

Bakterie mléčného kvašení v potravinách nemléčného původu

Palíšková Michaela

Bakalářská práce
2013

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav analýzy a chemie potravin
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Michaela PALÍŠKOVÁ**
Osobní číslo: **T08117**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Bakterie mléčného kvašení v potravinách nemléčného původu.**

Zásady pro vypracování:

1. **Stručná taxonomie a charakterizace bakterií mléčného kvašení.**
2. **Stručný význam bakterií mléčného kvašení v potravinářském průmyslu.**
3. **Výskyt bakterií mléčného kvašení v potravinách nemléčného původu.**
4. **Nežádoucí vlastnosti bakterií mléčného kvašení v potravinách**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tisková**

Seznam odborné literatury:

1. ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. 3. oprav. a dopl. vyd. Praha: ACADEMIA, 2002. 363 s. ISBN80-200-1024-6.
2. GÖRNER, Fridrich a Ľubomír VALÍK. Aplikovaná mikrobiológia požívatin: princípy mikrobiológie požívatin, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výroby, ochorenia mikrobiálneho povodu, ktorých zárodoky sú prenášané požívatinami. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 2004, 528 s. ISBN 80-967-0649-7.
3. SEDLÁČEK, Ivo. Taxonomie prokaryot. 1. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2007, 270 s. ISBN 80-210-4207-9.
4. BLACKBURN, Clive de W. Food Spoilage microorganisms. 1st published. Cambridge: CRC Press, 2006. ISBN-10: 0-8493-9156.

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

Datum zadání bakalářské práce: **11. února 2013**

Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2013**

Ve Zlíně dne 11. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. Miroslav Fibera, CSc.
ředitel ústavu

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

Ve Zlíně *16.5.2013**Palibrera*

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se věnuje zpracování rešerše o bakteriích mléčného kvašení, které se nachází v potravinách nemléčného původu. První část je zaměřena na jednotlivé druhy bakterií mléčného kvašení, v druhé části jsou popsány potraviny obsahující tyto bakterie a vliv jejich působení na kvalitu potraviny a třetí část se zabývá pozitivními i negativními dopady aktivity bakterií mléčného kvašení na lidský organismus.

Klíčová slova:

Bakterie mléčného kvašení, fermentace, biogenní aminy

ABSTRACT

This bachelor thesis dedicated to the processing of research on lactic acid bacteria, which are found in food of non-milk origin. The first part focuses on the different types of lactic acid bacteria, the second part describes the food containing the bacteria and the impact of their activities on the quality of food and the third part deals with the positive and negative impacts of activities of lactic acid bacteria on the human body.

Keywords:

Lactic acid bacteria, fermentation, biogenic amines

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala Ing. Vendule Pachlové, PhD. ,vedoucí mé bakalářské práce, za velkou dávku trpělivosti, cenné rady a připomínky.

„Věk nehraje roli, sympatie bourají pomyslné hranice a štěstí existuje v mnoha podobách.“

(neznámý)

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

OBSAH

ÚVOD	9
1 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ	10
ROD <i>STREPTOCOCCUS</i>	11
ROD <i>ENTEROCOCCUS</i>	12
ROD <i>LEUCONOSTOC</i>	13
ROD <i>PEDIOCOCCUS</i>	14
ROD <i>LACTOBACILLUS</i>	15
ROD <i>BIFIDOBACTERIUM</i>	17
2 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ V POTRAVINÁCH NEMLÉČNÉHO PŮVODU	20
2.1 BMK VE FERMENTOVANÝCH MASNÝCH VÝROBCÍCH	20
2.2 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ V MASE RYB A VODNÍCH ŽIVOČICHŮ	24
2.3 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ VE FERMENTOVANÉ ZELENINĚ	24
2.4 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ VE VÍNĚ	25
2.5 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ V PIVU.....	29
2.6 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ V KVASU	30
2.7 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ V NEALKOHOLICKÝCH NÁPOJÍCH	31
3 ŽÁDOUCÍ ÚČINKY BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ	32
ANTIMIKROBNÍ PŮSOBNÍ	32
TVORBA CHUŤOVÝCH LÁTEK.....	32
TERAPEUTICKÉ ÚČINKY	33
4 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ A BIOGENNÍ AMINY	34
4.1 VZNIK BIOGENNÍCH AMINŮ.....	34
4.2 BIOGENNÍ AMINY A ÚČINKY NA ORGANISMUS	35
4.3 BIOGENNÍ AMINY V POTRAVINÁCH	36
4.3.1 Ve víně	37
4.3.2 V pivu	39
4.3.3 V mase	39
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	47
SEZNAM OBRÁZKŮ	48
SEZNAM TABULEK	49

ÚVOD

Bakterie mléčného kvašení (BMK) jsou velmi důležitou a vysoce rozsáhlou skupinou mikroorganismů.

BMK jsou grampozitivní bakterie, jejichž hlavním fermentačním produktem je kyselina mléčná. Tyto bakterie se dělí na homofermentativní a heterofermentativní druhy. Protože nemají příliš biosyntetických funkcí, vyžadují vysoké nutriční požadavky na svoji výživu, zejména pak na přísun vitamínů a aminokyselin. Mléčné bakterie hrají nepostradatelnou úlohu v potravinářském průmyslu, kde se hojně využívá mimo jiné jejich konzervačních schopností a pozitivního ovlivnění organoleptických vlastností.

BMK jsou součástí střevní mikroflóry lidí a zvířat, tudíž téměř všechny druhy bakterií mléčného kvašení jako takových, jsou považovány za bezpečné mikroorganismy.

1 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ

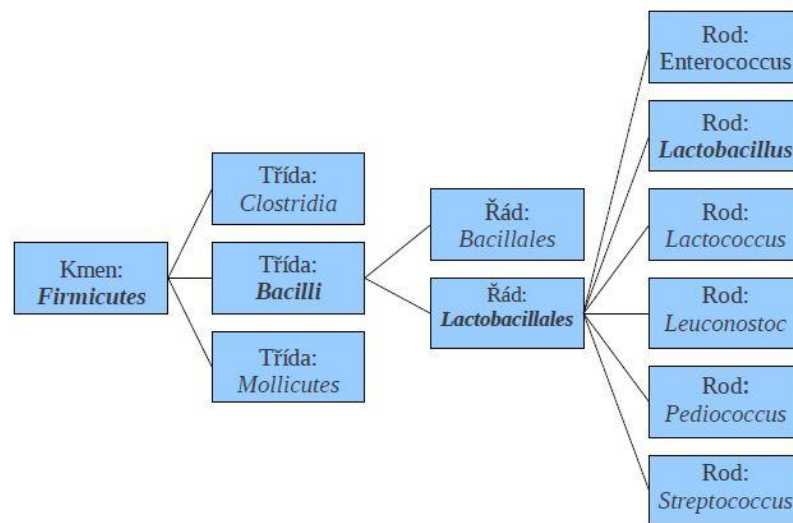
Z potravinářsko-mikrobiologického hlediska obsahuje skupina mléčných bakterií jedny z nejdůležitějších bakterií vůbec. Bakterie mléčného kvašení (BMK) jsou využívány nejen v průmyslu mlékárenském, velkou úlohu hrají i v konzervářském průmyslu, masoprůmyslu a nezastupitelnou úlohu mají při výrobě chleba a ostatních pekárenských výrobků. (Görner, Valík, 2004)

Bakterie mléčného kvašení se vyskytují ve více přírodních stanovištích, ne jen v mléku a ve fermentovaných mléčných produktech. Nachází se na rozkládajících se rostlinách, dále ve střevech lidí, zvířat a na jejich sliznicích. (Görner, Valík, 2004)

BMK tvoří skupinu nepohyblivých gram-pozitivních nesporulujících tyčinek a koků, jejichž hlavní konečný produkt při metabolismu sacharidů je kyselina mléčná. (Battock, Azam-Ali, 1998) Jejich metabolismus může za aerobních podmínek vést až k oxidační disimilaci za vzniku CO₂ a kyseliny octové. Přitom se jako meziprodukt tvoří mikrobicidní peroxid vodíku. (Görner, Valík, 2004)

1.1 Třídění bakterií mléčného kvašení

Z obrázku.1 je patrné taxonomické zařazení bakterií mléčného kvašení, ale to, jaké druhy tvoří tuto skupinu, je značně diskutabilní. Z historického hlediska rody *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* a *Streptococcus* tvoří hlavní zástupce skupiny BMK. V současné době skupina bakterií mléčného kvašení obsahuje kolem 20-ti druhů. V potravinářské technologii se za hlavní považují tyto: *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* a *Weissella*. (Salmien, 2004).

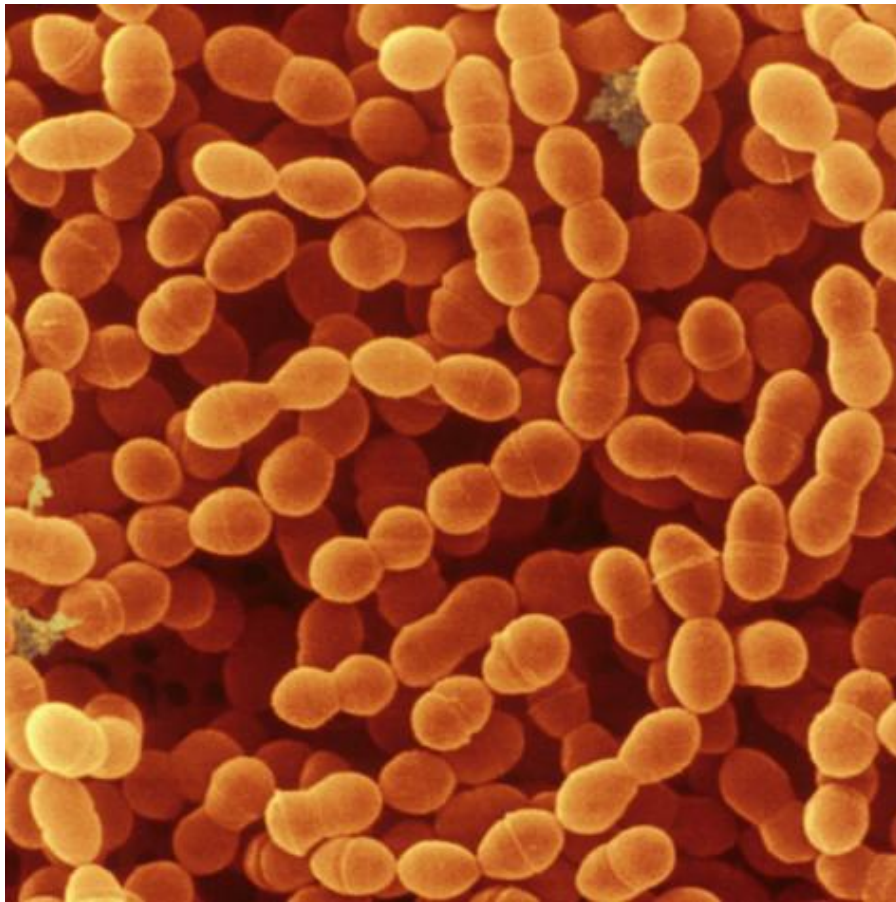


Obr.1.: Taxonomie BMK (Upraveno dle: Doležálek, 1962)

Rod *Streptococcus*

Rod *Streptococcus* (Obr.2) obsahuje jak druhy parazitické až choroboplodné, tak i druhy saprofytické. (Görner, Valík, 2004). Zkvašují glukózu na kyselinu mléčnou, prakticky netvoří jiné kyseliny ani CO₂. Jsou grampozitivní až gramlabilní, někdy opouzdřené. Dobře rostou na půdách s bílkovinou. Dusičnany neredukují v dusitany. Lze je rozdělit na druhy fakultativně anaerobní a anaerobní. (Doležálek, 1962)

S výjimkou termofilního druhu *Streptococcus salivarius ssp.thermophilus* (Obr.2), je jejich optimální teplota růstu kolem 37 °C a nižší. Mnohé streptokoky jsou citlivé vůči široké škále antibiotik a chemoterapeutik, což se využívá při léčbě jimi způsobených onemocnění. U technologicky významných streptokoků je tato vlastnost nežádoucí. Streptokoky se nachází v mukózních membránách úst, v dýchacím a zažívacím traktu, na pokožce lidí a zvířat. (Görner, Valík, 2004)



Obr.2.: *Streptococcus thermophilus* (allposters.cz)

Rod *Enterococcus*

Význam a úlohy příslušníků rodu *Enterococcus* (Obr. 3) jsou v potravinářské mikrobiologii na první pohled protichůdné. Využívají se jejich pozitivní vlastnosti z původní příslušnosti k rodu *Streptococcus*. Intenzivně fermentují sacharidy a někdy se podílí na tvorbě aroma a chuti potravin. Připisuje se jim toxicita, tvorba biogenních aminů a využívají se v mikrobiologii pitné vody jako indikátor fekálního znečištění. (Görner, Valík, 2004)



Obr.3 *Enterococcus faecalis* (ars.usda.gov)

Rod *Leuconostoc*

Buňky rodu *Leuconostoc* (Obr.4) jsou obvykle kulaté, uspořádané v párech či řetězcích. Vzhledem k tomu, že vlivem prostředí a změnou pH jsou značně proměnlivé, tzv. pleomorfní, je jejich velikost různá. Vyznačují se růstem v koncentrovaných cukerných roztocích (Tvrdouš, Bálešová, 1986) a některé druhy, zejména *Leuconostoc mesenteroides ssp. mesenteroides*, tvorbou charakteristického slizu polysacharidové povahy, kterým jsou buňky obaleny. (Görner, Valík, 2004) Tento jev je nežádoucí zejména ve výrobě droždí, kde dochází k tzv. aglutinaci, a ve výrobě slazených minerálních vod. (Šilhánková, 1983)

Mezi nejznámější a technologicky nejvýznamnější patří:

Leuconostoc dextranicum

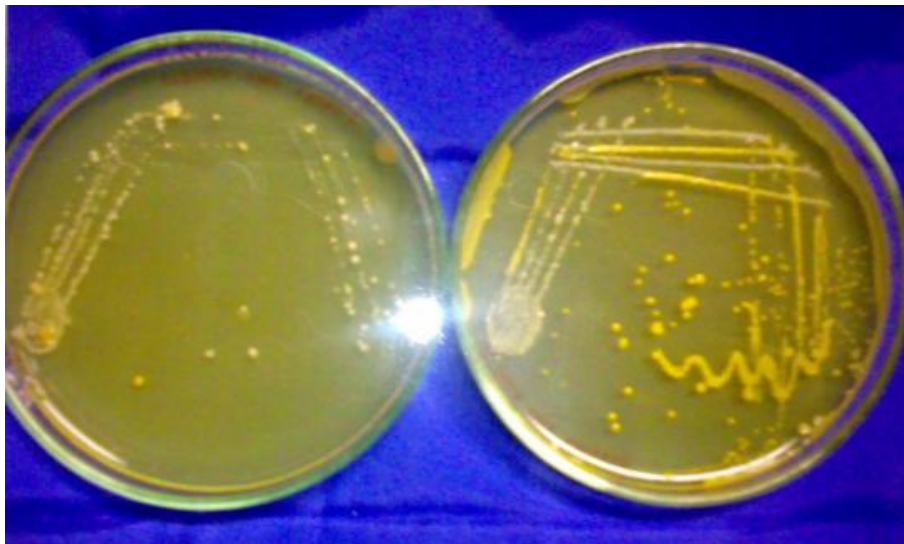
Ze sacharózy tvoří rychle se rostoucí sliz. Tvoří kyselinu z glukózy, fruktózy, galaktózy, maltózy, sacharózy, laktózy a mannózy. Optimální teplota růstu je 21 až 25°C. (Doležálek, 1962)

Leuconostoc cremonis

Netvoří ze sacharózy sliz, optimální růstová teplota je 18 – 25°C. Mezi leukonostoky je nejméně aktivní a nejvíce náročný na přísun růstových faktorů vitamínů skupiny B a aminokyselin. (Görner, Valík, 2004) Uplatňuje se při biologickém zrání výroby másla ze zakysané smetany. Dodává máslu příjemné aroma a chuť kysané smetany (Šilhánková, 1983)

Většina leuconostoků disimuluje za přítomnosti fermentovatelného sacharidu citran za tvorby diacetylu ($\text{CH}_3\text{-CO-CO-CH}_3$), acetoinu ($\text{CH}_3\text{-CHOH-CO-CH}_3$) a 2,3-butylenglykolu. Diacetyl je v mlékárenství významnou aromatickou látkou, naproti tomu v pivě a víně je nežádoucí. (Görner, Valík, 2004).

Bakterie rodu *Leuconostoc* se zúčastňují i při fermentaci zeleniny a plodů, jsou také významnou složkou mikroflóry masa a masných výrobků. (Görner, Valík, 2004). Způsobují také velmi škodlivou kontaminaci melasy již v cukrovarech a odtud se dostávají do všech provozů, kde se melasa zpracovává. Protože tyto bakterie tvoří sliz (dextran), který může ucpávat potrubí, zapříčiňují četné provozní kalamity. (Tvrdoň, Báležová, 1986).



Obr.4 *Leuconostoc* (www.scienceray.com)

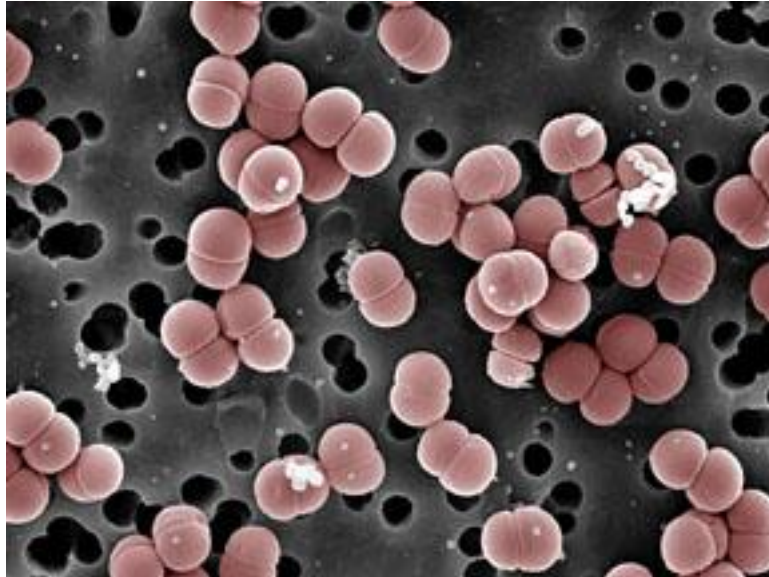
Rod *Pediococcus*

Bakterie rodu *Pediococcus* (Obr.5) patří mezi homofermentativní bakterie mléčného kvašení. Jejich hlavním metabolitem při fermentaci sacharidů je racemická a pravotočivá kyselina mléčná. Jejich původním stanovištěm jsou rostliny a z nich se dostávají do příslušných poživatin. (Görner, Valík, 2004)

Pediococcus cerevisiae, označovaný též jako pивní sarcina je velmi obávaným kontaminantem, protože produkuje acetoin, který nepříznivě ovlivňuje aroma i chuť piva. (Šilhánková, 1983)

Pediokoky, přítomné v přiměřeném množství ve víně, se zúčastňují při odbourávání dikarboxylové kyseliny jablečné, na monokarboxylovou kyselinu mléčnou a CO_2 , čímž se ve víně snižuje obsah kyselin. (Görner, Valík, 2004) Tento jev je doprovázen působením malolactic-

kých enzymů, strukturou podobné těm jablečným. Rozdíl je v tom, že jablečný enzym tvoří pyruvát, malolaktický naopak laktát. (Lounvaud, 1999)



Obr. 5 *Pediococcus pentosaceus* (bioweb.usu.edu)

Rod *Lactobacillus*

Je velmi rozsáhlý a z potravinářského hlediska velice významný. Bakterie tohoto rodu tvoří převážně dlouhé, tenké tyčinky (Obr.6). Jsou grampozitivní, nepohyblivé, netvoří spory (Tvrdoň, Báležová, 1986) a velmi zřídka jsou patogenní. (Görner, Valík, 2004)

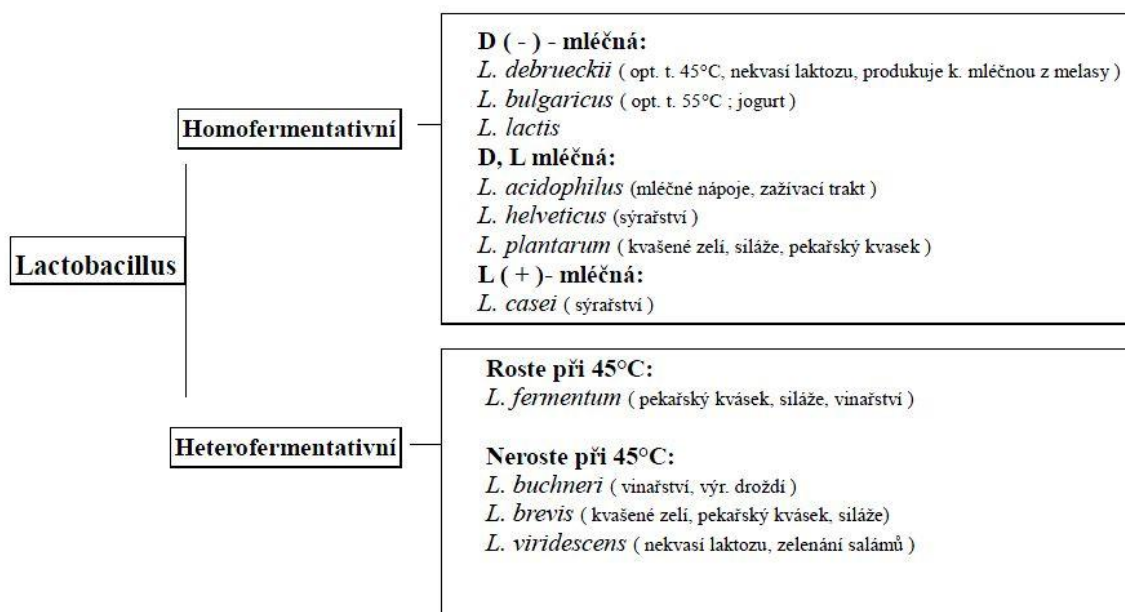


Obr. 6. *Lactobacillus brevis* (bioweb.usu.edu)

Hlavním znakem těchto bakterií je zkvašování cukrů, včetně laktózy, na kyselinu mléčnou. (Doležálek, 1962), a přestože je kyselina mléčná konečný produkt mléčného kvašení, může být dále metabolizována za aerobních podmínek laktátdehydrogenázou nebo laktát oxidázou. (Kameník, 2010)

Lactobacily se dělí na homo- a heterofermentativní (Obr.7). Liší se v enzymovém vybavení, a to přítomností či nepřítomností fruktozabifosfátaldolázy a fosfoketolázy. (Kameník, 2010)

Heterofermentativní laktobacily využívají fosfoketolázu, ale nemají fruktozabifosfátaldolázu, obligátně homofermentativní laktobacily naopak využívají fruktozabifosfátaldolázu. Nejsou proto schopni fermentovat pentozy, které jsou štěpeny fosfoketolázou za vzniku ekvimolárního množství kyseliny mléčné a kyseliny octové. Existují homofermentativní laktobacily, které mají ve své enzymové výbavě indukovatelnou fosfoketolázu. Indukční účinek mají pentozy. V jejich přítomnosti nastává heterofermentativní štěpení. Hexozy jsou zkvašovány homofermentativně. Tato skupina laktobacilů se označuje jako fakultativně heterofermentativní (Kameník, 2010)



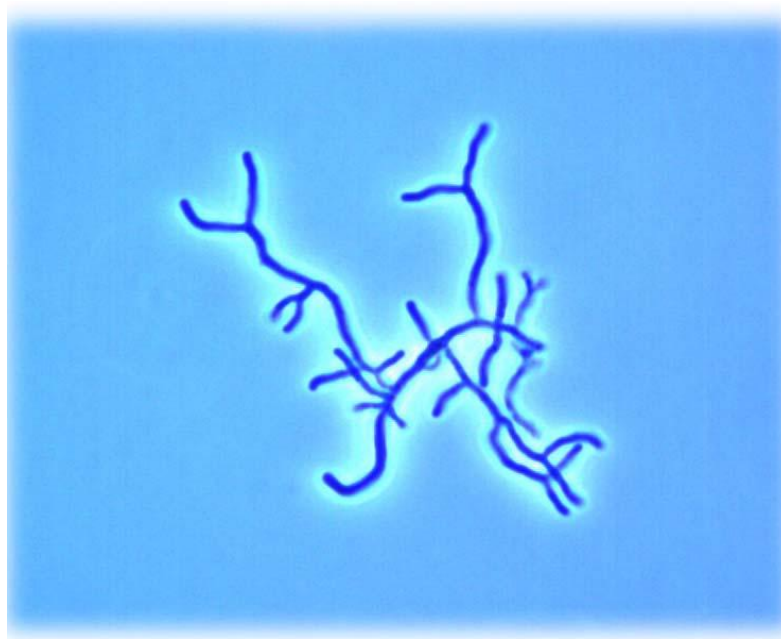
Obr.7.: Schématické rozdělení nejvýznamnějších druhů rodu *Lactobacillus*
(Šilhánková, 1983)

Rod *Bifidobacterium*

Jsou nepravidelné, často se větvící, grampozitivní, spíše striktně anaerobní, kalatalázo-negativní paličky (Obr.8)

Z fermentovatelných sacharidů produkují kyselinu octovou a kyselinu mléčnou, které inhibují nežádoucí bakterie. (Görner, Valík, 2004) Kyselina mléčná je převážně v L(+)formě a je tudíž snadno metabolizovaná dětským organismem. (Maxa, Rada, 1996).

Bifidobakterie neprodukují CO₂, máselnou ani propionovou kyselinu. Produkují zejména thiamin a laktoflavin, jakož i některé vitamíny skupiny B a K. (Maxa, Rada, 1996) Růst bifidobakterií podporují tzv. bifidogenní faktory. Tyto látky spolu s obsahovými látkami a vlastnostmi mateřského mléka stimuluje růst bifidobakterií v tlustém střevě. (Görner, Valík, 2004).



Obr.8.: *Bifidobacterium* (acid-lactic-bacteria.com)

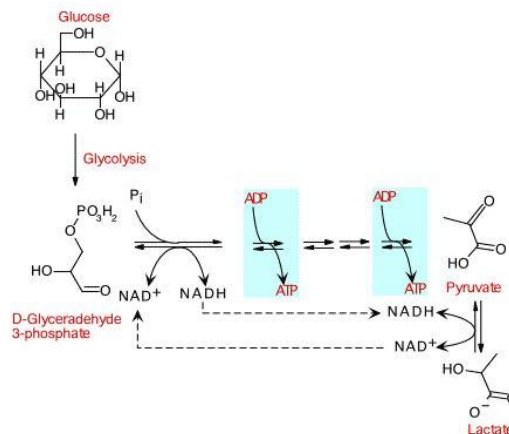
1.2 Mléčné kvašení

Mluvíme-li o mléčném kvašení, uvažujeme vždy vznik kyseliny mléčné ze sacharidů, vyšších alkoholů, popřípadě i jiného uhlíkatého materiálu. Podle kvalitativního a kvantitativního zastoupení produktů tohoto metabolismu můžeme rozlišit mléčné kvašení homofermentativní a

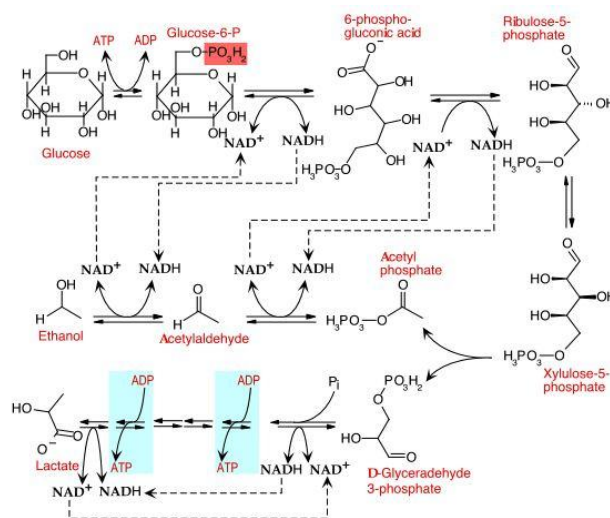
heterofermentativní. Uvádí se, že i mezi těmito extrémními případy existuje ještě kvašení smíšené, při němž se tvoří vedlejší produkty, chybí však vodík. (Doležálek, 1962)

V praxi ani homofermentativní (obr.9) kvašení nikdy nedosáhne 100% konverze, a to protože se může kromě biomasy tvořit různé množství vedlejších produktů. Obecně platí, že fermentaci s výtěžkem vyšším než 80% lze považovat za homofermentativní. (Masák et al., 1992).

Heterofermentativní (obr. 10) kvašení je charakterizováno tím, že mimo kyselinu mléčnou ještě vznikají ostatní produkty, jako například kyselina octová, vodík, CO_2 , etanol. (Görner, Valík, 2004) Většině původců tohoto kvašení chybí základní enzymy glykolytické dráhy (aldoláza, triózofosfátizomeráza), což znamená, že štěpení hexoz probíhá po fosfoketolázové dráze. (Rosypal, 1981)



Obr. 9.: Homofermentativní kvašení (dwb.unl.edu)



Obr.10.: Heterofermentativní kvašení (dwb.unl.edu)

1.3 Výroba kyseliny mléčné

Kyseliná mléčná, v databázi konzervantů vedená jako E – 270 (szu.cz), je vysoce důležitá organická kyselina, která má široké uplatnění napříč celým spektrem rozdílných průmyslů. Jak už víme, využívá se v pekárenství, pivovarnictví, přípravě limonád, ale také k barvení a zušlechťování textilií či farmaceutickém průmyslu. Využití najde, díky svým antiseptickým vlastnostem, při výrobě mastí, zubní pasty, ústních vod a mýdel určených k intimní hygieně. (Kutilov.cz)

Pro průmyslovou výrobu mléčné kyseliny jsou v současné době doporučovány tři kmeny homofermentativních mléčných bakterií s teplotním optimem 45-48°C, a to *L. delbruckii subs. delbruckii*, *L. delbruckii subs. leichmanii*, *L. delbruckii subsp. bulgaricus*. (Pelikán, Dudáš, 1996)

Fermentační půdy, které obsahují melasu, se nezíská kvalitní mléčná kyselina. Extrahováním organickými rozpouštědly docílíme zlepšení kvality. Kmeny *Lactobacillus* neobsahují amylytické enzymy, tudíž musí být škrobnaté enzymy předem hydrolyzovány. (Pelikán, Dudáš, 1996)

Fermentační půda je sterilována záhřevem na 90-95°C. Po snížení teploty na 50° je přidán v malém přebytku uhličitán vápenatý a následuje inokulace aktivní kulturou *L. debruckii*. Ve většině případů bývá producentem mléčné kyseliny kmen *Lactobacillus delbruckii subsp. delbruckii*. Už i zpravidla malé množství kyseliny mléčné zastavuje nebo zpomaluje růst bakterií, je tedy nutná její neutralizace, a to zpravidla uhličitánem nebo hydroxidem vápenatým. Optimální pH je 5,5 - 6,0. Kyselina mléčná vzniká ve formě vápenatých solí. V důsledku omezené rozpustnosti Ca-laktátu by koncentrace sacharidů v médiu neměla být vyšší než 13-15%. (Pelikán, Dudáš, 1996)

Kyselina mléčná se prodává ve třech kvalitách, dle stupně čistoty: *technická*, která se využívá v textilním průmyslu jako impregnace a odvápnění kůží, *potravinářská*, je bezbarvá kapalina s min. 60% obsahu kyseliny mléčné, a *farmaceutická*, na kterou jsou kladeny požadavky nejvyšší čistoty a s obsahem kyseliny mléčné vyšší než 90%. (Pelikán, Dudáš, 1996)

2 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ V POTRAVINÁCH NEMLÉČNÉHO PŮVODU

Úlohy a význam bakterií mléčného kvašení lze rozdělit do tří základních skupin. Některé mikroorganismy se mohou vyskytovat současně ve dvou skupinách, a to podle jejich vlastností a účinků v potravině.

- Mikroorganismy s pozitivním účinkem, a to například při výrobě fermentovaných potravin.
- Mikroorganismy s negativním účinkem při mikrobiálním kažení, nežádoucím kvašení a podobně.
- Poživatiny mohou být za nepříznivých okolností přenašeči choroboplodných mikroorganismů z pramenu nákazy (nemocný člověk či zvíře). (Görner, Valík, 2004)

2.1 BMK ve fermentovaných masných výrobcích

Vhodné mikroorganismy mohou jakost fermentovaných masových produktů výrazně zlepšovat, zatímco nevhodné až nežádoucí mikroorganismy jejich jakost zhoršovat, ba dokonce nepříznivě ovlivnit i zdravotní stav konzumenta. Diebel (1974) zformuloval požadavky mikrobiálních kultur následovně:

- Mikroorganismy musí být halo- a nitrozotolerantní ($> 6 \% \text{ NaCl}$, $>100\text{mg.kg}^{-1} \text{ NO}_2^-$),
- Musí růst v teplotním rozmezí 27 až 43°C
- Nesmí produkovat metabolity bílkovin, které by negativně ovlivňovaly organoleptické vlastnosti produktů
- Nesmí být nebezpečné, patogenní pro konzumenty.
- BMK musí být homofermentativní , aby netvořily plyn a jiné nežádoucí metabolity
- Neměli by být proteolytické ani lipolytické, pokud to není v některých případech žádoucí. (Görner, Valík, 2004)

Startovací kultury

Startovací kultury jsou vybrané bakteriální kmeny, které se přidávají do díla pro svůj pozitivní vliv na okyselení a tím i mikrobiální stabilitu, organoleptické vlastnosti výrobku. (Feiner, 2008)

Bakterie mléčného kvašení, které jsou součástí komerčních startovacích kultur lze rozdělit na startovací kultury 1. a 2. generace.

Startovací kultury 1. generace byly izolovány původně z rostlin, a po implementaci do masového díla se rozmnoží během krátké doby na velký počet buněk. Jakmile je dosažena hodnota pH kolem 5.0, následuje rychlý pokles jejich činnosti. Na jejich místo se dostávají lactobacily dobře adaptabilní na prostředí díla. To jsou hlavně kmeny druhu *Lactobacillus sakei*, případně *curvatus*. Nelze však vyloučit přítomnost lactobacilů, které mají negativní vliv na organoleptické vlastnosti trvanlivých fermentovaných salámů. K předcházení tohoto rizika je proto žádoucí použít startovací kultury, které se přizpůsobují na dané prostředí a dokáží příznivě reagovat. Důsledkem bylo zavedení startovací kultury 2. generace, kmenů zejména *Lactobacillus sakei*, které vyvolávají nejen žádoucí pokles pH v díle na začátku zrání, ale jsou také schopné kontrolovat průběh fermentace. (Buckenhuskes,1991)

Dávkování startovacích kultur do salámového díla musí zaručit minimální počet 10^7 bakteriálních buněk na 1 gram díla. (Feiner 2008). Startovací kultury jsou běžně dostupné v mraženém, lyofilizovaném nebo tekutém stavu. (Kameník, 1994)

Nejčastěji se dnes používají startovací kultury, obsahující rody *Lactobacillus* (*sakei*, *curvatus*), *Pediococcus* (*acidilactici*, *pentosaceus*), *Staphylococcus* (*xylosus*, *carnosus*). (Thalhammer,1997)

Trvanlivé masné výrobky

Popisuje legislativa (Vyhláška ministerstva zemědělství č. 326/2001 Sb.) jako tepelně neopracovaný výrobek, u kterého v průběhu fermentace způsobené mikrobiálními enzymy, zrání, sušení, došlo ke snížení aktivity vody s hodnotou $a_w = 0,93$, s minimální dobou trvanlivosti 21 dní, při teplotě 20°C. Jsou to produkty, kde bylo při výrobě dosaženo ve všech částech tepelného účinku min. 70°C po dobu 10 minut. (Kameník, 2010)

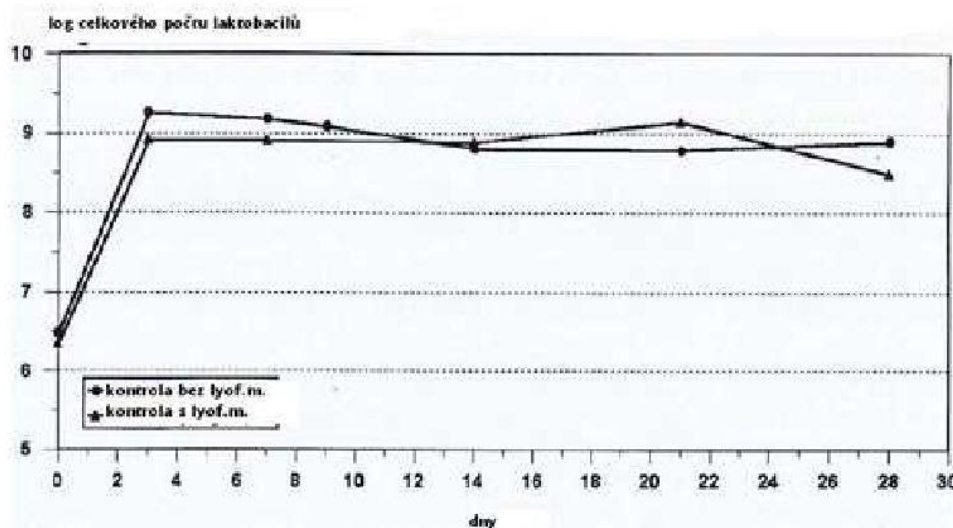
Fermentované masné produkty se vyrábí z chlazeného masa s podílem tuku, kořením, solícími přísadami a startovacími kulturami. Startovací kultury obsahují BMK rodu *Lactobacillus* a *Pediococcus*. Jejich úloha spočívá především ve vzniku požadovaných organoleptických vlastností a zamezení tvorby nežádoucí mikroflóry (tab.1). Některé bakterie tvoří mimo jiné i peroxid vodíku, který nepříznivě ovlivňuje chuť a barvu výrobku. Z toho důvodu jsou ve startovacích kulturách obsaženy i bakterie čeledě *Micrococcaceae*, konkrétně rodu *Micrococcus*

a *Staphylococcus*, které peroxid vodíku rozkládají na vodu a molekulární kyslík. (Görner, Valík, 2004)

Mikroorganismus	Úloha	Účinek na produkt
Bakterie ml.kvašení		
<i>Lactobacillus plantarum</i>	tvorba kyselin	Konzervace, zpevnění
<i>Pediococcus pentosaceus</i>		urychlení vybarvení
<i>Pediococcus acidilactici</i>	tvorba kyselin a bakteriocínu pediocín	tvorba aroma
<i>Micrococcaceae</i>		urychlení vybarvení
<i>Micrococcus varians</i>	redukce NO ₃ , destrukce H ₂ O ₂	vybarvení, konzervace, tvorba aroma
<i>Staphylococcus carnosus</i>	snížení hodnoty Eh	stabilizace barvy a chuti
<i>Staphylococcus xylosum</i>	rozklad tuku	inhibice mikroflory

Tab.1.: Úlohy čistých mikrobiálních kultur (Görner, Valík, 2004)

Při přípravě fermentovaných masných výrobků se bakterie množí v prvních dnech fermentace a jejich počet zůstává stejný po čas celého procesu výroby. Obrázek č. 11 prezentuje průběh růstu laktobacilů po přidavku startovací kultury v díle během zrání. Vzorky se odlišovaly přidáním 4,4% masa, průměr výrobku byl 75mm. (Kameník, 2010).



Obr.11.: Průběh růstu populace laktobacilů během zrání (Kameník, 2010)

V zahraničních produktech má největší zastoupení *Lactobacillus sakei*, který představuje až 89% -ní zastoupení všech španělských výrobků. Ve francouzských ke konci zrání až 100%. V tradičních italských trvanlivých fermentovaných salámech tvoří *Lactobacillus sakei* a *Lactobacillus curvatus* více než 90% všech identifikovaných laktobacilů. (Bonomo et al., 2008)

Druhý nejvíce zastoupený je *Lactobacillus curvatus*, třetí v pořadí *Lactobacillus plantarum*, který je hojně obsažen v řeckých trvanlivých salámech. (Kameník, 2010) *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus pentosus*, (Görner, Valík, 2004) *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus* (Kameník, 2010), *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptomyces griseus*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus* (Görner, Valík, 2004) jsou bakterie také obsažené v díle, ale spíše v menším zastoupení.

V českých výrobcích, typu Poličan a Herkules, jsou nejčastějšími zástupci *L. sakei* a *L. curvatus*. (Kameník, 2010)

Přestože je přítomnost BMK ve výrobě uzenin vesměs žádoucí, může dojít i ke kontaminaci heterofermentativními bakteriemi druhu *L. viridescens*, což způsobuje nepříznivé zelenání prátu a hotových výrobků. Protože tyto bakterie neobsahují enzym katalázu, tvoří při fermentaci peroxid vodíku či jiný peroxid, který reaguje s růžovými pigmenty masa, a to je příčinou jeho zelenání. (Šilhánková, 1983)

Mikrobiální kažení masa

Maso je na základě svého chemického složení, fyzikálních vlastností a vysokého obsahu vody ideální živnou půdou pro mikroorganismy. Mikrobiální kažení jatečně opracovaného masa se uskutečňuje převážně od povrchu dovnitř. Viditelným znakem mikrobiologického kažení masa je jeho osliznutí, tvorba barevných skvrn a nepřírodního pachu, což se projevuje počtem bakterií 10^7 až 10^8 KTJ.cm⁻¹. Se stoupající teplotou, což bývá spojené s poklesem hodnoty aktivity vody na povrchu masa, se vzrůstající mírou se uplatňují gramnegativní bakterie. Často jsou to *Enterobacteriaceae* a grampozitivní bakterie rodu *Micrococcus*, *Staphylococcus* a *Bacillus*. (Görner, Valík, 2004)

Výzkumníci Masarykovy Univerzity spolu s Ústavem hygieny a technologie masa Veterinární a farmaceutické Univerzity v Brně detekovali bakterie mléčného kvašení, ve vzorcích hovězího a vepřového masa, baleného v ochranné atmosféře. Na konci laboratorních testů zjistili, že jako jedna z příčin kažení baleného masa byla bakterie mléčného kvašení rodu *Leuconostoc* a *Lactobacillus*. Nárůst BMK dosáhl maxima 10^6 KTJ.cm⁻¹ v rozmezí 21-28 dnů skladování. Po uplynutí této doby bylo maso nepoživatelné. (vetweb.cz).

2.2 Bakterie mléčného kvašení v mase ryb a vodních živočichů

Kažení rybího masa, vyvolané bakteriemi rodu *Bacillus* a *Micrococcus* se projevuje daleko dříve než u jiných druhů masa. Je to způsobené odbouráváním vodorozpustných dusíkatých sloučenin rybího masa, přičemž vznikají intenzivní zápachající látky, jako například amoniak, sirovodík, metylmerkaptán, dimethylsulfid a jiné. (Görner, Valík, 2004)

Mušle, měkkýši, ústřice obsahují také vysoký počet nízkomolekulárních dusíkatých sloučenin, které jsou mikroorganismy lehkou využitelné, a kromě toho 3 až 6% glykogenu. Jejich kažení je způsobeno gramnegativními bakteriemi, mikrokoky a druhy rodu *Bacillus*. Pro vysoký obsah fermentovatelného sacharidu se kažení zúčastňují i enterokoky a druhy rodu *Lactobacillus*. (Görner, Valík, 2004)

2.3 Bakterie mléčného kvašení ve fermentované zelenině

Fermentace mléčně kvašené zeleniny je více stupňový proces, kterého se postupně účastní různé druhy mikroorganismů, zejména však bakterie mléčného kvašení. K dodržení a správnosti fermentace je třeba dodržovat a zabezpečit optimální vnější a vnitřní podmínky, a to zejména koncentrace soli, vhodnou teplotu, vlhkost. (Bartoš, Kopec, 1989)

Rozvoj jednotlivých mikrobů se dá rozdělit do čtyř jednotlivých fází kvašení, kde se prolínají různé druhy mléčných bakterií. Ty se dostávají do kvasné kádě spolu se surovinou. Například vnější listy zelí obsahují $2 \cdot 10^6$ KTJ.cm⁻¹. Vnitřní listy, které jsou místem přirozeného výskytu bakterií rodu *Lactobacillus*, kolem $4 \cdot 10^3$ KTJ.cm⁻¹. (Bartoš, Kopec, 1989)

V první fázi kvašení, která trvá přibližně 3 dny, se uvolňuje buněčná šťáva narušením rostlinných pletiv. V hmotě je přítomný kyslík, proto se množí zejména aerobní mikroflóra, která vytváří kyseliny a plyny. Mluvíme o bakteriích rodu *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella*. Během této fáze se tvoří aromatické a chuťové látky, organické kyseliny a jejich estery, produkty metabolismu bílkovin. Zároveň je v této fázi spotřebováván kyslík. (Bartoš, Kopec, 1989, Machala, 2008).

Druhá fáze má trvání také 3 dny a přichází na řadu heterofermentativní mléčné bakterie, jako jsou například *Leuconostoc mesenteroides* či *Lactobacillus brevis*. Krom dalšího poklesu pH je patrné i uvolňování CO₂. (Görner, Valík, 2004).

Během třetí fáze jsou selektivně podporovány homofermentativní mléčné bakterie, kdy nevznikají plyny, ale výlučně kyselina mléčná. Ta je pak rozhodující, co se týká trvanlivosti

daného produktu. V této fázi je dominantní mléčná bakterie *Lactobacillus plantarum*. (Bartoš, Kopec, 1989)

Závěrečná, čtvrtá fáze, je fází dokvašení. Té se účastní pouze nejodolnější druhy mléčných bakterií, například *Lactobacillus brevis*. Hodnota pH se pohybuje v rozmezí 2 až 2,5 a zastavuje veškeré další procesy. (Bartoš, Kopec, 1989)

2.4 Bakterie mléčného kvašení ve víně

Technologie výroby vína je jedno z nejstarších odvětví biotechnologie jako takové. Přesto, že výroba vína je velmi náročná a vysoce odborná záležitost, lze ji zjednodušeně shrnout jako biotransformaci moštu na víno. Tato biotransformace je vykonána především prostřednictvím kvasinek během primárního neboli alkoholového kvašení. Nezastupitelnou roli při výrobě vína hrají i bakterie mléčného kvašení, které jsou zodpovědné za sekundární neboli jablečno-mléčné kvašení. (chempoint.cz)

BMK, izolované z hroznového moštu jsou tyto *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*. V prvních dnech kvašení se počet BMK zvyšuje na 10^4 KTJ.cm⁻¹, poté se snižuje k 10^3 KTJ.cm⁻¹. (Loundvauld, 1994)

Jablečno mléčné kvašení ve víně

Jablečno-mléčné kvašení může ve víně probíhat na základě metabolické aktivity mléčných bakterií, vyskytujících se spontánně na hroznech ve vinici nebo ve vinařském provozu. V důsledku jejich činnosti dochází k přeměně kyseliny L-jablečné na kyselinu L-mléčnou a tím k celkovému snížení kyselosti vína. (Pavloušek, 2006) Dekarboxylace kyseliny jablečné na kyselinu mléčnou je katalyzována malolaktickým enzymem.. Malolaktický enzym byl prvně zjištěn u *Lactobacillus plantarum*, dále byl získán i z mnoha jiných bakterií mléčného kvašení. (Lounvauld, 1999)

Jablečno-mléčné kvašení nastane, když počet BMK dosáhne 10^6 KTJ.cm⁻¹. Zahájení tohoto kvašení závisí na teplotě, pH, obsahu etanolu. (Loundvauld). Značný vliv na tuto fermentaci má oxid siřičitý. Malé množství volného SO₂ (pod 30 mg.l⁻¹) aktivitu nezpomaluje. Vysoká koncentrace SO₂ (nad 30 mg.l⁻¹) při současné vyšší aciditě (okolo pH 3,0) činnost bakterií silně inhibuje. Optimální teplota pro fermentační činnost bakterií jablečno-mléčného kvašení je 20°C. Při teplotě nad 25°C se jejich kvalita zpomaluje a při teplotě nad 34°C se zastavuje. (Švejcar, Minárik, 1991)

Při dokvácení dochází k intenzivnímu odbourávání kyseliny jablečné. Je velmi cenné zejména v ročnících s vysokým obsahem kyselin. (Pelikán, Dudáš, 1996). V České republice činnost jablečno-mléčného kvašení brzdíme jen u vín s nízkým obsahem kyselin, jako je Müller Thurgau a u odrůdových vín, které zvýšený obsah vznikající kyseliny mléčné sensoricky poškozuje jako je Tramín a Ryzlink rýnský. U jiných je naopak velmi prospěšné a projevuje se snížením celkové kyselosti, to je snížením koncentrace vodíkových iontů, harmonii poměru kyselin a alkoholu, zvýšením stability vína po druhém stočení. (Pelikán, Dudáš, 1996).

Jablečno-mléčné kvašení uskutečňuje celá řada bakterií, při jejich systematickém zařazování se přihlíží k optimálním růstovým teplotám (viz. Tab. 2) a rozdílnému způsobu kvašení. (Švejcar, Minárik, 1991)

ROD	DRUHY
Lactobacillus	1. HOMOFERMENTATIVNÍ GRAMPOZITIVNÍ TYČINKY <i>A. teplotní optimum 37 až 60°C</i> L. delbruckii L. caucasicus L. lactis L. helveticus L. acidophilus L. bifidus L. bulgaricus L. thermophilus <i>B. Teplotní optimum 28 až 32°C</i> L. casei L. leichmannii L. plantarum 2. HETEROFERMENTATIVNÍ GRAMPOZITIVNÍ TYČINKY L. pastorianus L. bruchneri L. brevis L. fermenti L. trichodes L. hilgardii
Leuconostoc	HETEROFERMENTATIVNÍ GRAMPOZITIVNÍ KOKY L. mesenteroides L. dextranicum L. citrovorum L. oenos
Pediococcus	HOMOFERMENTATIVNÍ GRAMPOZITIVNÍ KOKY P. cerevisiae P. acidi lactici
Streptococcus	HOMOFERMENTATIVNÍ GRAMPOZITIVNÍ KOKY (ve vínech je jejich výskyt nejistý)

Tab.2.: Rozdělení bakterií podílejících se na jablečno-mléčném kvašení (Švejcar, Minárik, 1991)

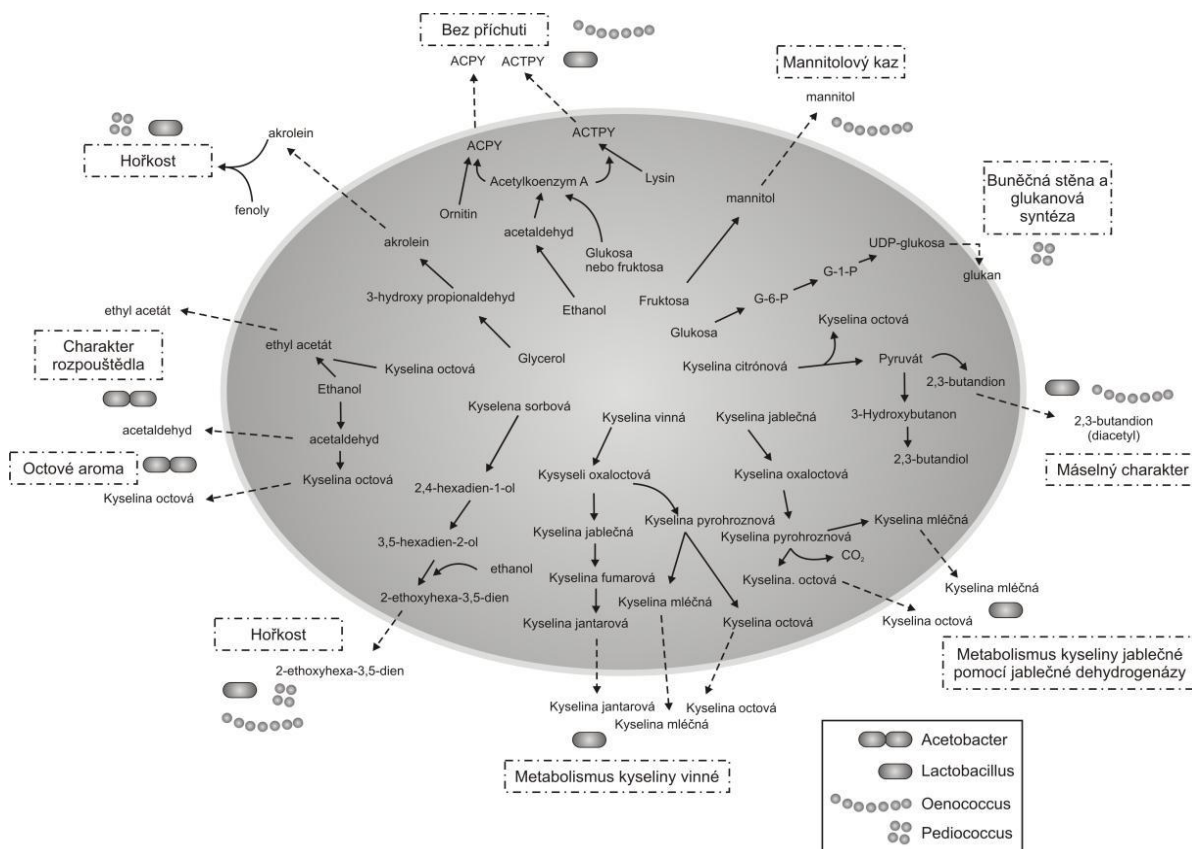
Biologické odbourávání kyselin, jak se v praxi jablečno-mléčného kvašení říká, probíhá převážně po hlavním alkoholickém kvašení a při dokvašení, protože jablečno-mléčné bakterie potřebují větší množství dusíkatých látek, které berou v první řadě z mrtvých autolyzovaných kvasinek. Vína, u kterých proběhlo biologické odbourávání kyseliny L-jablečné jsou plnější než vína uměle – chemicky – odkyselená uhličitanem vápenatým. Při biologickém odbourání kyseliny L-jablečné se extrakt vína nesnižuje, ale chuť vína se stává harmoničtější, zjemněná přítomností kyseliny mléčné. (Švejcar, Minárik, 1991).

Pokud se však nepoužijí startovací kultury a pro biologické odbourávání nebyly vytvořeny ideální podmínky (teplota cca 25°C, lehký stupeň zakalení, pH mezi 3,2 a 3,6; dobré zásobení živinami) mohou se objevit problémy a s tím spojená ztráta barvy. Průběh odbourávání by se měl pravidelně kontrolovat například měřením obsahu kyseliny jablečné pomocí papírové chromatografie nebo chromatografie na tenké vrstvě. Zhruba 1 týden po úplném odbourání kyseliny by se mělo víno přefiltrovat a stabilizovat. Jinak by dále probíhaly nekontrolovatelné biologické procesy, které mohou vést ke znatelnému snížení kvality. (Eder, et.al, 2006)

2.4.1 Vliv jablečno-mléčného kvašení na organoleptické vlastnosti vína

Během jablečno-mléčného kvašení produkují BMK mnoho, prozatím málo identifikovatelných látek, které ovlivňují aroma vína. (Obr.12) Jeden z nejvýznamnějších je máselný tón. Ten je přímo spojen se zvýšenou koncentrací diacetylu. (Lonvauld, 1999).

Diacetyl je vytvářen spíše homofermentativními bakteriemi kyseliny mléčné, mimo jiné také bakterií rodu *Pediococcus damnosus* a v menším množství bakterií rodu *Oenococcus oeni*. Diacetyl je sloučenina s intenzivní vůní a chutí, která je sensoricky účinná už ve zředění 1 : 1 000 000. V menší koncentraci (1 mg.l⁻¹ v bílém víně, 5 mg.l⁻¹ v červeném víně) dodává diacetyl vínu máselný tón, ale vyšší koncentrace je však třeba označit za vadu. Diacetylu se připisuje také tón po kyselině mléčné nebo tón charakterizující odbourávání. Ve zkažených vínech se tato vada vyskytuje následkem silné kontaminace pediokoky nebo lactobacily tvořící sliz. K máselnému tónu přistupuje také vláčkovatění a olejnatění vína. (Eder, et al., 2006).



Obr. 12.: Souhrn bakteriálních pochodů snižující aroma a chuť vína. (Bartowsky, 2008)

Také acetoin má vliv na změnu aroma. Směsi obsahující diacetyl, acetoin a 2,3 – butanol jsou výsledkem metabolismu kyseliny citronové. Všechny heterofermentativní koky (*Leuconostoc*, *Oenococcus*) a fakultativně heterofermentativní lactobacily (*Lb. casei*, *Lb. plantarum*) ve víně rozkládají kyselinu citronovou. Během jablečno-mléčného kvašení *O. oeni*, který je dominantní, metabolizuje kyselinu citronovou pomaleji než odbourávání kyseliny jablečné. Počáteční koncentrace je asi 250-300 mg.l⁻¹, konečná 0-100 mg.l⁻¹. Dokud není kyselina citrónová dokonale přeměněna, metabolismus funguje nadále. (Lonvaud, 1999).

Vady vína způsobené BMK

Zvrhnutí vína

Některé rody, respektive druhy mléčných bakterií mohou působit na kvalitu vína silně negativně, například *Lactobacillus plantarum*, které jsou schopné rozkládat v červených vínech kyselinu vinnou, vinný kámen a glycerol na kyselinu octovou, kyselinu mléčnou a CO₂. Tento nežádoucí jev se nazývá zvrhnutí vína. (Švejcar, Minárik, 1991)

Znakem zvrhnutí vína je změna barvy, a to z červené na hnědou. Ztrátě barvy odpovídá množství kalu, který je usazený na dně nádoby. Uvolňuje se také oxid uhličitý. Ochrana před zvrhnutím je oddělovat nahnílé bobule hroznů i v silnějším zasíření červených rmutů při kvašení. Slabě napadené víno lze silně zasířit a zředit vínem zdravým. Silně poškozené lze využít pro výrobu vinného octa a dalších produktů. (Pátek, 1998)

Myšina

Myšina je nemoc vína, která se velmi často zaměňuje za nemoc zvaná sirka. Konzument pozná myšinu podle zápachu. Přirozené aroma vína je narušeno zápachem myši moči. Intenzivněji působí myšina jako dochuť na jazyku a na patře. Myšina se objevuje i u mladých vín se zbytkovým cukrem. Původci myšiny jsou bakterie, a to zejména *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus celobiosus* (Eder, et al., 2006) *Oenococcus* a druh *Leuconostoc mesenteroides* (Pavloušek, 2006)

Akroleinová příchut' a hořkost

Příčinou této vady je přítomnost polymerizovaných sloučenin, které se skládají z akroleinu a fenolu. Zvýšená tvorba akroleinu se připisuje bakteriálnímu odbourávání glycerinu způsobeného bakteriemi mléčného kvašení, zejména rodů *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*. (Eder, et al., 2006)

Mléčné a manitové kvašení

Mléčné a manitové kvašení je způsobeno mléčnými bakteriemi homofermentativní přeměnou hroznového cukru na kyselinu mléčnou, současně vznikající diacetyl dává vínu typickou vůni po kysaném zelí nebo okurkách. Heterofermentativní mléčné bakterie mohou z fruktózy tvořit chuťové nepříjemný manitou ve spojení s pachutí octovou a mléčnou. (Pelikán, Dudáš, 1996).

2.5 Bakterie mléčného kvašení v pivu

Kvalita a trvanlivost piva je závislá na mikrobiologické čistotě a čistotě přepravních nádob. Technologicky nevhodné mikroorganismy se v pivu vyskytují zřídka, avšak navzdory tomu existuje několik mikroorganismů, kterým se daří v pivu zůstat. (Dientsbier, et al., 2010) To jsou zejména grampozitivní a gramnegativní bakterie a kvasinky. (Sakamoto, 2003)

Mikrobiologická kontaminace může nastat v jakékoli fázi výroby piva. Nežádoucí mikroorganismy můžeme rozdělit na

- Latentní zárodky - vyskytují se v pivu zřídka. Patří sem rody *Bacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Micrococcus*. Některé jejich produkty jsou toxické.
- Potenciálně škodící mikroflora - k pomnožení dochází pouze za určitých podmínek. Jedná se o přítomnost kyslíku, zvýšené pH (nad 4,7). V této skupině jsou například *Lactobacillus lactis*, *Micrococcus kristinae*.
- Škodící mikroflora – množí se za vzniku sedliny a zákalu. Dochází ke změně organoleptických vlastností, což má za následek například diacetyl. (BACK, 1991). Do této skupiny patří *Lactobacillus brevis*, která se podílí na více než 50% případů kažení piva. Způsobuje zakalení piva v důsledku pomnožení buněk. Tyto bakterie negativně ovlivňují organoleptické vlastnosti piva. *Pediococcus damnosus*, která se nachází v mladině a pivovarských kvasnicích. Fermentuje maltosu za tvorby kyselin. Z pyruvátu tvoří acetoin, který se oxidací s vzdušným kyslíkem mění na diacetyl, který vzniká v kazícím pivě. (Šilhánková 1983; Görner, Valík, 2004) Tvoří tetradové shluky jako například rod *Sarcina*. Vzniklá vada se nazývá sarcinová nemoc, která má za následek máslovou vůni a nakyslou příchut', zákal. (Žižka, Korbelová, 1992)

2.6 Bakterie mléčného kvašení v kvasu

Bakterie mléčného kvašení obsažené v žitném kvasu jsou homofermentativní (*L. plantarum*, *L. casei*, *L. delbruecki*) a heterofermentativní (*L. brevis*, *L. fermentum*) (Görner) Homofermentativní tvoří výlučně kyselinu mléčnou, která spolu s dalšími organickými látkami, alkoholy, kypřícími plyny a těkavými látkami tvoří chlebové aroma. Kyselina mléčná chrání kvas před nežádoucí infekcí, jako jsou například hnilobné bakterie, zrychluje proces bobtnání bílkovin, vyvolává jejich částečnou peptizaci. Heterofermentativní bakterie tvoří kromě kyseliny mléčné i jiné látky, zejména kyselinu octovou, aldehydy a ketony. Tyto vedlejší produkty mohou způsobit vady chleba, proto je spíše žádoucí přítomnost homofermentativních bakterií. (Hrabě, et al., 2005). Aktivita homofermentativních bakterií spolu s kvasinkami musí být v mouce natolik velká, aby vzájemně přerostly nežádoucí a indiferentní mikroorganismy. (Görner, Valík, 2004)

Početnost mikrobiální populace je závislá na technologickém postupu vedení těsta. Významný vliv má kvalita mouky a její vymletí, teplota a tuhost těsta. Jisté rozdíly v počtu MO mohou být i v odlišné metodě stanovení (tab.3). (Görner, Valík, 2004)

Průměrný počet KTJ.g ⁻¹ x 10 ⁶					
Stupeň spontánního kvasu a těsta	Kultivační stanovení			Mikroskopické stanovení	
	Celkový počet	Poměr kvasinek a bakterií		kvasinky	bakterie
mezistupeň	6,82	60 : 40		18,4	1 050
I. Stupeň	4,26	60 : 40		17,5	1 121
II. Stupeň	1,64	40 : 60		30,4	1 694
III. Stupeň	10,3	70 : 30		20,9	800
těsto	5,01	80 : 20		15,6	697

Tab. 3.: Podíl kvasinek a bakterií v mikroflóře kvasu. (Görner, Valík, 2004)

2.7 Bakterie mléčného kvašení v nealkoholických nápojích

Nealkoholické nápoje jsou občerstvující nápoje připravené z vody nebo stolové minerální vody s přísadou chuťových látek. Tzv. limonády se vyznačují nízkou hodnotou pH, nízkým obsahem živin, nízkým parciálním tlakem kyslíku a vysokým obsahem oxidu uhličitého. Vzhledem k těmto vlastnostem nejsou limonády vhodné pro mikrobiální život. Na jejich zkáze se podílí zejména určité druhy kvasinek, ale také bakterie mléčného kvašení, například *Lactobacillus ssp*, *Leuconostoc ssp.*). Zdrojem kontaminace mohou být základní suroviny. (Görner, Valík, 2004)

3 ŽÁDOUCÍ ÚČINKY BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ

Bakterie mléčného kvašení jsou skupinou mikroorganismů, které jsou významné jak pro technologické zpracování některých druhů potravin, tak pro lidský organismus jako takový. Žádoucí účinky jsou následující:

Antimikrobní působení

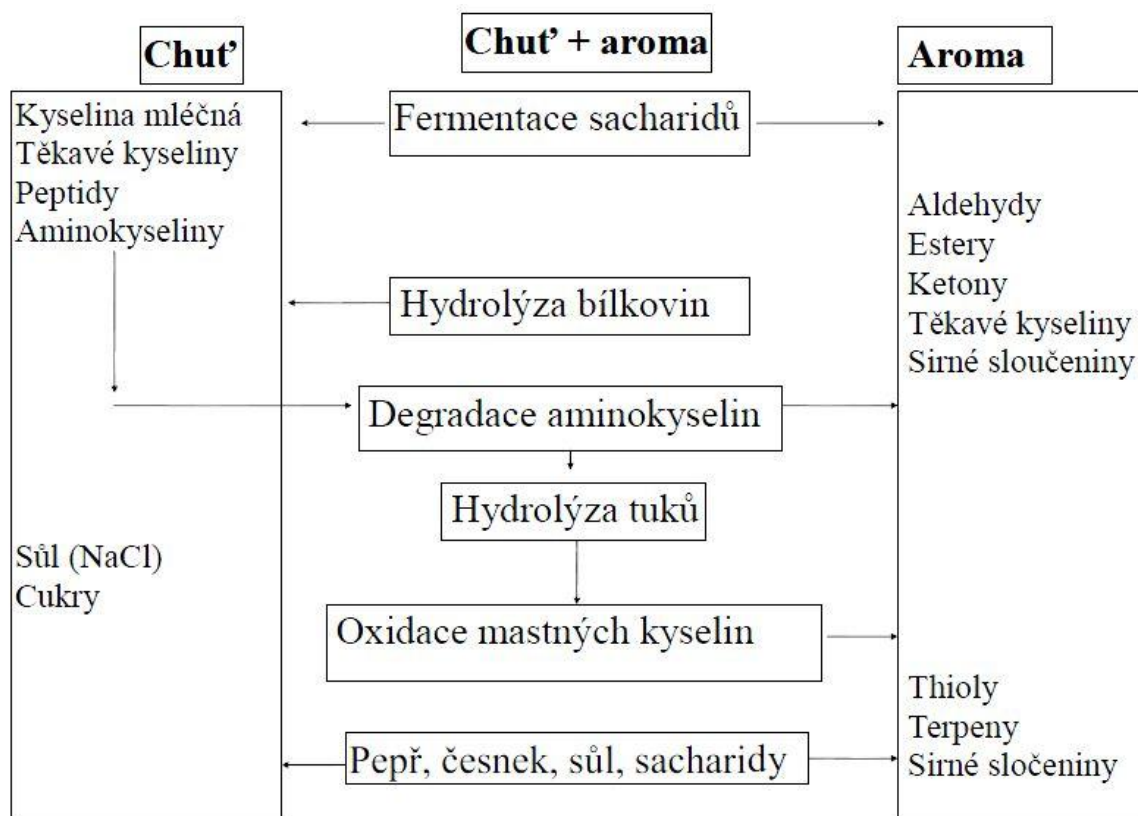
Tento, první, antagonický efekt je založený na soutěžení o životní prostor a živiny s ostatními mikroorganismy. Například v masných produktech jsou vytvořeny bakteriemi mléčného kvašení ideální podmínky, tudíž mají ideální prostředí k optimálnímu růstu, čímž se mohou lépe prosadit vůči svým konkurentům, pomaleji vyvíjecím se mikroorganismům.

Druhý způsob může být vylučování do vnějšího prostředí látek, které mají antibakteriální účinky. Těmito látkami mohou být různé organické kyseliny, peroxid vodíku a podobně. (Kameník, 2010)

Třetím, neméně důležitým účinkem je produkce tak zvaných bakteriocinů. Tyto látky působí na patogenní mikroby a přeměňují střevní mikroflóru. Změna střevní mikroflóry může vést k redukci zánětu nebo ke snížení rakoviny tlustého střeva. Hlavní třídy bakteriocinů, které bakterie mléčného kvašení produkují, jsou antibiotika, nízkomolekulární tepelně stabilní peptidy, vysokomolekulární tepelně nestabilní proteiny a proteiny, jejichž aktivita vyžaduje přítomnost sacharidových a lipidových zbytků. Bakteriocin produkovaný bakteriemi mléčného kvašení, zejména rodu *Lactococcus lactis*, je nisin. Nisin A má význam v léčbě žaludečních vředů, jelikož v žaludku inhibuje růst a množení patogenní bakterie *Helicobacter pylori*. (Iyer, 2009).

Tvorba chuťových látek

Bakterie mléčného kvašení obsahují proteolytické enzymy, které jsou schopny rozkládat bílkoviny na peptidy a aminokyseliny (Ljung, Wadstrom, 2009). Pomocí deaminace, transaminace, dekarboxylace nebo štěpením postranních řetězců aminokyselin jsou schopny konvertovat uvolněné aminokyseliny. BMK transaminují aminokyseliny, čímž vznikají aromatické látky (Obr. 13). (Kameník, 2010)



Obr. 13.: Tvorba chuťových a aromatických látek (Kameník, 2010)

Peptidy, aminokyseliny, karbonylové sloučeniny, těkavé látky, uvolněné při lipolýze nebo proteolýze, způsobují tvorbu aroma i textury. (Casaburi, et al., 2008) Po lipolýze následují degradační procesy mastných kyselin na alkeny, alkany, alkoholy, aldehydy a ketony. Mastné kyseliny s dlouhým a středním řetězcem jsou prekurzory aromatických látek. (Kameník, 2010)

Terapeutické účinky

Bakterie mléčného kvašení působí na střevní mikroflóru a tím příznivě ovlivňují gastrointestinální trakt, což se projevuje chutí k jídlu, pohyblivostí střev, stimulací imunitního systému, dobrou funkcí jater a ostatních orgánů. (Maxa, Rada, 1996)

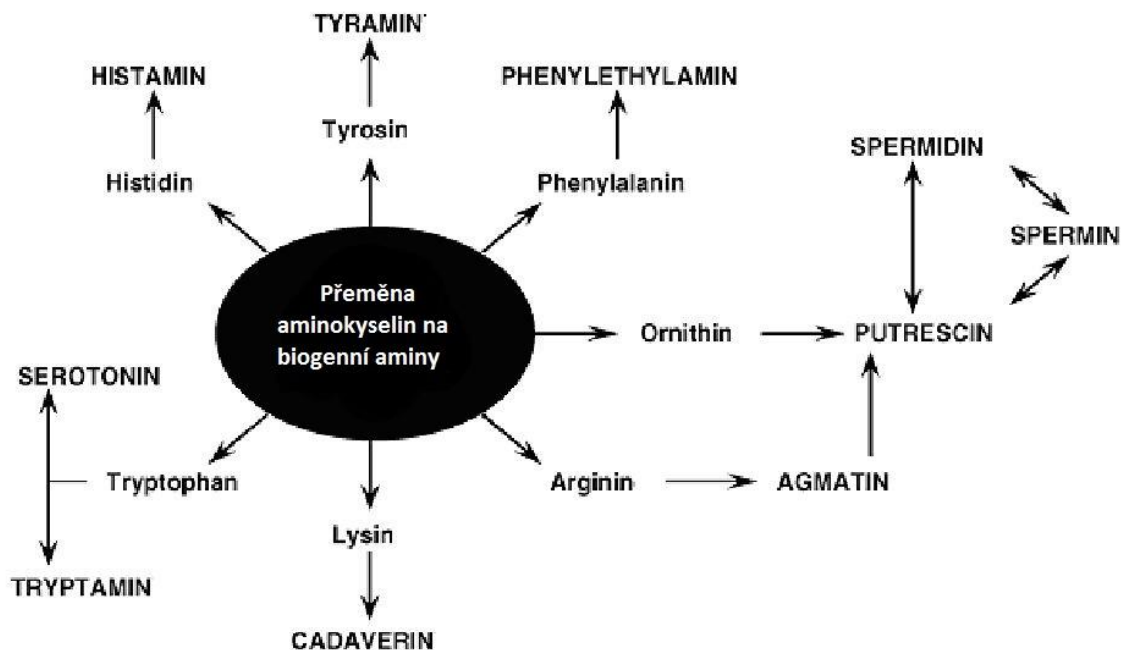
Mimo to bakterie mléčného kvašení produkují hydroxymethylglutarát, který pravděpodobně inhibuje hydroxymethylglutaryl-koenzym A reduktázu, což enzym účastní se syntézy cholesterolu. Metabolity vznikající z kyseliny orotové během mléčného kvašení mají hypocholesterolemický efekt, snižují sérový cholesterol. (Max, Rada, 1996)

4 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ A BIOGENNÍ AMINY

Biogenní aminy (BA) jsou nízkomolekulární dusíkaté organické látky. Tyto látky produkují rostliny, zvířata a různé druhy mikroorganismů včetně bakterií mléčného kvašení.

4.1 Vznik biogenních aminů

Biogenní aminy jsou skupinou alifatických, aromatických nebo heterocyklických bází odvozených od aminokyselin, které vykazují různé biologické účinky. V nízkých koncentracích jsou přirozenou složkou potravy. Vznikají z aminokyselin (Obr.14), působením dekarboxyláz (obsahujících jako kofaktor pyridoxalfosfát) nebo z aminokyselin a karbonylových sloučenin působením transamináz. (Velíšek, 2002)



Obr. 14 Aminokyseliny jako prekurzory biogenních aminů
(Ancín, et al., 2008)

Biogenní aminy produkované bakteriemi mléčného kvašení

Bakterie mléčného kvašení jsou schopny dekarboxylace jedné či více aminokyselin. (Tab. 4) Jedná se zejména o bakterie rodu *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Enterobacteriaceae* (Svoboda, et al., 2007).

Potravina	Mikroorganismy	Produkované aminy
ryby	<i>Morganella morganii</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Bacillus</i> sp., <i>Staphylococcus xylosus</i>	histamin, tyramin, kadaverin, putrescin, agmatin, spermin, spermidin
sýry	<i>Lactobacillus buchneri</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. arabinosae</i> , <i>Streptococcus faecium</i> , <i>S. mitis</i> , <i>Bacillus macerans</i> , <i>Propionibacterium</i> sp.	histamin, kadaverin, putrescin, tyramin, tryptamin
maso a masné výrobky	<i>Pediococcus</i> sp., <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp., čeleď <i>Enterobacteriaceae</i>	histamin, kadaverin, putrescin, tyramin, fenylethylamin, tryptamin
fermentovaná zelenina	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Pediococcus</i> sp.	histamin, kadaverin, putrescin, tyramin, fenylethylamin, tryptamin
fermentované produkty ze sóji	<i>Rhizopus oligosporus</i> , <i>Trichosporon beigllii</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	histamin, kadaverin, putrescin, tyramin, tryptamin

Tab.4.: Významné mikroorganismy produkující BA. (Velíšek, 2002)

4.2 Biogenní aminy a účinky na organismus

Tyramin, histamin a v menším množství i fenylethylamin jsou hlavní biogenní aminy spojené s vážnými akutními dopady na lidský organismus (tab. 5) Mechanismus účinku těchto látek je vazoaktivní (zúžení cév u tyraminu a fenylethylaminu, nebo rozšíření cév u histaminu) a psychoaktivní. Diaminy putrescin a kadaverin nejsou samy o sobě toxické, ale mohou zvýšit absorpci vazoaktivních aminů v důsledku saturace střevních bariér. Za normálních okolností nepředstavují biogenní aminy v potravinách pro zdravé osoby zdravotní problém. (Kameník, 2010).

Symptomy konzumace vysokých dávek biogenních aminů jsou pocity na zvracení, dýchací potíže, pocení, bušení srdce, hypertenze (histamin), migréna (tyramin, fenylethylamin). (Velíšek, 2002)

Biogenní aminy v potravinách jsou prekurzory nitroso-sloučenin s potenciálním karcinogenním účinkem. Tyto sloučeniny vykázaly karcinogenní účinky v testech na laboratorních zvířatech a pravděpodobně indukují rakovinu také u člověka (Kameník, 2010).

Monoaminoxidáza a diaminoxidáza jsou hlavními enzymy lidského organismu, které biogenní aminy odbourávají. Toxický účinek je ovlivněn právě aktivitou těchto enzymů, které může být u jednotlivých jedinců ovlivněna, a to například přítomností inhibitorů (léčiva) nebo potenciátorů. (Velíšek, 2002)

Biogenní amin	Původní aminokyselina	Další produkty aminokyselin a transformace aminu	Biologický význam
histamin	histidin		lokální tkáňový hormon, vliv na krevní tlak, sekreci žaludeční šťávy, účast při anafylaktickém šoku a alergických reakcích
kadaverin	lysin		stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribosomy), stimulace diferenciac buněk, rostlinný hormon
putrescin	arginin <i>via</i> ornithin nebo citrullin	<i>N</i> -methylputrescin, spermidin, spermin	stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribosomy), stimulace diferenciac buněk, rostlinný hormon
agmatin	arginin	putrescin, <i>N</i> -methylputrescin, spermidin, spermin	stabilizace makromolekul (nukleové kyseliny), subcelulárních struktur (ribosomy), stimulace diferenciac buněk, rostlinný hormon
fenylethylamin	fenylalanin	tyramin, dopamin, adrenalin, noradrenalin	prekurzor tyraminu
tyramin	tyrosin	dopamin, adrenalin, noradrenalin, synefrin, hordenin	prekurzor dopaminu, lokální tkáňový hormon, vliv na krevní tlak a kontrakce hladkého svalstva
dopamin	DOPA	noradrenalin, adrenalin	mediátory sympatických nervů
tryptamin	tryptofan	serotonin, melatonin	lokální tkáňové a rostlinné hormony (katecholaminy), vliv na krevní tlak, peristaltiku střev, psychické funkce

Tab.5.: Biogenní aminy, jejich prekurzory, produkty transformace a biologický význam. (Velíšek, 2002)

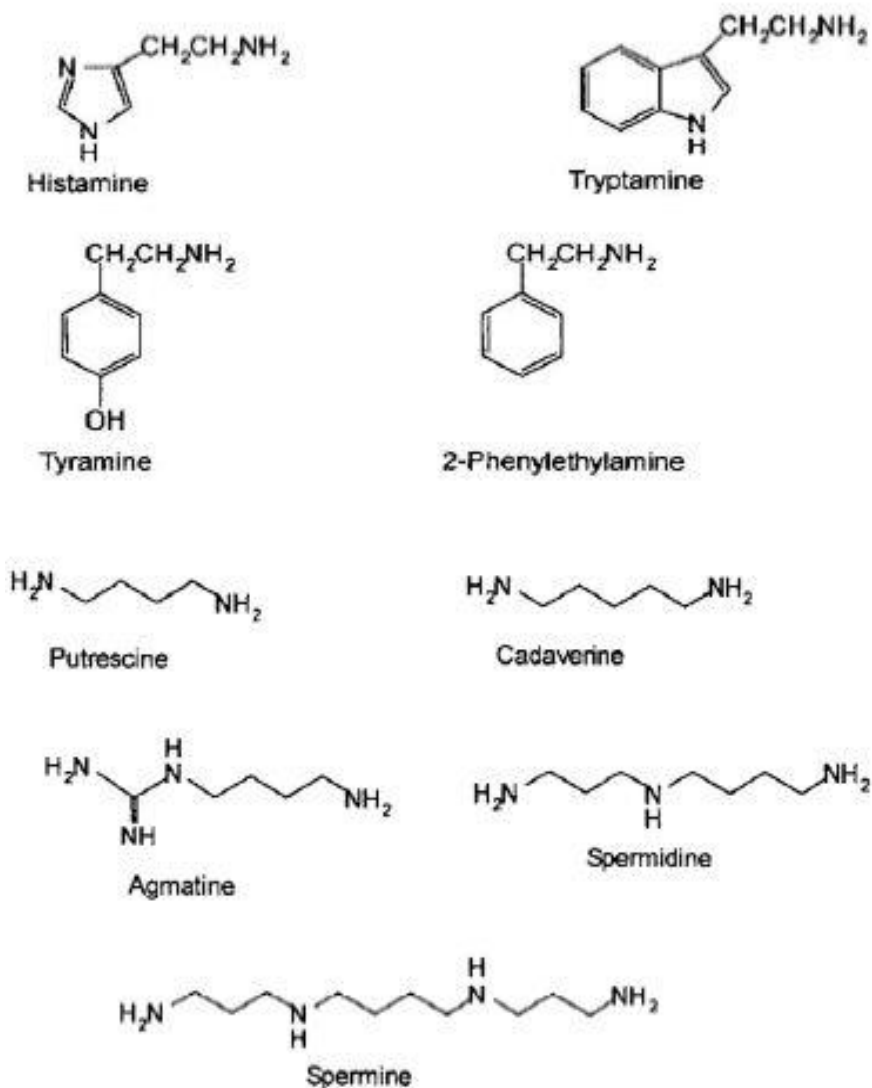
Scromboid syndrom

Je souhrn příznaků, který je vyvolán působením biogenních aminů, hlavně histaminu, obsažených v potravě. Nejčastěji kontaminovanými potravinami jsou ryby z čeledi Scombridae a Scomberesocidae, především tuňák, makrela a treska. Hladina histaminu v rybě, schopna vyvolat tento syndrom, přesahuje 20mg na 100g rybího masa. Dalšími potravinami jsou lilek, špenát, banány a červená řepa. Scromboid syndrom se vyznačuje průjemem, zvracením, tachykardií, palpitací, hypotenzí až šokem, doprovázená alergickou reakcí. (Bělohávková)

4.3 Biogenní aminy v potravinách

Biogenní aminy se vyskytují téměř ve všech potravinách. Přehled nejznámějších je uveden na obrázku č. 15. Největší zastoupení mají ve fermentovaných potravinách, kde vznikají působením mikroorganismů. Velká koncentrace biogenních aminů se vyskytuje během kažení potravy. Jsou obsaženy v potravinách bohatých na proteiny. Pivo a víno, přestože není bohaté na proteiny, obsahuje vysoké množství volných aminokyselin, které jsou dekarboxylovány reziduální mikroflórou.

Spolu s peptidy ovlivňují organoleptické vlastnosti potravy, což znamená, že mohou ovlivnit aroma a následně kvalitu potravy. Při kontaktu s dutinou ústní se aroma uvolní. Vnímání ethylaminu, dimethylaminu a metylaminu vzniká při koncentraci 2 mg.l^{-1} . Vysoký obsah biogenních aminů se projevuje nepříjemným aroma či chuti. (Ancín, 2008)



Obr. 15.: Přehled některých biogenních aminů (Onal, 2007)

4.3.1 Ve víně

Hlavními biogenními aminy ve víně jsou histamin, tyramin, putrescin, kadaverin, metylamin, ethylamin, isoamylamin a fenylethylamin. (Garai, Pramateftaki, 2007) Některé aminy, jako třeba putrescin jsou přítomny už přímo na hroznech. Jestliže je v půdě nízký obsah draslíku, může to vyvolat vysoký obsah putrescinu v rostlinách. (Landete, 2005).

Vysoká koncentrace histaminu ve víně je způsobena především přítomností histidindekarboxylázy některých bakterií mléčného kvašení. (Landete, 2005) V souvislosti s kažením vína a vysokou hladinou histidinu je spojován *Pediococcus*. (Morreno-Aribas, 2003, Landete, 2005). Bylo také zjištěno, že některé kmeny rodu *Oenococcus oeni* jsou zodpovědné za hromadění histidinu ve víně. Dále také mohou být kmeny *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus hilgardii*, *Pediococcus parvulus* (Landete, 2005).

K obsahu biogenních aminů ve víně se nedá prohlásit nic obecného, ale hodnoty vykazují značné rozpětí: histamin (0,1-12 mg.l⁻¹ bílé ; 0,1-28mg.l⁻¹ červené), tyramin (0,1-6,5mg.l⁻¹ bílé ; 0,1-8mg.l⁻¹ červené), putrescin (0,1-4,8mg.l⁻¹ bílé ; 0,9-35mg.l⁻¹ červené), kadaverin (cca 29mg.l⁻¹ bílé ; cca 21,8mg.l⁻¹ červené), izopentylamin (0,2-20mg.l⁻¹ bílé ; 0,1-4,6mg.l⁻¹ červené), fenylathylamin (cca 13mg.l⁻¹ bílé ; cca 14mg.l⁻¹ červené), etylamin (0,1-20mg.l⁻¹ bílé ; 0,9-2,0mg.l⁻¹ červené). (Eder, 2006)

Ukázalo se, že zvláště vína z nahnílého sklizeného materiálu vykazují vysoké koncentrace biogenních aminů. Stoupající gradací moštů, stoupá i koncentrace biogenních aminů. Pouze ledová vína vykazují nízký obsah aminů, což se dá vysvětlit technologickým postupem (koncentrace následkem mrazu). Je evidentní, že se zvyšujícím se stupněm botrytidové infekce se obsah fenylethylaminu a izopentylaminu silně zvyšuje, zatímco se naproti tomu obsah histaminu, tyraminu, putrescinu a kadaverinu prakticky nemění. (Eder, et al., 2006)

Tvorba biogenních aminů během přípravy vína

Bylo zjištěno, že obecně mají červená vína vyšší obsah biogenních aminů než vína bílá, že zejména putrescin a histamin je vyšší. Na koncentraci biogenních aminů má vliv například dlouhá doba macerace a také některé technologické operace, například použitím bentonitu ve velkém množství snižuje obsah histaminu až o polovinu, ale to nepříznivě ovlivňuje barvu červeného vína. (Ancin, et.al., 2008). Tento efekt závisí jednak na aplikované koncentraci a jednak koncentraci histaminu ve víně. U vyšších koncentrací histaminu a aplikovaném množství 400 g.hl⁻¹ bentonitu je možné snížení až o 70 %, zatímco se naproti tomu u nižších hodnot histaminu a 100 g.hl⁻¹ bentonitu nezjistil téměř žádný účinek. Benzozonit je také vhodný k vázání izopentylaminu a kadaverinu a následnému značnému snížení jejich obsahu. Histamin se dá také odstranit i aktivním uhlím. Vzhledem k silnému ovlivnění aroma, se doporučuje použít bentonit. (Eder, et al,2006).

Další technika je tepelné ošetření moštu při lisování. Obsah těkavých látek se při procesu vína snižuje. (Ancín, et.al., 2008)

Zvýšení obsahu biogenních aminů zamezíme použitím zdravých hroznů, čistým a kontrolovatelným kvašením hroznů, zamezením hodnot $\text{pH} > 3,6$, biologickým odbouráním čistými startovacími kulturami, potlačením nežádoucích pediokoků a lactobacilů, řádnou hygienou v provozu a ve sklepě. (Eder, et al., 2006)

4.3.2 V pivu

Výskyt biogenních aminů v pivu je závislý na kvalitě přidaných surovin, mikrobiální kontaminaci a technologii výroby. Biogenní aminy jsou přítomny ve sladu a kvasnicích více než v chmelu. Bylo publikováno že, v prvních pěti dnech klíčení ječmene byla úroveň obsahu aminů vzrůstající, kdy dosáhla hranice $3 - 5,5 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{den}^{-1}$. Na konečný obsah biogenních aminů má vliv výrobní proces, podmínky jako například intenzita klíčení, druh ječmene a teplota sušení. (Kalač, Kosař, 2003)

Bakterie významné pro produkci biogenních aminů, které byly izolované během fermentace, jsou *Pediococcus ssp.*, zejména *Pediococcus damnosus*. Taktéž bakterie rodu *Lactococcus* jsou spoluúčastníky tvorby biogenních aminů, a to hlavně *Lactobacillus frigidus*, *brevissimilis*, *brevis*. (Kalač, 2003)

4.3.3 V mase

Hlavními zástupci biogenních aminů v mase jsou zejména tyramin, kadaverin, putrescin a také histamin. V čerstvém mase pak spermidin a spermin. (Dolatowski, 2010). Při skladování masa se zvyšuje obsah biogenních aminů, tudíž je můžeme brát jako ukazatel čerstvosti masa. (Velíšek, 2002). Obsah tyraminu, kadaverinu a putrescinu se během skladování zvyšuje, obsah spermidinu a sperminu spíše snižuje. (Shalaby, 2006). V prvních fázích kažení masa se zvyšuje obsah putrescinu, následně v dalších fázích obsah kadaverinu. (Roig-Saguez, 2009).

Zajímavý je i rozdíl v počtu biogenních aminů v mase syrovém a vařeném, který můžeme sledovat v následující tabulce (Tab.6).

Teplota °C	Doba dny	Obsah v mg.kg ⁻¹									
		putrescin		kadaverin		spermidin		spermin		tyramin	
		syrové	vařené	syrové	vařené	syrové	vařené	syrové	vařené	syrové	vařené
4	0	11	10	23	0	39	56	382	440	8	25
	4	13	12	28	0	56	80	784	393	12	18
	8	46	42	29	0	54	65	520	407	16	12
	12	74	86	32	0	113	189	331	382	12	25
7	0	13	12	23	0	33	54	318	394	5	26
	4	17	19	28	1	91	92	563	437	18	20
	8	94	107	25	4	157	216	524	360	89	36
	12	224	202	45	36	201	266	390	349	201	111
10	0	12	12	28	0	80	50	362	446	4	12
	4	69	60	36	2	131	128	517	317	12	27
	8	207	205	32	36	278	267	345	321	52	151
	12	368	277	29	100	177	274	446	361	333	224

Tab.6.: Vliv skladování na obsah BA v hovězím maso (Velíšek, 2002)

V rybím maso

Při skladovací teplotě 0° C je produkce biogenních aminů téměř nulová. Při vyšších teplotách je dekarboxylován zejména histidin a maso makrelovitých ryb může obsahovat až 3 000 mg.kg⁻¹. (Velíšek, 2002).

Právní předpisy připouštějí nejvyšší přípustný obsah histaminu 100 mg.kg⁻¹, respektive 200 mg.kg⁻¹ u některých podvzorků. (szpi.gov.cz)

K zjištění čerstvosti masa se využívá vzorce nazvaného „index kvality“, který se vyjadřuje následovně (Obr.16):

$$\text{Index kvality (BA)} = \frac{(\text{mg/kg histamin} + \text{mg/kg putrescin} + \text{mg/kg kadaverin})}{(1 + \text{mg/kg spermin} + \text{mg/kg spermidin})}$$

Obr.16.: Index kvality rybiho masa (Gorner, Valík, 2004)

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo zpracování rešerše o bakteriích mléčného kvašení, která se zaměřovala na jejich výskyt v potravinách nemléčného původu. Tato skupina mikroorganismů obsahuje rody *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus* a *Bifidobacterium*, ty se podílejí na mnoha biologických procesech v různých odvětví výroby potravin.

V druhé části práce byl popsán výskyt mléčných bakterií v jednotlivých potravinách, například vína, piva či nealkoholických nápojů a byl charakterizován jejich význam na výrobu a zpracování jednotlivých skupin potravin.

Dále byly rozebrány účinky těchto bakterií, kdy za žádoucí se považuje například tvorba organoleptických vlastností, terapeutické a antimikrobní působení. Poslední kapitola se věnuje biogenním aminům, jejichž významným producentem jsou právě bakterie mléčného kvašení. Přestože jsou tyto látky potřebné pro růst buňky, jsou součástí hormonů organismu, při zvýšeném příjmu mohou vyvolat nežádoucí účinky na lidský organismus (např. nepříjemné bolesti hlavy), alimentární otravy a jsou dokonce spojovány i se závažnými onemocněními.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ACID LACTIC BACTERIA; *Bifidobacterium longum*. [online]. [cit. 2013-04-28]. Dostupný z WWW: www.acid-lactic-bacteria.com/lactobacillus/Bifidobacterium-Longum/

ANCÍN-AZPILICUETA, C.; GONZÁLEZ-MARCO, A.; JIMÉNEZ-MORENO, N.: *Current Knowledge about the Presence of Amines in Wine*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2008, ISSN: 1040-8398

Antimicrobial-Resistant Organisms; [online]. [cit. 2013-04-25]. Dostupný z WWW: www.ars.usda.gov/is/ar/archive/mar05/organism0305.htm?pf=1

Streptococcus thermophilus [online]. [cit. 2013-05-14]. Dostupný z WWW: www.allposters.cz

BACK, W.: *Brauerei und Getranke Rundschau*. 1991, SRN.

BARTOŠ, J.; KOPEC, K.: *Výrobní systémy zeleniny. Výroba kysaného zelí*. Olomouc: VŠÚZ, 1989.

BARTOWSKI, E.J.: *Bacterial spoilage of wine and approaches to minimize it*. 2008. Received 1406.

BATTOCK, M; AZAM-ALI, S.: *Fermented fruits and vegetables. A global perspective*. ISBN: 92-5-104226-8 (1998)

BĚLOHLÁVKOVÁ, S.; FUCHS, M.: *Scombroid syndrom*. Kazuistiky FN Na Bulovce, Praha. [online]. [cit. 2013-05-09]. Dostupné z WWW: www.tigis.cz/images/stories/Alergie/2005/03/14_belohlavkova_al_3-05.pdf

BIOWEB.USU.EDU; *Pediococcus pentosaceus, Lactobacillus brevis* [online]. [cit. 2013-04-25]. Dostupný z WWW: www.bioweb.usu.edu/emlab/current%20news.html

BONOMO, M. G.; RICCIARDI, A.; ZOTTA, T. et al. : *Molecular and technological characterization of lactic acid bacteria from traditional fermented sausages od Basilicata region*. Meat Science. 2008.

BUCKENHÜSKES, H. J.: *Starterkulturen für die Rohwurstproduktion – eine Standortbestimmung*. 1991.

CASABURI, A. et.al.: *Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits*. Food Microbiology, 2008.

DIENSTBIER, M., et al.: *Metody předpovědi koloidní stability piva*. Chemické listy č. 104, 2010.

DOLATOWSKI, J.Z.;STADNIK,J.: *Biogenic amines in meat and fermented meat products*. Technologie Alimentaria,2010. ISSN: 1889-9594.

DOLEŽÁLEK, J.: *Mikrobiologie mlékárenského a tukařského průmyslu*. 1962. SNTL, Praha.

EDER, R.; et al.: *Vady vína*. Národní vinařské centrum. 2006. ISBN: 80-903201-6-3

FEINER, F.: *Meat products handbook. Practical science and technology*. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. USA, 2008.

GARAI, G.;et.al.: *Biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from cider*. Letters in Applied Microbiology. 2007.

GÖRNER, F.; VALÍK, L.: *Aplikovaná mikrobiológia potravín*. Bratislava: Malé centrum, 2004, ISBN 80-96-7064-9-7

HRABĚ, J.; ROP, O., HOZA, I.: *Technologie výroby potravin rostlinného původu*. 2005. 1.vyd. Zlín: UTB. ISBN 8073183722

CHEMPOINT: *Bakterie mléčného kvašení a jejich příspěvek k finální kvalitě vína*. [online].[cit. 2013-04-29]. Dostupné z WWW: www.chempoint.cz/bakterie-mlecneho-kvaseni-a-jejich-prispevek-k-finalni-kvalite-vina

IYER, C.; VERSALOVIC, J.:*Lactic Acid Bacteria: Probiotics with Anti- Cancer Activities*.Molecular Biology From Genomic to Probiotics. Caister Academic Press, Norfolk. 2009.

KALACH, P., KRÍŽEK, M.: *Review od biogenic amines and polyamides in beer*. Journal of the institute od brewing. 2003.

KAMENÍK, J.: *Startovací kultury v masném průmyslu*. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha. 1994.

KAMENÍK, J.; *Trvanlivé masné výrobky*. 2010. VFU Brno. ISBN: 978-80-7305-106-8

KOSAŘ, K.; PROCHÁZKA, S.; a kol.: *Technologie výroby sladu a piva*. VUPS:Praha. ISBN: 80-902658-6-3.

Kyselina mléčná. [online] [cit. 2013-04-29]. Dostupný z WWW. www.kutilov.cz/kyseliny--/kyselina-mlecna--120-ml

LANDETE, J.M.; et al.: *Biogenic Amines in Wines from Three Spanish Regions*. Journal of agricultural and food chemistry. 2005

LANDETE, J.M.; FERRER, S.: *Which lactic acid bacteria are responsible for histamine production in wine*. Journal of Microbiology, 2005.

LJUNG, A., WADSTRÖM, T.: *Lactobacillus Molecular Biology*. Caister Academy Press. 2009.

LONVAUD-FUNEL, A.: *Lactic acid bacteria in the quality improvement and despreciation of wine*. 1999.

MACHALA, K.: *Kvašená zelenina pro zdraví a vitalitu*. Olomouc: ANAG, 2008. ISBN 978-80-7263-482-8

MASÁK, J.; PELECHOVÁ, J., PLACHÝ, J.: *Speciální mikrobiální technologie*. 1. Vyd. Praha: VŠCHT, 1992. ISBN 80-7080-142-5.

MAXA, V.; RADA, V.: *Význam bifidobakterií a bakterií mléčného kvašení pro výživu a zdraví*. 1996. ÚZPI, Praha. ISBN: 80-85120-57-7

Metabolism Fermentation [online]. [cit. 2013-04-29]. Dostupný z WWW: www.dwb.unl.edu/Teacher/NSF/C11/C11Links/www.bact.wisc.edu/microtextbook/metabolism/Fermentation.html

MORENO-ARRIBAS, M.; et al.: *Screening of biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from grape must and wine*. International journal of Food Microbiology. 2003

OBJECTIVE SOURCE E-LEARNING; 3x 500 [online]. [cit. 2013-04-25]. Dostupný z WWW: www.osel.cz/index.php?clanek=358

ÔNAL, A.: *Current analytical methods for the determination of biogenic amines in food*. Food Chemistry, 2007.

PÁTEK, J.: *Zrození vína: všechno o pěstování, zpracování a konzumaci vína*. Books: Brno, 1998. ISBN: 8072420399

PAVLOUŠEK, P.: *Výroba vína u malovinařů*. Graga Publishing, Praha. 2006 ISBN: 80-247-1247-4

PELIKÁN, M.; DUDÁŠ, F.; MÍŠA, D.: *Technologie kvasného průmyslu*. 1996. ISBN 80-7157-578-X

POSSIN, K. a R.: *Reakce na histamin v potravinách*. [online]. [cit. 2013-05-09]. Dostupný z WWW. www.zdrava-vyziva.doktorka.cz

PRAMATEFTAKI, P.V.; et al. *Evolution od malolactic bacteria and biogenic amines*. Letters in Applied Microbiology. 2007

ROIG-SAGUÉS, X.A.: et al.: *The decarboxylating bacteria present in foodstuffs and the effect of emerging technologies on their formativ*. Transworld Research Network, 2009. ISBN: 978-81-7895-249-9.

ROSYPAL, S.; *Obecná bakteriologie*. 1. Vyd. Praha : SPN, 1981.

SAKAMOTO, K.; KONINGS, W.: *Beer spoilage bacteria and hop resistance*. International Journal od Food Microbiology, 2003. ISSN: 0168-1605

SALMIEN, S.; WRIGHT A.; OUWEHAND A.: *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 3rd rev.edition. : CRC Press, 2004 ISBN 0824753321.

SCIENCERAY.COM; *Izolation and characterization of Leuconostoc Mesenteroides From Cheese*. [online]. [cit. 2013-04-25]. Dostupný z WWW: www.sciencera.com/biology/microbiology/isolation-and-characterization-od-leuconostoc-mesenteroides-from-cheese-3/

SEIFERTO VÁ, E.: *Kontroly histaminu v rybách bez nálezu*. [online]. [cit. 2013-05-01]. Dostupný z WWW: www.agroweb.cz

SHALABY, R.A.: *Significance od biogenic amines to food safety and human health*. Food Research International, 2006. ISSN: 0963-9969

SVOBODA, J. et al.: *Organická chemie I*. Praha: VŠCHT, 2007. ISBN: 80-7080-561-7

ŠILHÁNKOVÁ L.: *Mikrobiologie pro potravináře*. Praha: 1983, první vydání.

ŠVEJCAR, V.; MINÁRIK, E.: *Vinařství, Mikrobiologie hroznů a vína*. VŠZ. 1981.

STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV: *Seznam povolených potravinářských přídatných látek*. [online]. [cit. 2013-05-13]. Dostupný z WWW: www.szu.cz/uploads/documents/czzp/vyziva/legislativa/E_kody.pdf

STÁTNÍ POTRAVINÁŘSKÁ INSPEKCE: *Legislativa* [online]. [cit. 2013-05-14]. Dostupné z WWW: www.szpi.gov.cz

THALHAMMER, F.: *Gekonnt produzieren*. 2. Vydání. 1997.

TVRDOŇ, M.; BÁLEŠOVÁ, B.: *Kvasná mikrobiologie*. 1986. SNTL, Praha

VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 3*. Tábor: OSSIS, 2002, ISBN 80-86659-02-X

VETWEB.CZ: *Identifikace bakterií mléčného kvašení v mase baleném v podmínkách ochranné atmosféry*. [online]. [cit. 2013-04-28-]. Dostupný z WWW: www.vetweb.cz/informace-z-oboru/hygiena-technologie/identifikace-bakterii-mlecneho-kvaseni-v-mase-balenem-v-podminkach-ochranne-atmosfery_s1496x53017.html

ŽIŽKA, B.; KORBELOVÁ, M.: *Mikrobiologie I*. 1. Vydání Praha: 1992

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BMK Bakterie mléčného kvašení

BA Biogenní aminy.

Tzv. Tak zvaný

SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obr.1. Taxonomie BMK (Upraveno dle: Doležálek, 1962)
- Obr.2.: *Streptococcus thermophilus* (allposters.cz)
- Obr.3 *Enterococcus faecalis* (ars.usda.gov)
- Obr.4 *Leuconostoc* (www.sciencera.com)
- Obr.5 *Pediococcus pentosaceus* (bioweb.usu.edu)
- Obr.6. *Lactobacillus brevis* (bioweb.usu.edu)
- Obr.7. Schématické rozdělení nejvýznamnějších druhů rodu *Lactobacillus* (Šilhánková, 1983)
- Obr.8. *Bifidobacterium* (acid-lactic-bacteria.com)
- Obr. 9. Homofermentativní kvašení (dwb.unl.edu)
- Obr.10. Heterofermentativní kvašení (dwb.unl.edu)
- Obr.11.Průběh růstu populace lactobacilů během zrání (Kameník, 2010)
- Obr.12.Souhrn bakteriálních pochodů snižující aroma a chuť vína. (Bartowsky, 2008)
- Obr.13. Tvorba chuťových a aromatických látek (Kameník, 2010)
- Obr.14 Aminokyseliny jako prekurzory biogenních aminů (Ancín, Gonzáles, 2008)
- Obr.15.Přehled některých biogenních aminů (Onal, 2007)
- Obr.16.Index kvality rybího masa. (Görner, Valík, 2004)

SEZNAM TABULEK

Tab.1.: Úlohy čistých mikrobiálních kultur (Görner, Valík, 2004)

Tab.2.: Rozdělení bakterií podílejících se na jablečno-mléčném kvašení (Švejcár, Minárik, 1991)

Tab. 3.: Podíl kvasinek a bakterií v mikroflóře kvasu. (Görner, Valík, 2004)

Tab.4.: Významné mikroorganismy produkující BA. (Velíšek, 2002)

Tab.5.: Biogenní aminy, jejich prekurzory, produkty transformace a biologický význam. (Velíšek, 2002)

Tab.6.: Vliv skladování na obsah BA v hovězím mase. (Velíšek, 2002)