b,c} B_b$
		střed	$1.60 \pm 0.01^e C, D_b$	$6.05 \pm 0.10^c C_b$
14	1	1–5	$1.78 \pm 0.03^a C_a$	$7.02 \pm 0.27^a B_a$
		6	$1.72 \pm 0.01^b C_a$	$6.85 \pm 0.16^a B, C_a$
		7–11	$1.66 \pm 0.01^c C_a$	$6.02 \pm 0.26^{b,c} D_a$
		12	$1.61 \pm 0.02^d C_a$	$5.91 \pm 0.24^b D_a$
		střed	$1.57 \pm 0.02^d D_a$	$6.08 \pm 0.11^c B, C_a$
	2	1–5	$1.88 \pm 0.03^a B, C_b$	$7.50 \pm 0.35^a A_b$
		6	$1.80 \pm 0.01^b B_b$	$6.26 \pm 0.24^b B_b$
		7–11	$1.73 \pm 0.02^c B_b$	$6.64 \pm 0.17^c B_b$
		12	$1.67 \pm 0.01^d C_b$	$6.33 \pm 0.18^b C_b$
		střed	$1.58 \pm 0.02^e C, E_a$	$5.64 \pm 0.34^c C_b$
	3	1–5	$1.85 \pm 0.02^a B_b$	$7.51 \pm 0.21^a A_b$
		6	$1.78 \pm 0.02^b B, C_b$	$7.39 \pm 0.25^a A_c$
		7–11	$1.67 \pm 0.01^c C_a$	$6.44 \pm 0.18^b C_b$

(Tabulka 4 – pokračování)

Den	Plát	Pozice	$k_2$ – hodnota	$k_1$ – hodnota
		12	$1.63 \pm 0.02^d C_a$	$6.17 \pm 0.15^{b,c} B_{a,b}$
		střed	$1.58 \pm 0.01^e C_a$	$5.96 \pm 0.37^c C_{a,b}$
42	1	1–5	$1.74 \pm 0.02^a C_a$	$6.63 \pm 0.26^a C_a$
		6	$1.70 \pm 0.01^b C_a$	$6.50 \pm 0.24^a B,D_a$
		7–11	$1.68 \pm 0.02^b C_a$	$6.36 \pm 0.21^{a,c} C,D_a$
		12	$1.63 \pm 0.01^c C,D_a$	$7.78 \pm 0.23^b E_a$
		střed	$1.59 \pm 0.01^d D,E_a$	$6.08 \pm 0.17^c B,C_a$
	2	1–5	$1.75 \pm 0.02^a D_b$	$6.84 \pm 0.19^a B_a$
		6	$1.73 \pm 0.02^{a,b} C_a$	$6.75 \pm 0.20^b C_b$
		7–11	$1.70 \pm 0.02^b B_a$	$6.35 \pm 0.13^c C_a$
		12	$1.63 \pm 0.01^c D_a$	$5.84 \pm 0.31^d D_b$
		střed	$1.62 \pm 0.01^c D_b$	$6.05 \pm 0.36^c B_a$
	3	1–5	$1.73 \pm 0.02^a D_a$	$6.85 \pm 0.15^a B_a$
		6	$1.65 \pm 0.01^b D_b$	$6.33 \pm 0.19^b B_c$
		7–11	$1.63 \pm 0.02^b D_b$	$6.07 \pm 0.16^b D_b$
		12	$1.66 \pm 0.01^b B,C_b$	$5.66 \pm 0.18^c C_b$
		střed	$1.60 \pm 0.01^c C,D_b$	$5.88 \pm 0.19^c C,D_a$
84	1	1–5	$1.76 \pm 0.02^a C_a$	$6.74 \pm 0.27^a C_a$
		6	$1.67 \pm 0.01^b D_a$	$6.25 \pm 0.22^b D_a$
		7–11	$1.64 \pm 0.02^b C_a$	$5.97 \pm 0.21^b D_a$
		12	$1.64 \pm 0.01^b D_a$	$5.47 \pm 0.19^c F_a$
		střed	$1.60 \pm 0.01^c E_a$	$5.96 \pm 0.26^b C_a$

(Tabulka 4 – pokračování)

Den	Plát	Pozice	$k_2$ – hodnota	$k_1$ – hodnota
	2	1–5	$1.76 \pm 0.02^a D_a$	$6.72 \pm 0.14^a B_a$
		6	$1.66 \pm 0.01^b D_a$	$5.96 \pm 0.20^b B_{a,b}$
		7–11	$1.64 \pm 0.02^b C_a$	$5.86 \pm 0.13^b D_a$
		12	$1.65 \pm 0.02^b C,D_{a,b}$	$5.33 \pm 0.21^c D,E_{a,b}$
		core	$1.63 \pm 0.02^b D_a$	$5.86 \pm 0.31^b B,C_a$
	S3	1–5	$1.73 \pm 0.02^a D_a$	$6.48 \pm 0.24^a B_b$
		6	$1.62 \pm 0.01^b E_b$	$5.90 \pm 0.22^b C_b$
		7–11	$1.60 \pm 0.03^b D,E_a$	$5.55 \pm 0.18^c E_b$
		12	$1.62 \pm 0.01^b C_b$	$5.07 \pm 0.25^d D_b$
		střed	$1.61 \pm 0.01^b D_b$	$5.57 \pm 0.28^c D_b$
126	1	1–5	$1.73 \pm 0.03^a C_a$	$6.49 \pm 0.33^a C_a$
		6	$1.58 \pm 0.02^b A_a$	$5.97 \pm 0.20^b D_a$
		7–11	$1.56 \pm 0.03^b A_a$	$4.37 \pm 0.34^c E_a$
		12	$1.57 \pm 0.02^b A_a$	$4.89 \pm 0.21^{c,d} G_a$
		střed	$1.54 \pm 0.02^b A_a$	$5.18 \pm 0.25^d D_a$
	2	1–5	$1.72 \pm 0.02^a D_a$	$6.23 \pm 0.11^a C_a$
		6	$1.61 \pm 0.03^b D_a$	$6.03 \pm 0.21^a B_a$
		7–11	$1.60 \pm 0.02^b C_a$	$5.41 \pm 0.27^b E_b$
		12	$1.57 \pm 0.01^b E_a$	$5.09 \pm 0.30^b E_a$
		střed	$1.56 \pm 0.02^b A,E_a$	$5.13 \pm 0.23^b D_a$
	3	1–5	$1.70 \pm 0.02^a D_a$	$5.97 \pm 0.15^a D_a$
		6	$1.55 \pm 0.01^b A_a$	$5.83 \pm 0.20^a C_a$
		7–11	$1.58 \pm 0.02^b A,E_a$	$5.31 \pm 0.18^b E_b$

(Tabulka 4 – pokračování)

Den	Plát	Pozice	$k_2$ – hodnota	$k_1$ – hodnota
		12	$1.56 \pm 0.01$ <sup>b</sup> D <sub>a</sub>	$5.20 \pm 0.24$ <sup>b</sup> D <sub>a</sub>
		střed	$1.53 \pm 0.03$ <sup>b</sup> A <sub>a</sub>	$5.04 \pm 0.20$ <sup>b</sup> E <sub>a</sub>

Tabulka 4: Hodnoty parametrů  $k_1$  a  $k_2$  vypočtené podle Pelegových modelů ze zá-  
těžové křivky ve 13 pozicích ( $n = 2$ , průměr  $\pm$  SD) v jednotlivých plátech eidam-  
ské cihly (1, 2 a 3)

Z hodnocení parametru  $k_2$  vyplývá, že v důsledku solení sýrů (srovnány hodnoty 0. a 4. dne) dojde k významnému zvýšení elasticity testovaných eidamských cihel, a to ve všech plátech i ve všech pozicích. V dalších dnech zrání došlo při posuzování jednotlivých pozic ve všech testovaných plátech k postupnému snižování elastické složky eidamských cihel. K tomuto snižování docházelo i ke konci zrání, konkrétně mezi 84. a 126. dnem, kdy již hodnoty pevnosti nevykazovaly významné změny. Pozice 1 až 5 v jednotlivých testovaných plátech vykazovaly vyšší hodnoty elasticity ve srovnání s ostatními pozicemi a to po celou dobu 126denního zrání. Naproti tomu střed sýru měl po celou dobu zrání nižší hodnoty elastické složky ve srovnání s ostatními pozicemi v jednotlivých testovaných plátech (výjimkou je den 0). Podobně jako u tvrdosti, pozice 6 a 12 vykazovaly významně nižší hodnoty elastické složky ve srovnání s ostatními pozicemi v příslušné vrstvě. Z analýzy rozptylu (ANOVA) také vyplynulo, že se vývoj elasticity v jednotlivých plátech v průběhu 126denního zrání odlišoval. Vývoj hodnot parametru  $k_1$  byl do jisté míry totožný se změnami  $k_2$  ( $r = 0,3719$ ). Také závislost hodnot  $k_1$  a pevnosti, posuzovaná Pearsonovým korelačním koeficientem, je nižší ( $r = 0,4888$ ) než závislost mezi  $k_2$  a pevností ( $r = 0,7662$ ).

Hodnoty  $F_{\max}$  všech testovaných plátů byly vyneseny do grafů a podrobeny regresní analýze. Pro každý testovaný plát byl zhotoven vždy jeden graf pro pozici 1 až 6, druhý pro pozici 7 až 12 a třetí pro pozici střed. Nejlépe dané hodnoty  $F_{\max}$  popisuje logaritmická regrese. Hodnoty  $F_{\max}$  byly podrobeny i polynomické regresi 2. a 3. stupně, ale tyto modely se na základě hodnotících parametrů neukázaly jako vhodné. Rovnice logaritmické regresní křivky a hodnoty indexu determinance  $R^2$  jsou uvedeny v tabulce 5 pro plát 1, v tabulce 6 pro plát 2 a v tabulce 7 pro plát 3.

Tabulka 5: Rovnice logaritmické regrese a hodnoty spolehlivosti R pro plát 1

Pozice	Rovnice regrese	R <sup>2</sup>
1	$y = -2,67\ln(x) + 17,32$	0,9668
2	$y = -3,01\ln(x) + 18,18$	0,9913
3	$y = -2,82\ln(x) + 17,74$	0,9737
4	$y = -3,01\ln(x) + 18,16$	0,9880
5	$y = -2,55\ln(x) + 16,57$	0,9446
6	$y = -2,42\ln(x) + 13,31$	0,8675
7	$y = -2,30\ln(x) + 12,87$	0,8355
8	$y = -2,36\ln(x) + 13,05$	0,8309
9	$y = -2,38\ln(x) + 13,05$	0,8507
10	$y = -2,29\ln(x) + 12,82$	0,8614
11	$y = -2,49\ln(x) + 13,40$	0,9057
12	$y = -1,41\ln(x) + 8,50$	0,7100
střed	$y = -1,19\ln(x) + 7,45$	0,8801

Tabulka 6: Rovnice logaritmické regrese a hodnoty spolehlivosti R pro plát 2

Pozice	Rovnice regrese	R <sup>2</sup>
1	$y = -2,79\ln(x) + 17,22$	0,9758
2	$y = -2,70\ln(x) + 17,06$	0,9674
3	$y = -2,61\ln(x) + 16,40$	0,9561
4	$y = -2,73\ln(x) + 16,75$	0,9519
5	$y = -2,74\ln(x) + 16,84$	0,9568
6	$y = -2,33\ln(x) + 12,48$	0,8129
7	$y = -0,84\ln(x) + 6,66$	0,8839

(Tabulka 6 – pokračování)

Pozice	Rovnice regrese	R <sup>2</sup>
8	$y = -0,9\ln(x) + 7,03$	0,8909
9	$y = -1,11\ln(x) + 7,67$	0,9673
10	$y = -0,83\ln(x) + 6,63$	0,9733
11	$y = -0,81\ln(x) + 6,63$	0,9305
12	$y = -0,60\ln(x) + 5,11$	0,8991
střed	$y = -0,2\ln(x) + 3,59$	0,9478

Tabulka 7: Rovnice logaritmické regrese a hodnoty spolehlivosti R pro plát 3

Pozice	Rovnice regrese	R <sup>2</sup>
1	$y = -2,51\ln(x) + 15,86$	0,9279
2	$y = -2,51\ln(x) + 15,74$	0,9410
3	$y = -2,52\ln(x) + 15,61$	0,9255
4	$y = -2,52\ln(x) + 15,62$	0,8955
5	$y = -2,45\ln(x) + 15,64$	0,9123
6	$y = -2,03\ln(x) + 11,52$	0,7938
7	$y = -0,79\ln(x) + 6,33$	0,8128
8	$y = -0,67\ln(x) + 5,96$	0,7058
9	$y = -0,93\ln(x) + 6,79$	0,8653
10	$y = -0,81\ln(x) + 6,49$	0,8759
11	$y = -0,91\ln(x) + 6,84$	0,8293
12	$y = -0,55\ln(x) + 4,83$	0,7607
střed	$y = -0,26\ln(x) + 3,63$	0,8213

Absolutní členy logaritmické regrese vykazují vyšší hodnoty v povrchových vrstvách (pozice 1 až 5) ve srovnání s ostatními pozicemi sýru, a to ve všech 3 testovaných plátech eidamské cihly. Naproti tomu násobky logaritmu vykazují ve všech 3 testovaných plátech v povrchových vrstvách nejnižší hodnoty ve srovnání se zbylými vrstvami eidamské cihly. Směrem od plátu 1 k plátu 3 dochází k postupnému vyrovnávání hodnot násobků logaritmu i absolutních členů v těchto 5 pozicích, kdy u plátu 3 mají tyto pozice téměř stejné hodnoty. Nejvyšší hodnoty absolutních členů logaritmické regrese jsou zaznamenány v povrchových vrstvách plátu 1. Pozice 6 vykazuje u všech 3 testovaných plátů nejnižší hodnoty absolutních členů logaritmické regrese a nejvyšší hodnoty násobků logaritmu, co se týče povrchové vrstvy (vrstva I). Pozice 7 až 11 vykazují u všech 3 testovaných plátů taktéž podobné hodnoty absolutních členů i násobků logaritmu, ale plát 1 vykazuje výrazně vyšší hodnoty absolutních členů a nižší hodnoty násobků logaritmu v porovnání s plátem 2 a 3. Vrstva II má v porovnání s vrstvou I o poznání nižší hodnoty absolutních členů logaritmické regrese a výrazně vyšší hodnoty násobků logaritmu. Pozice 12 vykazuje obdobně jako pozice 6 výrazně nižší hodnoty absolutních členů logaritmické regrese a výrazně vyšší hodnoty násobku logaritmu, co se týče vrstvy II. Střed má u všech 3 testovaných plátů nejnižší hodnoty absolutních členů logaritmické regrese, ale u plátu 1 je tato hodnota opět mnohem vyšší, nežli u plátu 2 a 3. Na druhou stranu střed vykazuje nejvyšší hodnoty násobků logaritmu ve všech 3 testovaných plátech, ale u plátu 1 je tato hodnota nejnižší.

### 5.3 Diskuze

Během zracího pokusu sýrů eidamského typu byly sledovány změny obsahu vybraných skupin mikroorganismů (celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, koliformní bakterie a bakterie mléčného kvašení) za 2 odlišných skladovacích teplot (zrací sklep  $10 \pm 2$  °C a lednice  $4 \pm 2$  °C) a změny texturních parametrů při teplotě obvyklé pro zrání tohoto typu sýru ( $10 \pm 2$  °C).

Během zracího pokusu byly zaznamenány změny v CPM, v počtu koliformních bakterií i v počtu BMK. Před vysolením eidamských sýrů byla hodnota CPM i BMK kolem  $10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru a hodnota počtu koliformních bakterií  $10^4$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru.

Během zrání se hodnoty CPM i BMK postupně zvyšují a poté opět klesají u vzorků řady L i S, ovšem u vzorků řady S nárůst i pokles nastává dříve. CPM postupně dosahuje hodnot až  $10^7$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru a k závěru 126denního zrání, případně skladování, opět klesá na hod-

noty kolem  $10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru. Nejvyšších hodnot CPM dosahuje 56. den zrání u vzorků řady S a u vzorků řady L až mezi 56. a 84. dnem skladování, což je dáno nižší teplotou, která není optimální pro růst CPM. CPM se postupně zvyšuje od krajního plátu směrem ke středu a vyšší hodnoty CPM jsou sledovány ve vrstvě I, nežli ve vrstvě III (střed), což je dáno tím, že se jedná o aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy.

Počet BMK u vzorků řady S i L dosahuje v průběhu zrání či skladování hodnot až  $10^7$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru a po 126 dnech klesá k hodnotám  $10^5$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru. Nejvyšších hodnot BMK dosahuje mezi 34. a 56. dnem zrání u vzorků řady S a u vzorků řady L mezi 56. a 84. dnem skladování, což je dáno nižší teplotou, při které jsou vzorky skladovány, BMK jsou sice mezofilní mikroorganismy, ale jsou schopny růst i při teplotách nižších než 5 °C. Počet BMK se postupně zvyšuje od krajního plátu směrem ke středu a vyšší hodnoty BMK jsou sledovány rovněž ve vrstvě I, nežli ve vrstvě III (střed), i přestože BMK patří mezi aerotolerantní či anaerobní bakterie.

Počet koliformních bakterií se během zrání a případného skladování pouze snižuje až na hodnoty  $10^2$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru (v některých částech nebyly ke konci zrání či skladování dokonce detekovány žádné koliformní bakterie), což je pravděpodobně způsobeno nízkou teplotou (koliformní bakterie patří mezi mezofilní bakterie, rostou v teplotním rozmezí 18 – 40 °C, optimální teplota je 37 °C [13]), obsahem soli a nízkým pH, které snižuje kyselina mléčná produkovaná LAB. Více koliformních bakterií bylo obsaženo v okrajových vrstvách, nežli ve středu a to díky tomu, že koliformní bakterie patří mezi fakultativně anaerobní mikroorganismy. U vzorků řady S byl větší pokles koliformních bakterií sledován po 56. dni zrání a u vzorků řady L až po 84. dni skladování.

Před vložením eidamských cihel do solné lázně byly hodnoty tvrdosti v jednotlivých plátech i pozicích vyrovnané. Z parametru  $k_2$  (ukazatel elastické složky materiálu) vyplývá, že pozice 1 až 5 vykazovaly nepatrně vyšší elastickou složku, což může souviset s procesem lisování. V průběhu solení (difuze NaCl do hmoty sýra) došlo k významnému nárůstu tvrdosti i parametru  $k_2$  v pozicích sýra, které jsou v přímém styku se solnou lázní (pozice 1 až 5 ve všech testovaných plátech). Pozice 6 až 13 v plátu 1 vykazovaly významně vyšší tvrdost i parametr  $k_2$  ve srovnání se stejnými pozicemi v plátu 2 a 3. Toto je možné vysvětlit rychlejší difuzí NaCl do plátu 1, jelikož sem nepronikala pouze sůl z vrstvy I, ale také z čelní strany cihly, ke které má nejblíže právě plát 1. Tyto poznatky jsou v souladu s Fox,



Guinee a Cogab [5], kteří uvádějí, že obsah NaCl a poměr soli k vlhkosti podstatně ovlivní texturní vlastnosti sýru.

V průběhu zrání probíhají 2 základní procesy, které ovlivňují texturu eidamských cihel: difuze NaCl (se zvyšující se koncentrací NaCl v sýru se zvyšuje i tvrdost a elastická složka a naopak) a proteolytické změny kaseinů, které mají za následek snižování tvrdosti i elastické složky [5, 21, 43, 45]. V prvních 7 až 14 dnech nejspíše docházelo k intenzivní difuzi NaCl od kraje (pozice 1 až 5) směrem do středu ve všech plátech ve směru koncentračního spádu, což způsobilo snížení tvrdosti i elastické složky v pozicích 1 až 5 a naopak zvýšení tvrdosti i elastické složky v pozicích 6 až 12 a střed. Výjimkou byl střed u plátu 3, kde byla difuze NaCl pomalejší a v prvních dnech měly na tvrdost i elastickou složku pravděpodobně větší vliv proteolytické změny. Od 14. dne dochází ke snižování tvrdosti i elastické složky, což je nejspíše způsobeno proteolytickými procesy. Tento poznatek je v souladu s Delgado [45], Topçu a Saldamli [43]. I po 126 dnech zrání byly pozorovány významně vyšší hodnoty tvrdosti i elastické složky v pozicích 1 až 5 ve srovnání s ostatními pozicemi ve všech testovaných plátech.

Významný je i vývoj pozice 6 (a do dne 42 i vývoj pozice 12) ve všech 3 testovaných plátech v průběhu zrání. Tvrdost i elastická složka ( $k_2$ ) vykazovaly významně nižší hodnoty než ostatní pozice ve vrstvě I (1 – 5) a v případě pozice 12 ve vrstvě II (7 – 11), což lze nejspíše přisoudit tomu, že tyto pozice nejsou v přímém kontaktu se solnou lázní (eidamské cihly v solné lázni leží na desce) a NaCl sem nemůže pronikat přímo, ale pouze ze sousedních pozic reprezentovaných především pozicemi 1 a 5. Nižší obsah NaCl pak může ovlivnit růst a metabolismus bakterií mléčného kvašení i proteolytické reakce [57].

## ZÁVĚR

Diplomová práce byla zaměřena na sledování změn vybraných skupin mikroorganismů (celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů, koliformní bakterie a bakterie mléčného kvašení) a texturních parametrů (tvrdost a elastická složka) v průběhu zrání sýrů eidamského typu.

Praktická část demonstrovala zrací pokus eidamských sýrů. Šarže vyrobených eidamských cihel byla po výrobě skladována ve zracím sklepě za teplot  $10 \pm 2$  °C. Po 34 dnech byla část eidamských cihel ze zracího sklepa vyskladněna a dále skladována za teplot  $4 \pm 2$  °C.

Během zracího pokusu byla prováděna mikrobiologická analýza u vzorků, které byly po celou dobu zrání ve zracím sklepě i u vzorků, které byly 34. den vyskladněny do lednice. Dále byly stanovovány vybrané texturní parametry pouze u vzorků, které byly po celou dobu zrání ve zracím sklepě.

Byly zjištěny následující výsledky:

- celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů se během zrání, respektive skladování, zvyšuje z původních hodnot  $10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru na hodnoty nad  $10^7$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru a v závěru zrání, respektive skladování, klesá opět na hodnoty kolem  $10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru,
- počet bakterií mléčného kvašení se během zrání, respektive skladování, zvyšuje z původních hodnot  $10^6$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru až k hodnotám  $10^7$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru a v závěru zrání, respektive skladování, klesá pod hodnoty  $10^5$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru,
- počet koliformních bakterií se během zrání, respektive skladování, pouze snižuje a to z hodnot  $10^4$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru na hodnoty  $10^2$  CFU.g<sup>-1</sup> sýru,
- více mikroorganismů, ať již se jednalo o CPM či počet BMK nebo počet koliformních bakterií, bylo pozorováno ve vrstvě I u všech testovaných plátů a počet mikroorganismů se zvyšoval od plátu 1 směrem k plátu 3,
- vývoj texturních parametrů není v jednotlivých částech sýra stejný, ale liší se v jednotlivých plátech i pozicích sýra,
- i po 126 dnech zrání byla tvrdost i elastická složka povrchových vrstev odlišná od zbytku sýru, a to ve všech 3 testovaných plátech,

- okrajové části eidamských bloků zůstávají tvrdší v porovnání s ostatními částmi bloků sýrů,
- střed sýru měl po celou dobu pokusu ve všech 3 testovaných plátech nižší hodnoty tvrdosti ve srovnání s povrchovými pozicemi sýru,
- k hlavním faktorům ovlivňujícím texturní vlastnosti pravděpodobně patří difuze NaCl a proteolytické procesy.

Závěrem diplomové práce lze říci, že změny v počtu vybraných skupin mikroorganismů v jednotlivých částech eidamské cihly nastávají jak při zrání ve zracím sklepě ( $10 \pm 2$  °C), tak i při skladování v lednici ( $4 \pm 2$  °C), ovšem při vyšší teplotě nastává nárůst i pokles CFU.g<sup>-1</sup> sýru dříve. K úplnému vyrovnání texturních parametrů u eidamských cihel nedojde ani po 126 dnech zrání. V prvních 14 dnech zrání ovlivňuje texturní vlastnosti především difuze NaCl a po zbývající dobu zrání ovlivňují texturní parametry probíhající proteolytické reakce.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb. pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje, v platném znění.
- [2] *Mlékárenská technologie II.*; dostupná na Internetu: [cit:2010-10-07] [http://utb-fles.cepac.cz/moduly/M0029\\_mlekarenska\\_technologie/distančni\\_text\\_II/M0029\\_mlekarenska\\_technologie\\_distančni\\_text\\_ii.pdf](http://utb-fles.cepac.cz/moduly/M0029_mlekarenska_technologie/distančni_text_II/M0029_mlekarenska_technologie_distančni_text_ii.pdf).
- [3] HRABĚ, J., BŘEZINA, P., VALÁŠEK, P.: *Technologie výroby potravin živočišného původu*, UTB, Zlín, 2008, ISBN 978-80-7318-405-6.
- [4] PAVELKA, A.: *Mléčné výrobky pro vaše zdraví*, Littera, Brno, 1996, ISBN 80-85763-09-5.
- [5] FOX, P.F., GUINEE, T.P., COGAB, T.M.: *Fundamentals of cheese science*, Aspen Publisher, Inc. Maryland, 2000, ISBN 0-8342-1260-9.
- [6] GAJDŮŠEK, S.: *Laktologie*, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Agronomická fakulta, Brno, 2003, ISBN 80-7157-657-3.
- [7] ŠTUMPF, E. a kolektiv: *Sýry - druhy a recepty*, Ikar, Praha, 2006, ISBN 80-249-0756-9.
- [8] KADLEC, P. a kolektiv: *Technologie potravin II.*, Vydavatelství VŠCHT, Praha, 2007, ISBN 80-7080-510-2.
- [9] FOX, P.F., McSWEENEY P.L.H.: *Dairy Chemistry and Biochemistry*, Springer-Verlag, 1998, ISBN 978-0-412-72000-0.
- [10] BYLUND, G.M.: *Science Dairy processing handbook*, Publisher: TetraPak Pro ceseing systems ABS – 22186 Lund, Sweden – Printed in 1995.
- [11] WILKINSON, M.G.: Acceleration of cheese ripening, In P.F. Fox (Ed.), *Cheese: Chemistry, physics and mikrobiologie*, London: Champan & Hall, 1993.
- [12] ŽIŽKA, B., MARTINKOVÁ, Z.: *Mikrobiologie pro 4. ročník SPŠ mlékárenské*, SNTL – Nakladatelství technické literatury, Praha, 1980.
- [13] ŽIŽKA, B., KORBELOVÁ, M.: *Mikrobiologie I. pro SPŠ potravinářské*, Tiskařské závody, s.p., Příbram, Praha, 1992.

- [14] *Mlékárenská technologie I.*; dostupná na Internetu: [cit:2010-11-11] [http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0029\\_mlekarenska\\_tehnologie/distancni\\_text/M0029\\_mlekarenska\\_tehnologie\\_distancni\\_text.pdf](http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0029_mlekarenska_tehnologie/distancni_text/M0029_mlekarenska_tehnologie_distancni_text.pdf).
- [15] *Likvidace bakterií a spor*; dostupná na Internetu [cit:2010-11-02]: [http://www.tetrapak.com/cz/products\\_and\\_services/processing\\_equipment/cheese\\_equipment/bacteria\\_spore\\_removal/Pages/default.aspx](http://www.tetrapak.com/cz/products_and_services/processing_equipment/cheese_equipment/bacteria_spore_removal/Pages/default.aspx).
- [16] McSWEENEY, P.L.H.: Biochemistry of cheese ripening, *International Journal of Dairy Technology*, Vol.57, no.2/3 May/August, 2004.
- [17] FOX, P.F., McSWEENEY, P.L.H., COGAN, T.M., GUINEE, T.P.: *Cheese - Chemistry, Physics and Microbiology*, London: Champan & Hall.
- [18] HUFFMAN, L.M., KRISTOFFERSEN, T.: Role of lactose in Cheddar cheese manufacture and ripening, *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 1984.
- [19] HOLLAND, R.: Esterase of lactic acid bacteria, *Australian Journal of Dairy Technology*, 57, 116 s. (Abstract), 2002.
- [20] FOX, P.F., LUCEY, J.A, COGAN, T.M.: Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening, *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1990.
- [21] McSWEENEY, P.L.H, FOX, P.F.: Metabolism of residual lactose of lactate and citrate, *In Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol 1: General aspects, 3rd edn, 2004.
- [22] GARNOT, P., MOLLE, D., PIOT, M.: Influence of pH, type of enzyme and ultrafiltration on the retention of milk clotting in Camembert cheese, *Journal of Dairy Research*, 1987.
- [23] COLLINS, Y.F., McSWEENEY, P.L.H., WILKINSON, M.G.: Lipolysis and catabolism of fatty acids in cheese, *In Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol.1: General Aspects*, 3rd edn, 373 – 389 s., 2004.
- [24] McSWEENEY, P.L.H, SOUSA, M.J.: Biochemical pathway for the production of flavor compounds in cheese during ripening, *Le Lait* 80, 293 – 324 s., 2000.
- [25] WALLACE, J., FOX, P.F.: Effect of adding free amino acids to Cheddar cheese curd on proteolysis and flavour development, *International Dairy Journal*, 7, 157 - 167 s., 1997.

- [26] MEINHART, E., SCHREIER, P.: Study of flavour compounds from Pramgiano Reggiano cheese, *Milchwissenschaft*, 41, 689 – 691 s., 1986.
- [27] UPADHYAY, V.K.: Proteolysis in cheese during ripening, *In Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol.1: General Aspect, 3rd end, 391 – 434 s., 2004.
- [28] VISSER, F.M.V, SLANGEN, K.J.: On the specificity of chymozin (rennin) in its action on bovine  $\beta$ -casein, *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 31, 16 – 30 s., 1977.
- [29] McSWEENEY, P.L.H., OLSON, N.F., FOX, P.F.: Proteolysis of bovine  $\alpha_{s2}$ -casein by chymosin, *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 119, 429 – 432 s., 1994.
- [30] FOX, P.F., WALLACE, J.M., MORGAN, S.: *Acceleration of cheese ripening*, *Antonie von Leeuwenhoek*, 70, 271 – 297s., 1996.
- [31] GAGNAIRE, V., MOLLÉ, D., LÉONIL, J.: Peptidases of dairy propionic acid bacteria, *Le Lait*, 79, 43 – 57 s., 1999.
- [32] CURTIN, A.C., McSWEENEY, P.L.H.: Catabolism of amino acids in cheese during ripening, *In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol 1: General Aspects*, 3rd edn, 435 – 454 s., 2004.
- [33] HEMME, D., BOUILLANE, C., METRO, F.: Microbial catabolism of amino acids during cheese ripening, *Science des Aliments*, 2, 113 – 123 s., 1982.
- [34] ERBAN, V., ČERNÝ, V.: *Výběr a hodnocení sýrařských kultur z hlediska nových parametrů pro zajištění kvality a zdravotní nezávadnosti tvrdých sýrů*, Projekt Ministerstva zemědělství ČR ve správě NAZV, Výzkumný ústav potravinářský, Praha, 2007.
- [35] *Mikrobiologický rozbor potravinářského výrobku*; dostupný na Internetu: [cit:2011-02-22] [http://www.vscht.cz/ktk/www\\_324/lab/navody/oborI/mikrobiologie.pdf](http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/navody/oborI/mikrobiologie.pdf).
- [36] *Technologie mlékárenských výrob – 4*; dostupná na Internetu: [cit:2011-02-22] [http://eso.vscht.cz/cache\\_data/1206/www.vscht.cz/tmt/studium/tmv/tmv\\_podklady04.pdf](http://eso.vscht.cz/cache_data/1206/www.vscht.cz/tmt/studium/tmv/tmv_podklady04.pdf).
- [37] *Technologie mlékárenských výrob – 3*; dostupná na Internetu: [cit:2011-02-22] [http://eso.vscht.cz/cache\\_data/1206/www.vscht.cz/tmt/studium/tmv/tmv\\_podklady03.pdf](http://eso.vscht.cz/cache_data/1206/www.vscht.cz/tmt/studium/tmv/tmv_podklady03.pdf).

- [38] ŠTĚTINA, J: *Proč jsou v sýru díry?*; dostupné na Internetu: [cit:2011-02-23] [http://www.lidovky.cz/ln\\_noviny.asp?r=ln\\_noviny&c=A070915\\_000136\\_ln\\_noviny\\_sko](http://www.lidovky.cz/ln_noviny.asp?r=ln_noviny&c=A070915_000136_ln_noviny_sko).
- [39] BŘEZINA, P., KOMÁR, A., HRABĚ, J.: *Technologie, zbožížnalství a hygiena potravin, část II.*, Vysoká škola pozemního vojska, Vyškov, 2001, ISBN 80-7231-079-8.
- [40] BUŇKOVÁ, L., BUŇKA, F., MANTLOVÁ, G., ČABLOVÁ, A., PACHLOVÁ, V., SEDLÁČEK, I., ŠVEC, P., KRÁČMAR, S.: *Distribuce biogenních aminů během zrání přírodních sýrů eidamského typu a identifikace jejich původců*, Sborník konference Mléko a sýry, 2010.
- [41] KOMPRDA, T.: *Obecná hygiena potravin*, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, 2004, ISBN 978-80-7157-757-7.
- [42] STANDAROVÁ, E., BORKOVCOVÁ, I., VORLOVÁ, L.: Obsah biogenních aminů v sýrech z české obchodní sítě, *Veterinářství*, 2008, č. 58, 735-739 s.
- [43] TOPÇU, A., SALDAMLI, I.: Proteolytical, chemical, textural and sensorial changes during the ripening of turkish white cheese made of pasteurized cow's milk. *International Journal of Food Properties*. 2006, 9, 665-678 s.
- [44] FISZMAN, S.M., DAMÁSIO, M.H.: Instrumental measurement of adhesiveness in solid and semi-solid fous, A surfy, *Journal of Texture Studies*, 2000, 31, 69-91 s.
- [45] DELGADO, F-J., RODRÍGUEZ-PINILLA, J., GONZÁLEZ-CRESPO, J., RAMÍREZ, R., ROA, I.: Proteolysis and texture changes of a Spanish soft cheese ('Torta del Casar') manufactured with raw milk and vegetable rennet during ripening, *International Journal of Food Science and Technology*, 2010, 45, 512-519 s.
- [46] SINGH, H., ROCKALL, A., MARTIN, C.R., CHUNG, O.K., LOOKHART, G.L.: The analysis of stress relaxation data of some viscoelastic foods using a texture analyzer, *Journal of Texture Studies*, 2006, 37, 383-392 s.
- [47] HATCHER, D.W., BELLIDO, G.G., DEXTER, J.E., ANDERSON, M.J., FU, B.X.: Investigation of uniaxial stress relaxation parameters to characterize the texture of

- yellow alkaline noodles made from durum and common wheats, *Journal of Texture Studies*, 2008, 39, 695-708 s.
- [48] PELEG, M.: Characterization of the stress relaxation curves of solid foods, *Journal of Food Science*, 1979, 44, 277-281 s.
- [49] PELEG, M.: Linearization of relaxation and creep curves of solid biological materials, *Journal of Rheology*, 1980, 24, 451-463 s.
- [50] ICMSF: *Microorganisms in Foods 6*, 2nd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005, ISBN 030648675X.
- [51] DAVIDSON, P.M., SOFOS, J.N., BRANEN, A.L.: *Antimicrobials in Food*, 3rd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005, ISBN 0-8247-4037-8.
- [52] BLACKBURN, Clive de W.: *Food spoilage microorganisms*, Boca Raton: Woodhead Publishing, 2006, ISBN 0849391563.
- [53] JAY, J.M., LOESSNER, M.J., GOLDEN, D.A.: *Modern food microbiology* [online], 7th ed. New York: Springer, [cit:2011-03-14], 790 s., dostupné na Internetu: <http://www.springerlink.com/content/jtl6g6/?p=31e85465a93a4475be3d0530ab6dc36c&pi=29>, ISBN 978-0-387-23413-7.
- [54] *Obrázky sýrů*, dostupné na Internetu: [cit:2011-03-17] [www.google.cz](http://www.google.cz).
- [55] SUKOVÁ, I.: *Mikrofiltrace při výrobě sýrů ze syrového mléka* [online], dostupné na Internetu [cit:2011-03-31] <http://www.agronavigator.cz/>.
- [56] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, v platném znění.
- [57] NOVELLA-RODRÍGUES, S., VECIANA-NOGUÉS, M. T., IZQUERDO-PULIDO, M. & VIDAL-CAROU, M. C.: *Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese*, *Journal of Food Science*, 68, 2003, 750–755.



**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

tvS	tuk v sušině
CPM	celkový počet mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů
FFA	volná mastná kyselina
CFU	kolonie tvořící jednotku
LAB	startérové bakterie mléčného kvašení
NSLAB	nestartérové bakterie mléčného kvašení
NAD <sup>+</sup>	nikotinamidadenin dinukleotid
NDS	nízko-dohřívaná sýřenina
EA	Endův agar
BMK	bakterie mléčného kvašení
PCA	plate count agar
VDS	vysoko-dohřívaná sýřenina
EPEC	enteropatogenní <i>Escherichia coli</i>
EHEC	enterohemoragická <i>Escherichia coli</i>
PA	Pseudomonas agar
MSA	mannitol salt agar
XLD	xylose lysine deoxycholate agar

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obrázek 1: Sýrařská harfa umožňující krájení nebo míchání [2].....	19
Obrázek 2: Schematické znázornění tvorby ok [2].....	25
Obrázek 3: Metabolizmus laktózy v průběhu zrání sýrů: 1 – racemizace, 2 – metabolizmus způsobený <i>Propionibacterium</i> spp., 3 – oxidace, 4 – anaerobní metabolizmus pomocí NSLAB, 5 – anaerobní metabolizmus pomocí <i>Clostridium</i> spp. [17].....	29
Obrázek 4: Schematické znázornění $\beta$ -oxidace mastných kyselin pomocí <i>Penicillium roqueforti</i> a následná redukce na sekundární alkohol [17].....	31
Obrázek 5: Cesty katabolizmu volných mastných kyselin [17].....	32
Obrázek 6: Schematické znázornění systému plazminu v mléce [17].....	34
Obrázek 7: Transaminace rozvětvených aminokyselin na odpovídající $\alpha$ -ketokyseliny [17].....	36
Obrázek 8: Katabolizmus tryptofanu zahrnující transaminaci, dekarboxylaci nebo deaminaci [17].....	37
Obrázek 9: Znázornění odběru plátů 1, 2 a 3 z eidamské cihly pro texturní analýzu a znázornění vrstev I, II a III (střed).....	44
Obrázek 10: Schematické znázornění 13 míst, kde byly hodnoceny vybrané texturní vlastnosti.....	45
Obrázek 11: Typická zátěžová křivka závislosti síly $F_t$ na čase $t$ získaná ze stres testu.....	46
Obrázek 12: Grafické znázornění transformací prováděných v rámci Pelegova modelu: A – část zátěžové křivky použitá pro výpočet Pelegova modelu; B – normalizace hodnot $F_t$ na $Y_t$ (pomocí $F_{max}$ ); C – proložení linearizovaných hodnot $t/Y_t$ regresní přímkou.....	47

**SEZNAM TABULEK**

Tabulka 1: Hodnoty $F_{\max}$ (N) v jednotlivých pozicích plátu 1 v průběhu zrání.....	53
Tabulka 2: Hodnoty $F_{\max}$ (N) v jednotlivých pozicích plátu 2 v průběhu zrání.....	53
Tabulka 3: Hodnoty $F_{\max}$ (N) v jednotlivých pozicích plátu 3 v průběhu zrání.....	54
Tabulka 4: Hodnoty parametrů $k_1$ a $k_2$ vypočtené podle Pelegových modelů ze zátěžové křivky ve 13 pozicích ( $n = 6$ , průměr $\pm$ SD) v jednotlivých plátech eidamské cihly (1, 2 a 3).....	60
Tabulka 5: Rovnice logaritmické regrese a hodnoty spolehlivosti R pro plát 1.....	61
Tabulka 6: Rovnice logaritmické regrese a hodnoty spolehlivosti R pro plát 2.....	62
Tabulka 7: Rovnice logaritmické regrese a hodnoty spolehlivosti R pro plát 3.....	62

**SEZNAM GRAFŮ**

- Graf 1: Grafické znázornění změn celkového počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů v jednotlivých částech eidamské cihly v průběhu jejího zrání.....49
- Graf 2: Grafické znázornění změn v počtu koliformních bakterií v jednotlivých částech eidamské cihly v průběhu jejího zrání (1B a 2B u 84(S) a 1B, 2B a 3A u 126(L) nebyly detekovány žádné koliformní bakterie).....50
- Graf 3: Grafické znázornění změn v počtu bakterií mléčného kvašení v jednotlivých částech eidamské cihly v průběhu jejího zrání.....51

**SEZNAM PŘÍLOH**

PI	Dělení měkkých sýrů
PII	Dělení polotvrdých a tvrdých sýrů
PIII	Obecné schéma výroby sýrů s NDS
PIV	Obrázky vybraných druhů sýrů
PV	Kultivační půdy a fyziologický roztok pro mikrobiologické hodnocení
PVI	Schematické znázornění tvrdosti ve 13 testovaných pozicích v plátech 1, 2 a 3
PVII	Článek

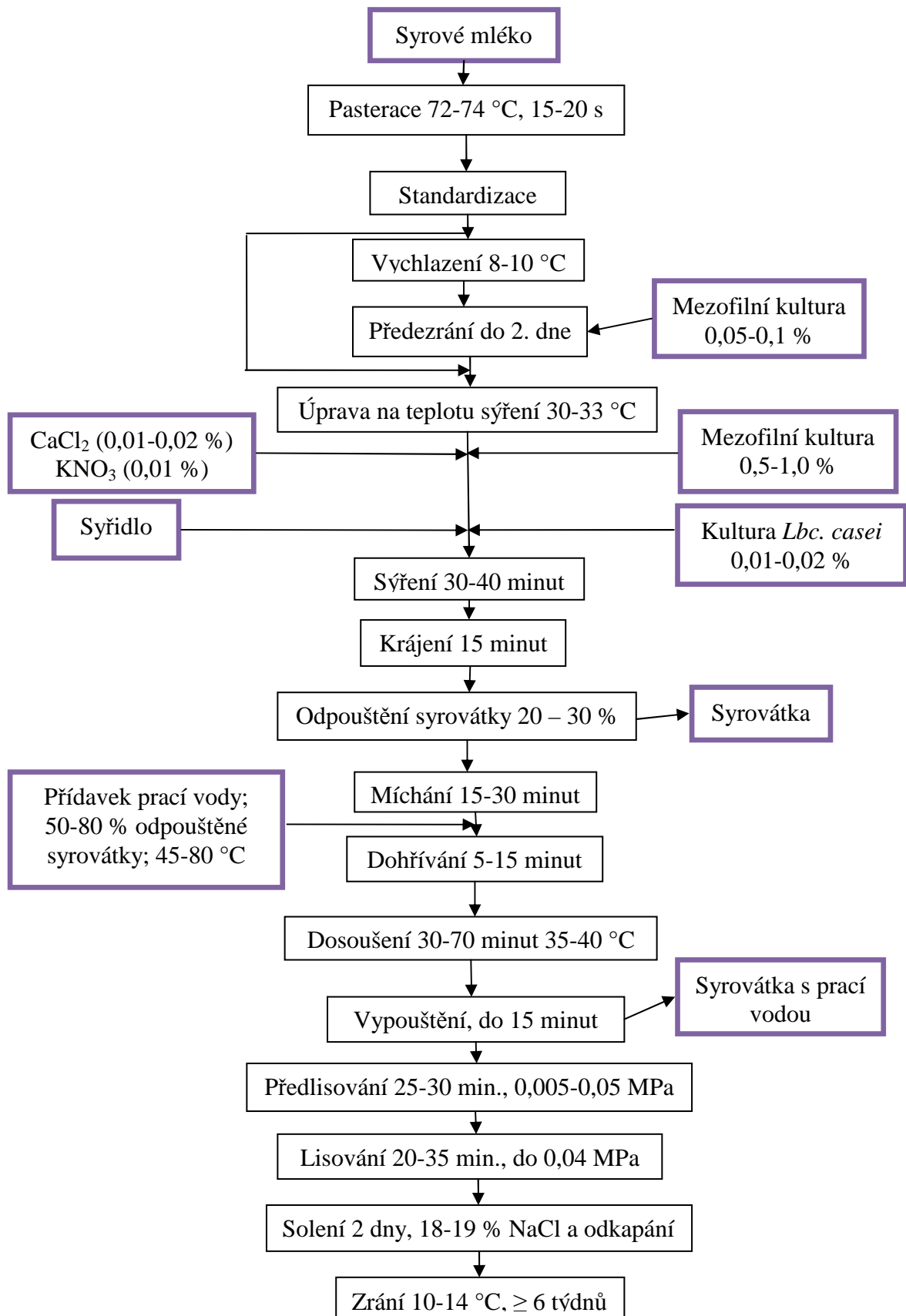
## PŘÍLOHA PI: DĚLENÍ MĚKKÝCH SÝRŮ [5]

Typ sýra	Způsob zrání	Příklad daného typu sýra
sýr nezrající	----	čerstvý sýr
sýr zrající	v chladu	sýr Blaťácké Zlato
	pod mazem	sýr Romadúr
	s plísní v těstě	sýr Niva
	s plísní na povrchu	sýr Hermelín
	s kombinovaným nárůstem plísně	sýr Vltavín
	pařený	sýr Parenica
sýr zrající v solném nálevu	nelisovaný	Balkánský sýr
	lisovaný	sýr Akawi
	pařený	sýr Jadel

## PŘÍLOHA II: DĚLENÍ POLOTVRDÝCH A TVRDÝCH SÝRŮ [5]

Typ sýřeniny	Typ sýra	Příklad daného typu sýra
nizkodohřívaná sýřenina	eidamského typu	sýr Eidam, Gouda
	hnětená sýřenina	
	mletá sýřenina	sýr Čedar
vysokodohřívaná sýřenina	ementálského typu	sýr Ementál, Primátor
	bez tvorby ok	sýr Moravský bochník
	ke strouhání	sýr Parmazán

### PŘÍLOHA III: OBECNÉ SCHÉMA VÝROBY SÝRŮ S NDS [8]



## PŘÍLOHA IV: OBRÁZKY VYBRANÝCH DRUHŮ SÝRŮ [54]

### Polotvrdé a tvrdé sýry



sýr Eidam (sýr s NDS, eidamského typu)



sýr Čedar (sýr s NDS, mletá sýřenina)



sýr Ementál (sýr s VDS, ementálského typu)

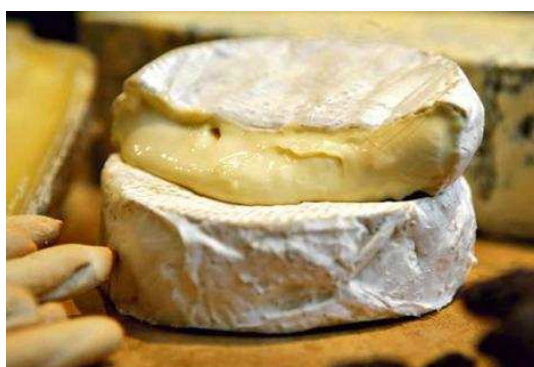


sýr Parmazán (sýr s VDS, ke strouhání)

### Měkké sýry



sýr Niva (zrající sýr, s plísní v těstě)



sýr Hermelín (zrající sýr, s plísní na povrchu)



## **PŘÍLOHA V: KULTIVAČNÍ PŮDY A FYZIOLOGICKÝ ROZTOK PRO MIKROBIOLOGICKÉ HODNOCENÍ**

Kultivační půda PCA (plate-count-agar) – pro stanovení CPM. Její složení je následující:

- 0,5 % peptonu,
- 0,25 % kvasnicového extraktu,
- 0,1 % glukózy,
- 1,5 % agaru.

Konečné pH půdy je při teplotě 25 °C upraveno na pH 7,0 ± 0,2. Půda se připraví rozpuštěním 23,5 g PCA v 1000 ml destilované vody, zahřeje se k varu a zcela rozpustí.

Kultivační půda Endův agar – pro stanovení koliformních bakterií. Její složení je následující:

- 1,0 % peptonu,
- 0,25 % hydrogenfosforečnanu draselného (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>),
- 1,0 % laktózy,
- 0,33 % bezvodého siřičitanu sodného (Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>),
- 0,03 % fuchsinu,
- 1,25 % agaru.

Konečné pH půdy je při teplotě 25 °C upraveno na pH 7,5 ± 0,2. Půda se připraví rozpuštěním 41,5 g EA v 1000 ml destilované vody, zahřeje se k varu s výdrží 1 minuty a zcela rozpustí.

Kultivační půda M17 agar – pro stanovení bakterií mléčného kvašení. Její složení je následující:

- 1,9 % glycerofosforečnanu sodného,
- 0,5 % hovězího extraktu,
- 0,25 % masového peptonu,
- 0,25 % kvasnicového extraktu,

- 0,025 % síranu hořečnatého,
- 0,5 % sojového peptonu,
- 0,5 % laktózy,
- 0,25 % kaseinového peptonu,
- 0,05 % kyseliny askorbové,
- 1,275 % agaru.

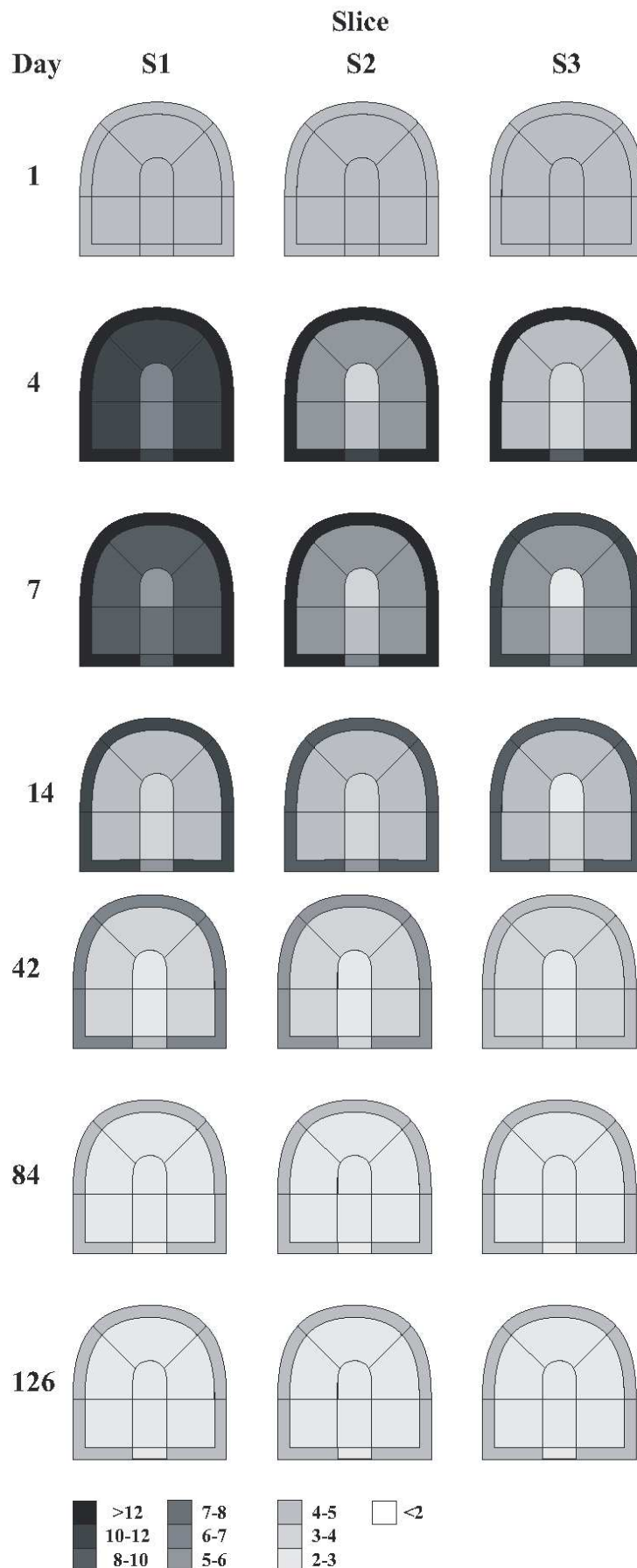
Konečné pH půdy je při teplotě 25 °C upraveno na pH  $7,2 \pm 0,2$ . Půda se připraví rozpuštěním 42,2 g M17 v 1000 ml destilované vody, zahřeje k varu a zcela rozpustí.

Fyziologický roztok – pro ředění vzorků eidamské cihly. Jeho složení je následující:

- 1000 ml destilované vody,
- 8,5 g NaCl,
- 1 g peptonu.

Všechny kultivační půdy včetně fyziologického roztoku se sterilují v autoklávu při teplotě 121 °C a tlaku 101,5 kPa po dobu 15 minut. Půdy se poté nalijí do Petriho misek a nechají ztuhnout.

**PŘÍLOHA VI: SCHEMATICKÉ ZNÁZORNĚNÍ TVRDOSTI VE 13  
TESTOVANÝCH POZICÍCH V PLÁTECH 1, 2 A 3**



## **PŘÍLOHA VII: ČLÁNEK**

### **ABSTRACT**

The aim of the study was to explore texture changes of Dutch-type cheese at its different locations during 126-day ripening at the temperature common for maturation of this type of cheese (10°C). Each block of cheese was divided into 3 slices and texture properties were studied in 13 segments evenly distributed in each slice. Due to cheese brining, a significant increase of hardness and elastic component was reported especially in the edge segments. During the subsequent ripening, both hardness and elastic component of natural cheese decreased gradually in all segments and slices. Studied parameters of individual parts of cheese did not demonstrate uniform rate of changes during ripening period. In the whole experiment (even after 126-day ripening), hardness and elastic component of the cheese in core showed lower values compared to those obtained in the edge of all slices.

Keywords: Cheese; texture analysis; relaxation test; Peleg's model.

## INTRODUCTION

From the biochemical and microbiological points of view, cheese represents a dynamic system that undergoes substantial changes during its ripening. Ripening period and conditions vary according to the type of cheese, which results in differences in properties of individual cheeses. Major biochemical changes occurring during cheese ripening can be classified into primary and secondary processes. The former ones comprise metabolism of lactose, lactate, citrate, lipolysis and proteolysis. The consequent secondary biochemical processes, that are important for production of sensory active compounds, include metabolism of free fatty acids and free amino acids.<sup>[1-4]</sup>

Not only final cheese aroma, but also its texture properties (key factors important for consumers during purchase) develop during the process of ripening. Interactions of casein particles, their swelling, extent of proteolysis of cheese matrix, association of calcium with caseins (or, more precisely, with products of their hydrolysis), pH changes, and also changes of number of hydrogen bridges in matrix influence proper development of texture properties during cheese ripening.<sup>[2,5-8]</sup> Different ripening conditions, for example air moisture, temperature and length of ripening, can cause change of intensity of the above processes and thereby cause a change of texture properties of ripening cheese.<sup>[4]</sup> Cheese texture is also affected by moisture and protein contents. Hardness of products increases usually with decreasing moisture content and increasing content of casein proteins.<sup>[6]</sup>

Buňková et al.<sup>[9]</sup>, Komprda et al.<sup>[10]</sup>, Novella-Rodríguez et al.<sup>[11]</sup> and Pachlová et al.<sup>[12]</sup> found that microbiological and biochemical changes might not demonstrate the same intensity in all parts of a cheese block. Especially moisture content, water activity ( $a_w$ ), salt concentration and salt to moisture ratio can play a significant role. The above factors may influence activity of enzymes and thereby also texture properties of products.<sup>[13,14]</sup> Details on change of texture parameters in individual parts of natural cheese during ripening have not been reported satisfactorily in available literature.

Cheese represents a viscoelastic material combining properties of both elastic and viscous matter and shows an ability to absorb mechanical vibrations.<sup>[15]</sup> Food texture can be sufficiently analysed by instrumental methods, for example by relaxation tests. During a relaxation test, material is deformed using compression; a plate or probe is kept at the maximum force location for tens of seconds and the decline in force is recorded.<sup>[15-22]</sup> The resulting

force-deformation curve can be subjected to mathematical analysis using for example the Peleg's model;<sup>[23,24]</sup> its results provide information on changes of viscoelastic properties of material (i.e. on change of elastic and viscous components). The relaxation test and subsequently Peleg's model have successfully been applied for monitoring of viscoelastic properties of many food matrixes; processed cheese, dough, rainbow trout, cods or hot-air-puffed amaranth seeds might serve as examples.<sup>[15,22,25–28]</sup>

The aim of our study was to explore texture properties of individual parts of Dutch-type cheese via hardness and relaxation tests during 126-day ripening.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Samples**

Fourteen blocks of Dutch-type cheese (Edam cheese, similar to Gouda with a few small eyes; 50% w/w dry matter and 30% w/w fat in dry matter; average weight  $1.42 \pm 0.17$  kg; approx. 90mm height, 90mm width and 140mm depth) were taken from a batch manufactured within common production of a Czech producer of cheeses made from pasteurised milk. The manufacture protocol used by Pachlová et al.<sup>[12]</sup> was followed except for the shape of the cheese blocks (Figure 1A). During the first day, the cheeses were manufactured, pressed and placed into brine. On the second day, the blocks were taken out from brine, packed into Cryovac packagings and put into a ripening cellar with temperature  $10 \pm 2^\circ\text{C}$ . The cheeses were sampled on the following days: 1<sup>st</sup> (before the placement into brine), 4<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 42<sup>nd</sup>, 84<sup>th</sup>, and 126<sup>th</sup>. Two parallel cheese blocks were taken for textural analyses. Three batches were sampled for statistical purposes.

A 10 mm slice was cut off each block (the slice was not used for analysis) and 3 slices referred to as S1, S2 a S3 (the central slice) were taken for testing subsequently (approx. 90mm height, 90mm width and each 25mm depth). Each tested slice was divided into three layers: 7mm from the edge (referred to as layer I); the next 28mm (referred to as layer II); and the remaining core (referred to as layer III). Figure 1A shows a diagram illustrating the sampling procedure. The layers I and II were further divided into 6 segments subjected to texture analysis (see Figure 1B and the chapter "Texture analysis").

The pH-values of different segments of slices were measured by a calibrated WP pH-meter Spearm Oakton (equipped with a small measuring electrode – diameter of approx. 3 mm; Eutech Instruments, Malaysia) at  $21\pm 2^\circ\text{C}$ . Each segment was measured three times.

### **Texture Analysis**

Prior to texture analysis, the tested slices were wrapped with plastic foil because of water loss prevention and they were tempered in the chamber at  $20^\circ\text{C}$  for 3 hours. A relaxation test using a Texture Analyser TA.XTPlus (with a compression cell in capacity of 30 kg) (Stable Micro Systems, Surrey, UK) was carried out. Samples were compressed by 5 mm with a spherical probe of 5 mm diameter at the speed of  $1\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$  (trigger force of 5 g), then the probe was kept at the maximum force position for 30 s and the decline in force was recorded. Subsequently, the probe was returned to the start position (speed of  $1\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ ). The probe was successfully used to prevent sample rupture, no sample was ruptured. Thirteen locations on all three slices were analysed using the relaxation test: 6 segments in the layer I; 6 segments in the layer II; and a segment in the cheese core (Figure 1; the side nearer to the removed 10mm belt was analysed in all three slices). Dependence of  $F_t$  on time  $t$  is expressed as a force-deformation curve in Figure 2. Maximum force  $F_{\text{max}}$  (N), which serves as an indicator of hardness, was acquired by analysis of the above curve.<sup>[5,18]</sup>

Data obtained from the relaxation test were subjected to further analysis and thereby the viscoelastic properties of tested samples could be estimated. Only the part of the force-deformation curve between the maximum force ( $F_{\text{max}}$ ) point and the start of the probe withdrawal from the sample (about 30 s of analysis, Figures 2 and 3A) was analysed and subjected to calculation according to the Peleg's model.<sup>[23,24]</sup> At first, the values of  $F_t$  forces at time  $t$  were normalized according to the equation (1). The normalized force-deformation curve (Figure 3B) was linearized (Figure 3C) according to the equation (2) afterwards. Its right member represents a regression curve, whose parameters  $k_1$  and  $k_2$  were estimated by the non-linear regression analysis (Marquardt-Levenburg method). A special attention was paid to the parameter  $k_2$  that indicates the extent of material relaxation. The  $k_2 = 1$  values respond to material with ideal viscosity; the higher values of  $k_2$ , the higher proportion of elastic component. The  $k_1$  parameter is an indicator of the initial rate of decrease of the mechanical stress imposed on the sample (initial rate of relaxation). High

values of the parameter  $k_1$  indicate slow relaxation and hence high proportion of elastic component of sample.<sup>[17,19,24]</sup>

$$Y_t = \frac{F_{\max} - F_t}{F_{\max}} \quad (1)$$

$$\frac{t}{Y_t} = k_2 t + k_1 \quad (2)$$

The values of hardness ( $F_{\max}$ ) and parameters  $k_1$  and  $k_2$  were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA; separately for each factor studied – the effect of different location of segments, slices and ripening period) and to the Duncan test. The relation between hardness and the parameters  $k_1$  and  $k_2$  was evaluated by the means of Pearson's correlation coefficient ( $r$ ) subsequently. The Unistat 5.5 statistical software (Unistat Ltd., London, UK) was used to evaluate results of experiments.

## RESULTS AND DISCUSSION

Before brining on the 1<sup>st</sup> day, the initial pH-values ranged between 5.31–5.38 in all segments and slices. During the next six days, values of pH decreased to 5.09–5.20 ( $P < 0.05$ ) and then they rose continuously and slowly ( $P < 0.05$ ) from the 7<sup>th</sup> till 126<sup>th</sup> day. On the 126<sup>th</sup> day, cheese pH reached values of 5.52–5.60 regardless of the segments and/or slices tested. During the whole experiment, the pH-values of individual segments and slices changed in a similar way ( $P \geq 0.05$ ).

Changes of cheese hardness in individual segments of 3 tested slices are shown in Figure 4. On the day of natural cheese production (1<sup>st</sup> day; before brining), its hardness in individual segments of all slices was similar and ranged between 4–5 N ( $P \geq 0.05$ ).

On the 4<sup>th</sup> day post manufacture, when the cheeses were brined up, hardness in the segments 1–5 of all the tested slices increased substantially ( $P < 0.001$ ) exceeding values of 12 N. No significant differences between the segments 1–5 of all the tested slices ( $P \geq 0.05$ ) were detected. Hardness in the segments 7–11 of the slice S1 situated closely to the frontal margin rose significantly and reached values between 10–11 N ( $P < 0.001$ ). Relevant segments of the slice S2 showed also a significant growth ( $P < 0.01$ ), but their hardness ranged between 5–6 N only. A significant increase of cheese hardness in the segments 7–11 of the



slice S3 was not observed ( $P \geq 0.05$ ). On the 4<sup>th</sup> day, the segments 6 of all tested slices and the segments 12 and 13 (core) of the slice S1 demonstrated higher hardness ( $P < 0.001$ ); however, cheese in these segments was softer than in the other parts of the corresponding layers I and II ( $P < 0.01$ ). Hardness of cheese in the segment 12 of the slice S2 did not show a significant change ( $P \geq 0.05$ ) during the first 4 days. Hardness in the segment 13 (core) of the slices S2 and S3 and in the segment 12 of the slice S3 demonstrated even decrease to 3–4 N ( $P < 0.05$ ).

During the next 3 days, hardness of cheese in the segments 1–5 of the slices S1 and S2 and also in the segments 7–12 of the slice S2 did not change significantly ( $P \geq 0.05$ ). The core of the slice S1 and the segment 6 of the slices S1 and S2 showed decrease of hardness ( $P < 0.01$ ). Compared to values acquired on the 4<sup>th</sup> day, hardness of cheese in the segment 12 of the slice S1 grew to 7–8 N ( $P < 0.05$ ). The segments 1–6, and 13 (core) of the slice S3 demonstrated decrease ( $P < 0.05$ ). On the contrary, hardness in the segments 7–12 showed growth ( $P < 0.05$ ).

During the second week of ripening (between the 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> days), cheese hardness in all the segments and slices decreased ( $P < 0.05$ ); only the core of the slices S2 and S3 did not show significant changes ( $P \geq 0.05$ ). Hardness in segments 1–5 of the slice S1 and both S2 and S3 slices dropped to 10–12 N and 8–11 N, respectively ( $P < 0.05$ ). The segments 6–12 of all tested slices showed decline of hardness ( $P < 0.01$ ).

Between the 14<sup>th</sup> and 42<sup>nd</sup> day, the values of hardness continued decreasing in most segments and slices ( $P < 0.05$ ), specifically hardness in the segments 1–5 of the slice S1, S2 and S3 ranged between 6–7 N, 5–6 N and 4–5 N, respectively. Decrease to 3–4 N was observed in the segments 7–11 of all tested slices ( $P < 0.01$ ). The core of the slices S1 and S2 showed decline of hardness ( $P < 0.05$ ). Like between the 7<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> days, changes of hardness in the S3 core were not significant ( $P \geq 0.05$ ). Since the 84<sup>th</sup> day, cheese hardness in the segments 1–5 stabilized in the range of 4–5 N and it steadied down to 2–3 N in the segments 6–13. The above mentioned values did not show significant changes in comparison with those acquired on the 126<sup>th</sup> day ( $P \geq 0.05$ ) of experiment.

Table 1 lists values of the  $k_1$  and  $k_2$  coefficients calculated by the non-linear regression method using the Peleg's model. Comparing the 1<sup>st</sup> and 4<sup>th</sup> days values of the parameter  $k_2$ , a significant increase of cheese elasticity in all segments and slices ( $P < 0.05$ ) as the result of

brining emerges clearly. In the following days of ripening, natural cheese segments of slices demonstrated gradual drop of elastic component ( $P < 0.05$ ). The above drop was observed ( $P < 0.05$ ) also between the 84<sup>th</sup> and 126<sup>th</sup> days, when hardness values did not demonstrate significant changes (see above). The segments in the layer I (1–5) of individual slices demonstrated higher values of elasticity ( $P < 0.05$ ) in comparison with the other segments during the whole ripening experiment. Cheese core showed lower elastic component ( $P < 0.05$ ) than the other segments (with the exception of the first day). Similarly to hardness, elastic component in the segments 6 and 12 was significantly lower ( $P < 0.05$ ) than in other segments of the particular layers I and II. Analysis of variance (ANOVA) showed differences in changes of elasticity in individual slices and segments during ripening ( $P < 0.05$ ). The dependence between  $k_2$  and hardness values assessed by Pearson correlation coefficient was significant ( $r = 0.7662$ ;  $P < 0.01$ ). The above mentioned findings are in accordance with works of Peleg<sup>[23,24]</sup> and Markowski et al.<sup>[28]</sup>, who stated that the Peleg's model and especially the parameter  $k_2$  are suitable for characterization of the viscoelastic properties of food.

On the other hand, the parameter  $k_1$  did not describe the changes in viscoelastic properties of individual cheese segments satisfactorily (see Table 1). For example, most of  $k_1$  values of the segments 1–5 (in all slices) decreased between the 1<sup>st</sup> and 4<sup>th</sup> day though the cheese brining had finished and the elasticity of the above mentioned segments was generally supposed to increase (see below). During ripening, many  $k_1$  values obtained in individual segments of the slices S1, S2 and S3 varied without showing any unambiguous trend. The Pearson correlation coefficients between the parameter  $k_1$  and hardness values or values of the parameter  $k_2$  are relatively small ( $r = 0.4888$  and  $r = 0.3719$ , respectively). Our findings correspond with the opinion of Hatcher et al.<sup>[17]</sup>, Peleg<sup>[23]</sup> and Singh et al.<sup>[19]</sup>, who reported difficult and ambiguous interpretation of the parameter  $k_1$ . According to Peleg<sup>[23]</sup>, the parameter  $k_1$  is affected rather by other factors, for example by experimental errors and shape changes, than by the parameter  $k_2$ .

Prior to insertion of cheese blocks into brine, hardness in individual segments and slices had shown balanced values. However, the parameter  $k_2$  (indicator of the elastic component of material) suggests slightly higher elastic component in the segments 1–5, which can be related to the process of pressing and to moderate heterogeneity of material in the layer I immediately after pressing.<sup>[3]</sup> During brining, a substantial growth of hardness and also of

the parameter  $k_2$  caused by diffusion of NaCl into cheese was reported in the segments directly exposed to brine (especially the segments 1–5 of all tested slices). In comparison with the relevant segments of the slices S2 and S3, the segments 6–13 of the slice S1 showed significantly higher hardness and elastic component. The above can be explained by faster diffusion of NaCl into the slice S1, because salt did not penetrate only from the edge of cheese (layer I), but also from the front side of the block situated most closely to the slice S1, which is in accord with Fox et al.<sup>[3]</sup> and also Chevanan and Muthukumarappan<sup>[29]</sup>. They state, that NaCl content and the salt to moisture ratio exhibit a significant effect on texture properties of cheese. The following two basic processes influencing texture properties of cheese can be expected during the ripening experiment: (i) diffusion of NaCl (hardness and elastic component increase with the growing content of NaCl and vice versa); and (ii) proteolytic changes of casein proteins causing decrease of hardness and elastic component. Intensity of proteolytic changes in individual parts of cheese then results especially from different microenvironmental conditions for metabolism of lactic acid bacteria, or more precisely, from conditions for activity of particular enzymes.<sup>[1,3,5,12,14]</sup> In the first 7–14 days of experiment, NaCl diffused intensively into the layers II and III of individual slices (in the direction of concentration gradient), which led to decrease of hardness and elastic component in the layer I and, conversely, to increase of these parameters in the layers II and III. The core of the slice S3 experiencing slower diffusion of NaCl represented certain exception. Texture parameters of the above core were influenced rather by proteolytic reactions during the first days of the experiment. However, a continuous decrease of hardness and elastic component could be observed since the 14<sup>th</sup> day of the experiment. According to Pachlová et al.<sup>[12]</sup>, who studied changes of free amino acid content in layers of natural cheeses, the above is caused by proteolytic processes. This finding is reported also by other authors, for example by Chevanan & Muthukumarappan<sup>[29]</sup>, Delgado et. al.<sup>[5]</sup> and Topçu and Saldamli.<sup>[14]</sup> Proteolytic processes and subsequent reaction of free amino acids during ripening are generally associated with increase of pH (especially due to production of ammonia and other alkaline substances)<sup>[3,12]</sup>, which was observed also in our experiments. Unfortunately, changes of pH-values could not cause differences in development of cheese texture in individual segments, because their pH values did not differ (in given days).

Compared to the layers II and III, significantly higher values of hardness and elastic component in the layer I (segments 1–5) were reported in all tested slices even after 126 days of ripening. According to Pachlová et al.<sup>[12]</sup>, the above is caused mostly by slightly higher content of dry matter in the layer I (higher by circa 2 % w/w). The above authors have reported that even after 168 days of ripening the dry matter content in the edge and in the other parts of cheese did not equalize.<sup>[12]</sup> That phenomenon has not been explained. Fox et al.<sup>[3]</sup> pointed out possible interactions of outer layers of cheese, packaging materials and environment conditions.

Interesting changes were found in the segment 6 (and by the 42<sup>nd</sup> day also in the segment 12) of the tested slices. Their hardness and the  $k_2$  elastic component showed significantly lower values than in the other segments of the layer I, or the layer II (the segment 12). Satisfactory information explaining the above phenomenon has not been found in literature. The above findings can be elucidated by the fact, that cheese blocks were put on a board when salted in brine. Sodium chloride could not penetrate into the segment 6 straight (this area was not in direct contact with brine), but it could only diffuse from adjacent areas represented especially by the segments 1 and 5 (Figure 1B). Thus, possible lower content of NaCl can influence growth and metabolism of lactic acid bacteria and also affect proteolytic processes.<sup>[9–12]</sup>

## CONCLUSION

Texture parameters of individual parts of cheese did not demonstrate uniform changes. Their development in individual slices and layers differed. Even after 126 days of ripening, texture parameters of Dutch-type cheese did not equalize completely. Edge parts remained harder than the other parts of cheese. Diffusion of NaCl and intensity of proteolytic reactions probably rank among the main factors influencing texture properties. Besides monitoring the standard parameter of hardness, the use of relaxation tests with analysis of force-deformation curve is recommendable. The above analysis can provide detailed information on changes of texture parameters.

## ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by the project of the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic MSM7088352101.

## REFERENCES

1. McSweeney, P.L.H. Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 2004, 57, 127–144.
2. Sousa, M.J.; Ardö, Y.; McSweeney, P.L.H. Advance in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 2001, 11, 327–345.
3. Fox, P.F.; Guinee, T.P.; Cogan, T.M.; McSweeney, P.L.H. *Fundamentals of Cheese Science*; Aspen Publication: Gaithersburg, USA, 2000; 638 pp.
4. Forde, A.; Fitzgerald, G.F. Biotechnological approaches to the understanding and improvement of mature cheese flavour. *Current Opinion in Biotechnology*, 2000, 11, 484–489.
5. Delgado, F.J.; Rodríguez-Pinilla, J.; González-Crespo, J.; Ramírez, R.; Roa, I. Proteolysis and texture changes of a Spanish soft cheese (‘Torta del Casar’) manufactured with raw milk and vegetable rennet during ripening. *International Journal of Food Science and Technology*, 2010, 45, 512–519.
6. Pinho, O.; Mendes, E.; Alves, M.M.; Ferreira, I.M.P.L.V.O. Chemical, physical, and sensorial characteristics of „Terrincho“ ewe cheese: Changes ripening and intravarietal composition. *Journal of Dairy Science*, 2004, 87, 249–257
7. Lucey, J.A.; Johnson, M.E.; Horne, D.S. Perspectives on the basic of the rheology and texture properties of cheese. *Journal of Dairy Science*, 2003, 86, 2725–2743.
8. Lawrence, R.C.; Creamer, L.K.; Gilles, J. Cheese ripening technology. *Journal of Dairy Science*, 1987, 70, 1748–1760.
9. Buňková, L.; Buňka, F.; Mantlová, G.; Čablová, A.; Sedláček, I.; Švec, P.; Pachlová, V.; Kráčmar, S. The effect of ripening and storage conditions on the distribution of tyramine, putrescine and cadaverine in Edam-cheese. *Food Microbiology*, 2010, 27, 880–888.
10. Komprda, T.; Smělá, D.; Novická, K.; Kalhotka, L.; Šustová, K.; Pechová, P. Content and distribution of biogenic amines in Dutch-type hard cheese. *Food Chemistry*, 2007, 102, 129–137.

11. Novella-Rodríguez, S.; Veciana-Nogués, M.T.; Izquierdo-Pulido, M.; VIDAL-CAROU, M.C. Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. *Journal of Food Science*, 2003, 68, 750–755.
12. Pachlová, V.; Buňka, F.; Buňková, L.; Weiserová, E.; Budinský, P.; Žaludek, M.; Kráčmar, S. The effect of three different ripening/storage conditions on distribution of selected parameters in individual parts of Dutch-type cheese. *International Journal of Food Science and Technology*, 2011, 46, 101–108.
13. Floury, J.; Camier, B.; Rousseau, F.; Lopez, C.; Tissier, J.P. Reducing salt level in food: Part 1. Factors affecting the manufacture of model cheese systems and their structure-texture relationships. *LWT-Food Science and Technology*, 2009, 42, 1611–1620.
14. Topçu, A.; Saldamli, I. Proteolytical, chemical, textural and sensorial changes during the ripening of turkish white cheese made of pasteurized cow's milk. *International Journal of Food Properties*, 2006, 9, 665–678.
15. Herrero, A.M.; Heia, K.; Careche, M. Stress relaxation test for monitoring post mortem textural changes of ice-stored cod (*Gadus marhua* L.). *Journal of Food Science*, 2004, 69, 178–182.
16. Alvis, A.; Villamiel, M.; Rada-Mendoza, M. Mechanical properties and viscoelastic characteristics of two varieties of yam tubers (*Dioscorea alata*). *Journal of Texture Studies*, 2010, 41, 92–99.
17. Hatcher, D.W.; Bellido, G.G.; Dexter, J.E.; Anderson, M.J.; Fu, B.X. Investigation of uniaxial stress relaxation parameters to characterize the texture of yellow alkaline noodles made from durum and common wheats. *Journal of Texture Studies*, 2008, 39, 695–708.
18. Sirisomboon, P.; Tanaka, M.; Akinaga, T.; Kojima, T. Evaluation of the textural properties of japanese pear. *Journal of Texture Studies*, 2000, 31, 665–677.
19. Singh, H.; Rockall, A.; Martin, C.R.; Chung, O.K.; Lookhart, G.L. The analysis of stress relaxation data of some viscoelastic foods using a texture analyzer. *Journal of Texture Studies*, 2006, 37, 383–392.
20. Blahovec, J.; Esmir, A.A.S. Stress relaxation in cooked potato tubers expressed by improved rate controlled model. *International Journal of Food Properties*, 2001, 4, 485–499.

21. Joshi, N.S.; Jhala, R.P.; Muthukumarappan, K.; Acharya, M.R.; Mistry, V.V. Textural and rheological properties of processed cheese. *International Journal of Food Properties*, 2004, 7, 519–530.
22. Zaidul, I.S.M.; Karim, A.A.; Manan, D.M.A.; Azlan, A.; Norulaini, N.A.N; Omar, A.K.M. Stress relaxation test for sago-wheat mixtures gel. *International Journal of Food Properties*, 2003, 6, 431–442.
23. Peleg, M. Characterization of the stress relaxation curves of solid foods. *Journal of Food Science*, 1979, 44, 277–281.
24. Peleg, M. Linearization of relaxation and creep curves of solid biological materials. *Journal of Rheology*, 1980, 24, 451–463.
25. Dimitreli, G.; Thomareis, A.S. Instrumental textural and viscoelastic properties of processed cheese as affected by emulsifying salts and in relation to its apparent viscosity. *International Journal of Food Properties*, 2009, 12, 261–275.
26. Rodríguez-Sandoval, E.; Fernández-Quintero, A.; Sandoval-Aldana, A.; Quicazán, M.C. Effect of cooking time and storage temperature on the textural properties of cassava dough. *Journal of Texture Studies*, 2008, 39, 68–82.
27. Michalczyk, M.; Surówka, K. Microstructure and instrumentally measured textural changes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gravads during production and storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2009, 89, 1942–1949.
28. Markowski, M; Ratajski, A.; Konopko, H.; Zapotoczny, P.; Majewska, K. Rheological behavior of hot-air-puffed amaranth seeds. *International Journal of Food Properties*, 2006, 9, 195–203.
29. Chevanan, N.; Muthukumarappan, K. Viscoelastic properties of Cheddar cheese: Effect of calcium and phosphorus, residual lactose, salt-to-moisture ratio and ripening time. *International Journal of Food Properties*, 2008, 11, 624–637.