

Trendy využití kultur v potravinářském průmyslu

Monika Švandová

Bakalářská práce
2020



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Monika Švandová**
Osobní číslo: **T16294**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin – specializace Technologie mléka a mléčných výrobků**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Trendy využití kultur v potravinářském průmyslu**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Charakterizujte běžně využívané mikroorganismy v potravinářském průmyslu.
2. Popište význam mikrobiálních kultur během výroby potravin, zaměřte se na např. technologickou, ochranou či probiotickou funkci.
3. Podrobněji se věnujte kulturám, které jsou využívány pro výrobu mléčných výrobků.
4. Vystihněte nové trendy využití kultur při výrobě potravin.
5. Charakterizujte výrobky nového typu, u kterých jsou během výroby kultury využívány.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] BEHERA, Sudhanshu S., Ramesh C. RAY a Nevijo ZDOLEC. Lactobacillus plantarum with Functional Properties: An Approach to Increase Safety and Shelf-Life of Fermented Foods. *BioMed Research International*, 2018, 1-18.
- [2] DOYLE, Michael P. a Robert BUCHANAN. *Food microbiology: fundamentals and frontiers* 4th ed. Washington, DC: ASM Press, c2013. ISBN 978-1-55581-846-3.
- [3] HARUTOSHI, Tsuda. *Exopolysaccharides of Lactic Acid Bacteria for Food and Colon Health Applications*. KONGO, J. Marcelino, ed. *Lactic Acid Bacteria – R & D for Food, Health and Livestock Purposes*. InTech, 2013.
- [4] HUTKINS, Robert W. *Microbiology and technology of fermented foods*. Ames, Iowa: Blackwell Pub., 2006. ISBN 978-0-8138-0018-9.

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

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **22. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. RNDr. Iva Burešová, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 17. února 2020

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne: 12. května 2020

Jméno a příjmení studenta: Monika Švandová

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá charakteristikou běžně využívaných mikroorganismů v potravinářském průmyslu, významem mikrobiálních kultur během výroby potravin a také trendy využití kultur v potravinářství. Blíže jsou charakterizovány jednotlivé druhy mikroorganismů, rozdělených na bakterie, kvasinky a plísňe, významných v potravinářském průmyslu. Dále jsou popsány jednotlivé funkce čistých mlékařských kultur jako technologická, ochranná a zdravotní, včetně probiotické. V poslední části jsou pak popsány trendy využití mikrobiálních kultur v potravinářství. Jedná se například o severské kysané mléčné výrobky Ymer, Viili a Skyr, koncentrované mléčné výrobky, probiotický jogurt Active nebo delaktózané mléčné výrobky. Dále jsou popsány rostlinné alternativy mléčných výrobků, kterým je na trhu věnována stále větší pozornost. Nakonec jsou definovány nové potraviny ve smyslu nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 o nových potravinách.

Klíčová slova: mikroorganismy využívané v potravinářství, trendy využití mikrobiálních kultur, rostlinné alternativy mléčných výrobků, nové potraviny

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with characterization of microorganisms commonly used in the food industry, importance of microbial cultures during the food production and the trend in using cultures in food industry. Further particular types of microorganisms important in food industry are characterized, divided in bacteria, yeasts and molds. Particular roles of dairy cultures are characterized, such as technological, protective and health including probiotic. In the last part the trends in using microbial cultures in food industry are characterized, e.g. nordic fermented milk products Ymer, Viili and Skyr, concentrated dairy products, probiotic yoghurt Active or delactosed dairy products. Further the plant-based dairy alternatives are characterized, which get still more attention on the market. Finally novel foods are defined within the meaning of Regulation (EU) 2015/2283 of the European Parliament and the Council on novel foods.

Keywords: microorganisms used in the food industry, trends in using microbial cultures, plant-based dairy alternatives, novel foods

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé bakalářské práce paní doc. Ing. Vendule Pachlové, Ph.D. nejen za odborné vedení, cenné rady, připomínky a inspirativní náměty, které mi poskytla při vypracování bakalářské práce, ale i za celkovou trpělivost, vstřícnost a podporu.

Dále bych tímto chtěla moc poděkovat své rodině, přátelům a zaměstnavateli za psychickou, finanční i technickou podporu v průběhu celého mého studia.

OBSAH

ÚVOD	7
1 CHARAKTERISTIKA MIKROORGANISMŮ VYUŽÍVANÝCH V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU	8
1.1 BAKTERIE VYUŽÍVANÉ V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU.....	8
1.1.1 Bakterie mléčného kvašení.....	9
1.1.2 Další bakterie využívané při výrobě fermentovaných potravin	10
1.2 KVASINKY A PLÍSNĚ VYUŽÍVANÉ V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU	12
1.2.1 Významné druhy kvasinek	12
1.2.2 Významné druhy plísní	13
2 VÝZNAM MIKROBIÁLNÍCH KULTUR BĚHEM VÝROBY POTRAVIN	14
2.1 BAKTERIÁLNÍ STARTEROVÉ KULTURY	16
2.2 KVASINKOVÉ A PLÍŠŇOVÉ STARTEROVÉ KULTURY	21
2.2.1 Speciální kultury pro výrobu sýrů	22
2.3 HLAVNÍ FUNKCE ČISTÝCH MLÉKAŘSKÝCH KULTUR.....	23
2.3.1 Technologická funkce	23
2.3.2 Ochranná funkce	23
2.3.3 Probiotická funkce.....	24
2.3.4 Další zdravotní funkce a technologické aplikace	25
3 NOVÉ TRENDY VYUŽITÍ KULTUR PŘI VÝROBĚ POTRAVIN	28
3.1 KYSANÉ MLÉČNÉ VÝROBKY S KULTUROU MEZOFILNÍHO CHARAKTERU	28
3.1.1 Koncentrované mléčné výrobky.....	28
3.2 KYSANÉ MLÉČNÉ VÝROBKY S KULTUROU TERMOFILNÍHO CHARAKTERU	30
3.2.1 Mléčný výrobek Viili	30
3.2.2 Koncentrované mléčné výrobky.....	32
3.2.3 Probiotické jogurty s bifidokulturou	35
3.2.4 Mléčné výrobky z delaktózovaného mléka.....	37
3.3 ROSTLINNÉ ALTERNATIVY MLÉČNÝCH VÝROBKŮ.....	38
3.4 CHARAKTERISTIKA NOVÝCH POTRAVIN.....	41
3.4.1 Využití mikrobiálních kultur při výrobě nových potravin	42
ZÁVĚR	43
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	45
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	54
SEZNAM OBRÁZKŮ	55
SEZNAM TABULEK	56

ÚVOD

Mikroorganismy hrají v přírodě i v životě člověka významnou roli. Díky svým degračním vlastnostem jsou schopny rozkládat rostlinný a živočišný materiál jako organické látky až k jejich úplné mineralizaci, čímž v přírodě zajišťují koloběh prvků. Rozkladná činnost mikroorganismů probíhá v půdě, vodních tocích, stojatých půdách a mořích. Díky své činnosti jsou mikroorganismy odpovědné za tzv. samočištění vodních toků, ale jsou široce používány i v čistírnách městských a průmyslových odpadních vod. Stejně tak mají mikroorganismy velký význam též v medicíně, v chemickém průmyslu a dalších oblastech života.

Mimo to však hrají mikroorganismy nezastupitelnou roli i v potravinářském průmyslu. Dříve byla výroba fermentovaných potravin založena pouze na spontánní fermentaci díky přirozeně se vyskytující mikroflóře v surovinách. Nicméně s objevem pasterizace a objasněním podstaty činnosti mikroorganismů došlo postupně k objevu starterových kultur, které jsou dnes průmyslově používány k iniciaci fermentace při výrobě fermentovaných potravin. Mikroorganismy nacházejí uplatnění při výrobě piva, vína, lihovin, mléčných výrobků, masných výrobků, pečiva, octu apod.

Cílem bakalářské práce bylo pokusit se identifikovat možné trendy ve využití mikrobiálních kultur při výrobě potravin, ať už na základě technologické, zdravotní nebo ochranné funkce mikroorganismů. Vedle mléčných výrobků ovšem hrají velmi důležitou roli i rostlinné alternativy mléčných výrobků, které v průběhu posledních desetiletí získávají u spotřebitelů stále na větší oblibě.

1 CHARAKTERISTIKA MIKROORGANISMŮ VYUŽÍVANÝCH V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU

Jednotlivé druhy mikroorganismů nacházejí široké uplatnění v potravinářském průmyslu, ať už se jedná o mlékárenský či kvasný průmysl. [1] Mezi mikroorganismy používané v potravinářském průmyslu se řadí především bakterie, kvasinky a plísně.

1.1 Bakterie využívané v potravinářském průmyslu

Bakterie představují jednobuněčné prokaryotické mikroorganismy. Tvar buněk bakterií je nejčastěji tyčinkovitý, méně často kulovitý. [1] Nejjednodušeji lze bakterie klasifikovat do dvou základních skupin, a to na grampozitivní (G^+) a gramnegativní (G^-) bakterie, jejichž rozdělení je založeno na metodě barvení dle dánského bakteriologa Hanse Christiana Grama, resp. na rozdílnosti struktury buněčné stěny bakterií. [2] Uplatnění bakterií v potravinářském průmyslu je široké, činnosti bakterií se využívá mimo jiné při výrobě alkoholických nápojů, kysaných mléčných výrobků, sýrů, octa, chleba či kysaného zelí. [3]

Navzdory různorodosti bakterií využívaných při výrobě fermentovaných potravin lze všechny bakterie klasifikovat do tří kmenů, *Proteobacteria*, *Firmicutes* a *Actinobacteria*. Mezi *Firmicutes* se řadí bakterie mléčného kvašení, skupina grampozitivních bakterií jako hlavních mikroorganismů využívaných při výrobě fermentovaných potravin. Tento kmen dále zahrnuje i rody *Bacillus* a *Brevibacterium*. [4; 5]

Proteobacteria představuje gramnegativní bakterie, jež se účastní octového kvašení. *Actinobacteria* zahrnují jen několik málo rodů relevantních pro výrobu fermentovaných potravin. Jedná se o rod *Bifidobacterium*, *Kocuria*, *Staphylococcus* a *Micrococcus*. [4; 5]

Jednotlivé druhy z rodu *Kocuria*, *Staphylococcus* a *Micrococcus* jsou využívány pro výrobu fermentovaných masných výrobků. [4] Rod *Micrococcus* je navíc součástí mazové kultury využívané při výrobě sýrů s mazem na povrchu. [6] Jiné druhy bakterií jsou využívány pro výrobu širšího spektra fermentovaných potravin.

1.1.1 Bakterie mléčného kvašení

Termín „bakterie mléčného kvašení“ nemá žádné taxonomické zařazení a používá se jen jako obecný název zastřešující skupinu funkčně a geneticky podobných bakterií. [4]

Mezi bakterie mléčného kvašení se řadí skupina grampozitivních nesporulujících tyčinek a koků s nízkým podílem guanino-cytosinového komplementárního páru (low % G+C), které produkují mléčnou kyselinu a sdílejí mnoho biochemických, fyziologických a genetických vlastností (tj. kataláza-negativní, fakultativně anaerobní, chemoheterotrofní, nepohyblivé, acidotolerantní bakterie). [4; 5]

Hlavním důvodem, proč jsou bakterie mléčného kvašení používány při výrobě fermentovaných potravin, je jejich schopnost metabolizovat, tedy zkvašovat cukry na různé konečné produkty, a to dvěma různými fermentativními drahami. Při homofermentativním mléčném kvašení je více než 90 % cukerného substrátu přeměněno výhradně na kyselinu mléčnou. Naopak při heterofermentativním mléčném kvašení je z 50 % vytvořena kyselina mléčná, a dále kyselina octová, etanol a oxid uhličitý. Pokud se bakterie mléčného kvašení vyznačují tímto druhem mléčného kvašení, jedná se pak o obligátně homofermentativní, resp. obligátně heterofermentativní bakterie. Mimo to ovšem existují i některé druhy, které jsou schopny obou typů mléčného kvašení, a tyto se pak nazývají fakultativně homofermentativní bakterie. [4; 5]

Z taxonomického hlediska zahrnuje skupina bakterií mléčného kvašení celkem dvanáct rodů, jmenovitě *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Vagococcus* a *Weissella*. Všechny uvedené rody patří taxonomicky do kmene *Firmicutes* a řádu *Lactobacillales*. [4; 5]

Sedm z výše uvedených rodů bakterií mléčného kvašení, a to *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* a *Tetragenococcus* jsou přímo využívány při výrobě fermentovaných potravin. Ačkoliv lze zástupce rodu *Enterococcus* často nalézt ve fermentovaných potravinách (např. sýry, masné výrobky, kysaná zelenina), až na pár výjimek nejsou při výrobě přímo přidávány. Naopak jejich přítomnost v potravinách je často nežádoucí, často jsou indikátorem fekální kontaminace potravin. [4; 5] Naproti tomu se ale u několika kmenů enterokoků uvádí, že dokáží produkovat antimí-

krobiální sloučeniny včetně bakteriocinů, přičemž tvorbu bakteriocinů lze považovat za probiotickou, resp. ochrannou vlastnost [7] Tvorba bakteriocinů kmeny enterokoků je dále popsána v kapitole 2.5.

Podobně jako některé enterokoky i zástupci rodu *Carnobacterium* jsou nežádoucími mikroorganismy v potravinách, jelikož jsou považovány za původce kažení fermentovaných masných výrobků. [4]

1.1.2 Další bakterie využívané při výrobě fermentovaných potravin

Vedle bakterií mléčného kvašení existují i další bakterie využívané při výrobě fermentovaných potravin. Ve většině případů se jedná o bakterie přidávané z jediného důvodu, resp. vykazují jedinou typickou funkci. Mezi tyto bakterie se řadí jak grampozitivní, tak gramnegativní druhy. [4]

Jedinými gramnegativními bakteriemi využívanými při výrobě fermentovaných potravin jsou tyčinky tvořící kyselinu octovou a patřící k rodu *Acetobacter*, *Gluconobacter* a *Gluconoacetobacter* (patřící ke kmeni *Proteobacteria*). Tyto bakterie tvoří kyselinu octovou oxidací etanolu. Některé druhy jsou schopny oxidovat kyselinu octovou až na oxid uhličitý a vodu. *Acetobacter*, *Gluconobacter* i *Gluconoacetobacter* jsou využívány při výrobě octa. Nicméně při výrobě vína, piva, cideru a dalších výrobků obsahujících etanol, vystupují tyto bakterie jako nežádoucí mikroorganismy způsobující kažení výrobků. Za základní druh bakterie pro výrobu octa je považován *Acetobacter aceti*. [4; 5]

Jednotlivé druhy z rodu *Bacillus* jsou v potravinách všudypřítomné, nicméně působí buď jako kontaminanty, mikroorganismy způsobující kažení potravin, nebo příležitostně jako původci potravinových intoxikací. Nicméně kmeny *Bacillus subtilis* jsou používány pro výrobu japonského fermentovaného sójového výrobku nazývaného natto. Konkrétně tyto natto kmeny produkují kapsulární polysacharidy, které způsobují typickou viskózní texturu a sladkou chuť uvedeného výrobku. [4] Kromě výrobku natto je *Bacillus subtilis* využíván při výrobě dalších asijských výrobků, jako je kinema, thua-nao, douchi, chungkuk-jang nebo chine pepoke. [5]

Jednotlivé druhy z rodu *Bifidobacterium* nejsou přímo používány pro výrobu fermentovaných potravin, nicméně jsou během výrobního procesu přidávány pro svou probiotickou funkci. Především jsou přidávány při výrobě zakysaných mléčných výrobků. Existuje více než dvacet pět známých druhů z rodu *Bifidobacterium*, přičemž jen přibližně deset z nich je

běžně komerčně používáno jako probiotika. Patří sem především *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium lactis* a *Bifidobacterium longum*. [4]

Bifidobakterie jsou grampozitivní, nepohyblivé, nesporulující tyčinky s vysokým podílem guanino-cytosinového komplementárního páru. Buňky se často nacházejí v párech ve tvaru písmene V nebo Y. Jedná se o bakterie obligátně anaerobní a kataláza-negativní s optimální teplotou růstu mezi 37 a 41 °C a optimálním pH mezi 6,5 a 7,0. Bifidobakterie jsou nutričně náročné a pro svůj růst vyžadují vitamíny a další nutrienty. [4]

Rod *Brevibacterium* představuje nepohyblivé, nesporulující, grampozitivní tyčinky nepravidelného tvaru, s vysokým podílem guanino-cytosinového komplementárního páru, které patří do skupiny koryneformních bakterií. *Brevibacterium* jsou obligátně aerobní, kataláza-pozitivní, mezofilní bakterie. Většina druhů je halofilní, snášející koncentraci soli nad 10 %, a jsou schopny růst v širokém rozpětí pH. Dnes je známo celkem osmnáct druhů, z nichž je několik druhů považováno za oportunistické patogeny. Nicméně druh *Brevibacterium linens* je naopak důležitým mikroorganismem pro výrobu fermentovaných potravin, především pro výrobu zrajících sýrů jako Limburger a Munster. K zahraničním druhům sýrů lze pak ještě doplnit české výrobky, například Olomoucké tvarůžky. *Brevibacterium linens* vytváří žluto-oranžovo-červené pigmenty na povrchu těchto sýrů, čímž jim poskytuje jejich charakteristický vzhled. Schopnost těchto bakterií hydrolyzovat proteiny a metabolizovat aminokyseliny, především aminokyseliny obsahující síru, také podporuje zrání a vývoj chutě široké řady sýrů. [4, 8]

Blízce příbuzné rody *Kocuria*, *Micrococcus* a *Staphylococcus* představují grampozitivní, kataláza-pozitivní, nepohyblivé, nesporulující, aerobní koky. Pouze několik málo druhů se využívá pro potravinářskou výrobu, a to omezeně pro výrobu uzenin. Základními druhy jsou *Kocuria varians*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus xylosus* a *Staphylococcus carnosus*. Tyto bakterie netvoří ve fermentovaných masných výrobcích kyseliny, nýbrž jsou používány pro vývoj chutě a barvy. [4]

Bakterie rodu *Propionibacterium* jsou grampozitivní, nepohyblivé, kataláza-pozitivní, anaerobní až aerotolerantní, mezofilní tyčinky. Některé druhy *Propionibacterium* jsou využívány v potravinářství při výrobě sýrů švýcarského typu. *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* v těchto sýrem přeměňuje mléčnou kyselinu na kyselinu propionovou,

kyselinu octovou a oxid uhličitý. Dalšími nejčastěji používanými druhy jsou *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii*, *Propionibacterium acidopropionici* a *Propionibacterium jensenii*. [4]

1.2 Kvasinky a plísně využívané v potravinářském průmyslu

Kvasinky jsou heterotrofní eukaryotní mikroorganismy, náležející spolu s plísněmi mezi houby (*Fungi*). Jejich český název byl odvozen od schopnosti většiny jejich druhů zkvašovat monosacharidy a některé disacharidy, případně i trisacharidy, na ethanol a oxid uhličitý. Tvar buněk kvasinek souvisí se způsobem vegetativního rozmnožování, jež se děje buď pučením, nebo dělením. Nejčastěji je tvar kvasinek elipsoidní, případně vejčitý až kulovitý. Některé rody tvoří dlouze protáhlé buňky, některé dokonce i tvar citronovitý (např. *Kloeckera apiculata*), trojúhelníkový (rod *Trigonopsis*) a válcovitý (rod *Schizosaccharomyces*). [1]

Plísně představují vláknité eukaryotní mikroorganismy. Dle přítomnosti a typu pohlavního rozmnožování se technologicky významné plísně a kvasinky rozdělují taxonomicky do: [1]

- třídy *Zygomycetes*
- podkmenu *Ascomycotina*
- podkmenu *Deuteromycotina*.

Výše uvedené skupiny zahrnují několik důležitých rodů kvasinek včetně *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* a *Zygosaccharomyces*, tak jako plísní, a to *Aspergillus*, *Penicillium* a *Rhizopus*. [4; 5]

Houby jako eukaryota se od prokaryot odlišují v několika hlavních ohledech. Houby mají mnohem složitější strukturu a rozmnožují se naprosto odlišným způsobem než bakterie. Ačkoliv se kvasinky i plísně řadí obojí mezi eukaryota, plísně jsou mnohobuněčné, vláknité mikroorganismy, zatímco kvasinky jsou jednobuněčné mikroorganismy, které nemají vláknitou strukturu. [4]

1.2.1 Významné druhy kvasinek

Rod kvasinek *Saccharomyces* je považován za jeden z nejdůležitějších mikroorganismů využívaných při výrobě fermentovaných potravin, ale také alkoholických nápojů, jako

je pivo, víno a lihoviny. Navíc hlavní druh *Saccharomyces cerevisiae* je široce využíván jako modelový organismus v biologii a genetice. [4; 5]

Největší vliv mají v potravinářství při fermentaci kvasinky *Saccharomyces* v pivovarnictví. Hutkins [4] rozlišuje dva hlavní druhy piva, a to svrchně kvašená piva (ales) a spodně kvašená piva, ležáky (lagers). Každý druh vyžaduje specifický druh kvasinek. *Saccharomyces cerevisiae* je využíván pro svrchně kvašená piva, zatímco *Saccharomyces pastorianus* je využíván pro spodně kvašená piva. Rozdělení na svrchně a spodně kvašená piva vychází z podstaty flokulace daného druhu. *Saccharomyces cerevisiae* flokulují v horní části fermentační nádoby, zatímco *Saccharomyces pastorianus* fermentují a usazují se na dně fermentační nádoby.

1.2.2 Významné druhy plísní

Plísně *Penicillium* a *Aspergillus* patří mezi nejběžnější a nejrozšířenější plísně v potravinách. Zástupci obou rodů způsobují kažení potravin a produkují mykotoxiny. Nicméně některé druhy *Penicillium* i *Aspergillus* jsou jako ušlechtilé plísně naopak využívány při výrobě fermentovaných potravin. Jedním z nejznámějších mikroorganismů používaných při výrobě fermentovaných potravin je *Penicillium roqueforti*. Tento druh plísně poskytuje Roquefortu a dalším sýrům s modrou plísní v těstě jejich charakteristickou barvu. Stejně tak poskytuje charakteristickou chuť a aroma sýrů. Blízký druh bílé plísně *Penicillium camemberti* je neméně známý díky využití při výrobě sýrů typu Camembert a Brie. [4; 5]

Z rodu plísní *Aspergillus* jsou druhy *Aspergillus oryzae* a *Aspergillus sojae* využívány pro výrobu sójových omáček, sójových past, saké a dalších rýžových vín, tedy orientálních výrobků. [4] Sójové pasty jsou známy pod názvem miso v Japonsku, chiang v Číně, jang nebo doenjang v Koreji, taoco v Indonésii nebo tao chieo v Thajsku. [5]

Druh plísně *Rhizopus oligosporus* je využíván pro výrobu výrobku ze sójových bobů zvaného tempeh, který je populární v Indonésii a dalších zemích jihovýchodní Asie. [4; 5]

2 VÝZNAM MIKROBIÁLNÍCH KULTUR BĚHEM VÝROBY POTRAVIN

Úspěch výroby fermentovaných výrobků závisí na přítomnosti, růstu a metabolismu specifických mikroorganismů. Existují více méně dva způsoby, jak vyvolat potravinářskou fermentaci.

Nejstarší metoda se spoléhá jednoduše na původní mikroflóru přítomnou v surovině, například syrové mléko či maso obsahují bakterie, které umožňují přirozenou fermentaci suroviny na sýry, resp. masné výrobky, vinné hrozny přirozeně obsahují kvasinky, které umožňují fermentaci na víno. Pro úspěšný průběh této metody přirozené fermentace je ovšem rozhodující, zda je v surovinách přítomna žádoucí mikroflóra, a taktéž zda jsou zajištěny vhodné podmínky pro její růst. Pokud fermentace přirozenou cestou proběhne úspěšně, část výrobku je možné odebrat a přenést do čerstvé suroviny, aby mohl být zahájen nový proces fermentace. Této metodě se říká „backslopping“, tedy tzv. reinokulace. Metoda spontánní fermentace je stále využívána, nicméně spíše pro maloobjemové výroby, v méně vyspělých zemích či v domácích podmínkách. [4]

Již v 19. století dokázali první mikrobiologové izolovat a identifikovat mikroorganismy. Například cílem britského lékaře Josepha Listera bylo mimo jiné prokázat, že čistá kultura *Bacterium lactis*, běžně přítomná v mléce, způsobuje fermentaci mléka. Lister srovnával proces fermentace s procesem vzniku infekce a bakterii použil jako modelový organismus pro demonstraci procesu fermentace. [9] Díky dalšímu objevu v podobě možnosti izolace mikroorganismů z fermentovaného mléka, vytvoření čisté kultury a tuto kulturu znovu převést do čerstvého mléka a vyvolat tak žádoucí fermentaci, vedlo k druhému způsobu výroby fermentovaných výrobků, a to použitím startovacích kultur obsahujících relevantní mikroorganismy pro daný výrobek. [9]

Startovací kultury sestávají z mikroorganismů, které jsou přímo inokulovány do potravinářských surovin během výroby, aby převládly nad přítomnou přirozenou mikroflórou a přinesly požadované změny ve finálním výrobku. Tyto změny zahrnují novou funkčnost, zvýšenou údržnost, snížení rizik bezpečnosti potravin, zvýšenou výživovou nebo zdravotní hodnotu, vylepšení organoleptických vlastností, či zvýšení ekonomické hodnoty. Přidání koncentrovaných mikroorganismů ve formě startovacích kultur poskytuje nenahraditelnou možnost pravidelné výroby s konzistentní a předvídatelnou kvalitou výrobků, což představuje zásadní rozlišení od spontánní, neřízené fermentace. [4]

Čisté mlékařské kultury

Mlékařské kultury nacházejí v mlékárenském průmyslu široké uplatnění, a to ve výrobě různých druhů zakysaných mléčných výrobků a sýrů. Mezi zakysané mléčné výrobky lze řadit širokou řadu jogurtů, jogurtových dezertů, zakysaných smetan, acidofilních mlék, kefírů apod. Autoři odborné literatury uvádějí různé definice čistých mlékárenských kultur. Plocková [6] definuje čisté mlékařské kultury následovně: „*Zákysové kultury jsou čisté kultury nebo směsi vybraných definovaných a živých mikroorganismů, které se používají jako inokulum v množství nejméně 10^6 buněk g^{-1} potraviny s cílem zahájení procesu fermentace, která má zlepšit vzhled, chuť, vůni a trvanlivost produktu.*“ Gajdůšek [10] uvádí, že čisté mlékařské kultury jsou v podstatě izolované kultury užitečných mikroorganismů, které jsou používány k inokulaci mléka a jejichž metabolismus vede k charakteristickým mléčným produktům.“ Dle Kněže [11] představují čisté mlékařské kultury „*klíčové výrobní prostředky mlékárenského průmyslu, kterými se do suroviny, zbavené pokud možno všech nežádoucích, škodlivých i patogenních mikroorganismů, resp. přirozené mikroflóry vůbec, zavádějí vybrané, účelově zaměřené druhy specifických mikroorganismů, aby se vyvolal a zajistil správný průběh výrobního procesu a dosáhlo žádané jakosti hotového výrobku.*“

Mlékařské kultury lze dělit a popisovat z různých hledisek. Plocková uvádí následující dělení mlékařských kultur: [6]

- **dělení kultur dle obsažených skupin mikroorganismů**
 - bakteriální, které se dále dělí dle optimální teploty růstu na
 - mezofilní (20 – 30 °C)
 - termofilní (40 – 45 °C)
 - kvasinkové
 - plísňové
 - smíšené (obsahující bakterie i kvasinky)
- **dělení kultur dle druhové a kmenové skladby**
 - jednokmenové (*Single Strain Starters*) – obsahují jeden kmen určitého druhu
 - vícekmenové (*Multiple Strain Starters*) – obsahují různé známé kmeny jednoho druhu
 - směsné vícekmenové (*Multiple-Mixed-Strain Starters*) – obsahují různé definované kmeny různých druhů
 - tradiční kultury (*Traditional Starters or Raw Mixed Strain Starters*) – obsahují druhy a kmeny částečně nebo zcela neznámé

2.1 Bakteriální starterové kultury

Nejdůležitější a nejrozšířenější skupinou bakterií používaných jako starterové mikroorganismy jsou bakterie mléčného kvašení. V podstatě jen několik málo bakterií, které se nevyznačují mléčným kvašením, jsou komerčně dostupné ve formě starterových kultur. [4]

Ačkoliv je dnes známo celkem dvanáct rodů bakterií mléčného kvašení, starterové kultury obsahují jednotlivé druhy pouze čtyř rodů, a to *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* a *Lactobacillus*, přičemž nejširší využití nacházejí v mlékárenském průmyslu. [4; 5]

Čisté mlékařské kultury používané v mlékárenském průmyslu zkvašují mléčný cukr laktózu na kyselinu mléčnou. Starterové kultury bakterií mléčného kvašení používané i pro výrobu jiných než mléčných výrobků mají analogickou funkci. Například kmeny *Lactobacillus sanfranciscansis* používané ve starterové kultuře pro kváskový chléb zkvašují maltózu a snižují pH těsta produkcí kyseliny mléčné, nicméně kultura produkuje i kyselinu octovou a další chuťové a vonné látky. Jedna z bakterií mléčného kvašení používaná ve starterové kultuře pro výrobu salámů, *Pediococcus acidilactici* produkuje kyselinu mléčnou a snižuje pH masa na úroveň inhibující růst nežádoucích mikroorganismů. [4; 5]

Mezi bakterie, které neprodukují kyselinu mléčnou, nicméně jsou používány ve starterových kulturách, se řadí *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* používaná pro výrobu ementálu a *Brevibacterium linens* používaná pro výrobu sýrů zrajících pod mазem, jako je Limburský sýr, Munster nebo Olomoucké tvarůžky. [4, 8]

V Tabulce 1 jsou uvedeny vybrané druhy bakterií používaných ve starterových kulturách, včetně specifikace aplikace do výrobku.

Mikroorganismus	Aplikace
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	sýry, zakysané mléčné výrobky
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	sýry, zakysané mléčné výrobky
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylous</i>	sýry, zakysané mléčné výrobky
<i>Lactobacillus helveticus</i>	sýry, zakysané mléčné výrobky
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	sýry, jogurty
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	kváskový chléb
<i>Lactobacillus casei</i>	sýry, zakysané mléčné výrobky
<i>Lactobacillus sakei</i>	salámy
<i>Lactobacillus plantarum</i>	salámy, fermentovaná zelenina
<i>Lactobacillus curvatus</i>	salámy
<i>Streptococcus thermophilus</i>	sýry, jogurty
<i>Pediococcus acidilactici</i>	salámy, fermentovaná zelenina
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	salámy
<i>Tetragenococcus halophila</i>	sójové omáčky
<i>Oenococcus oeni</i>	víno
<i>Leuconostoc lactis</i>	sýry, zakysané mléčné výrobky
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	sýry, zakysané mléčné výrobky, fermentovaná zelenina
<i>Brevibacterium linens</i>	sýry (pigmenty, povrch)
<i>Propionibacterium freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i>	sýry (oka sýrů švýcarského typu)
<i>Staphylococcus carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i>	maso (chuť, barva)

Tabulka 1: Přehled bakterií používaných ve startovacích kulturách, přeloženo dle [4]

Mezofilní bakteriální kultury

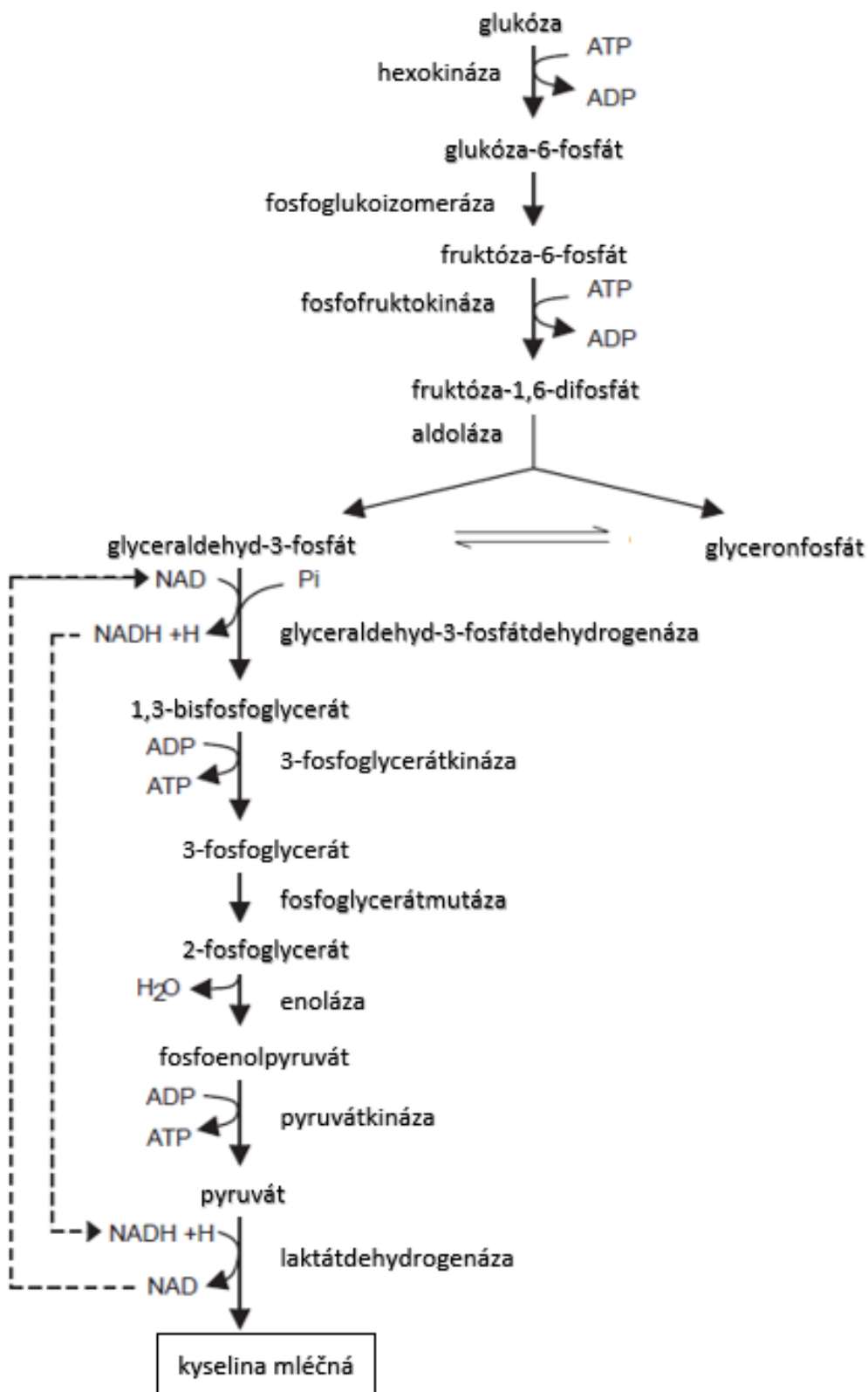
Mezofilní bakteriální kultury jsou složeny z mezofilních koků rodů *Lactococcus* a *Leuconostoc*. V kulturách obvykle dominují (obsah více než 90 %) kyselinotvorné koky *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, které při homofermentativním rozkladu laktózy obsažené v mléce produkují L(+) izomer kyseliny mléčné. [6]

Druhou složku mezofilních kultur tvoří tzv. aromatvorné koky, které se kromě produkce kyseliny mléčné z laktózy vyznačují též rozkladem citrátů v mléce, z nichž produkují oxid uhličitý a směs čtyřuhlíkatých sloučenin. Aromatvorné koky jsou zastoupeny *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, který se vyznačuje homofermentací laktózy,

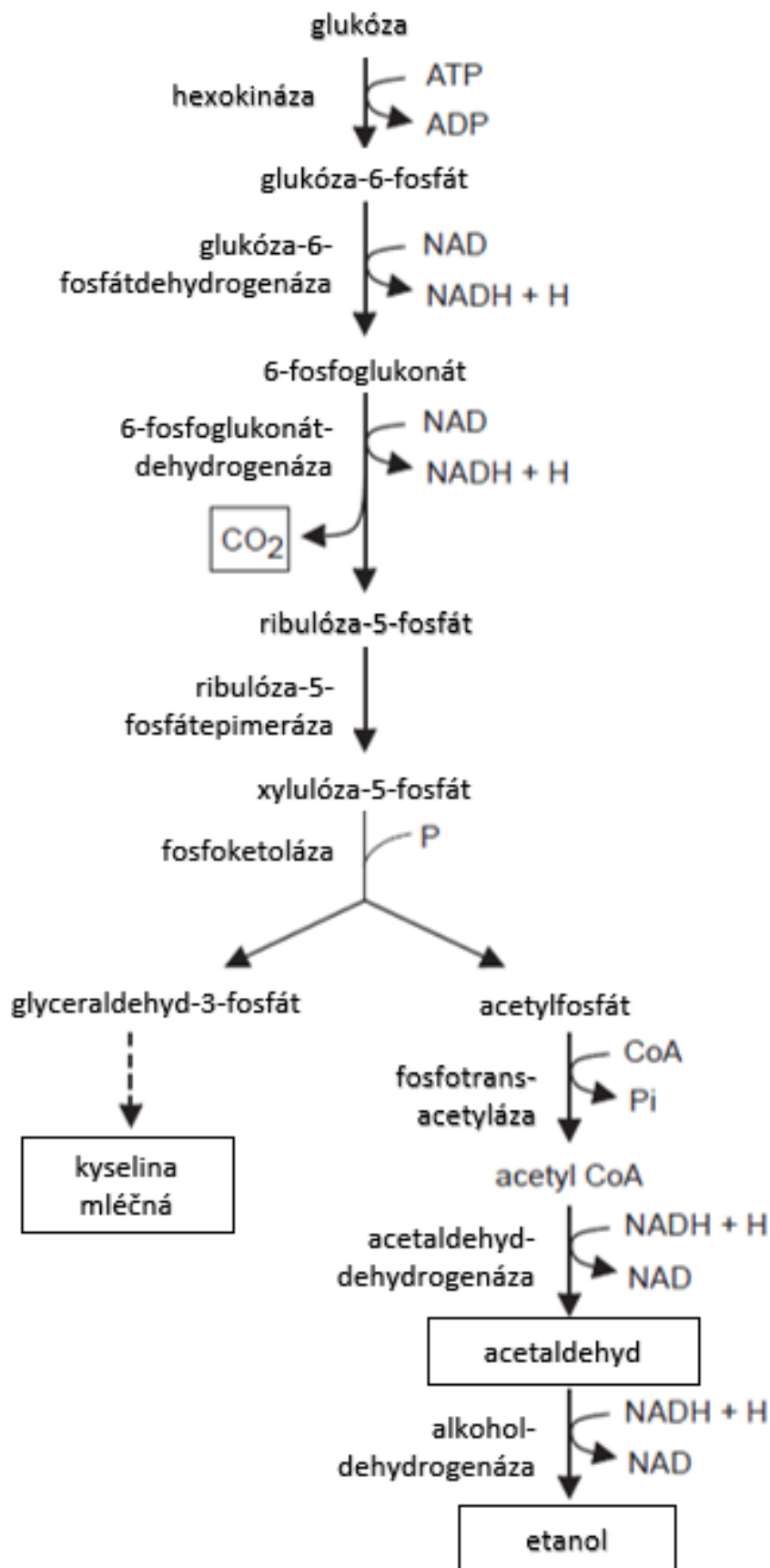
při níž tvoří L(+) izomer kyseliny mléčné, a dále heterofermentativními druhy *Leuconostoc lactis* a *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, které z laktózy tvoří D(-) izomer kyseliny mléčné, oxid uhličitý a ethanol nebo acetát. [5; 6]

Mezofilní kultury nearomatické se používají k výrobě mlékárenských výrobků, kde není žádoucí produkce plynu a aromatických látek (např. pro výrobu sýrů s uzavřenou strukturou jako čedar), aromatické kultury naopak v těch případech, kdy je tvorba plynu a aromatických látek žádoucí (zakysaná smetana, máslo ze zakysané smetany, sýry s tvorbou ok jako např. Gouda). [6]

Na níže uvedených obrázcích je nejprve zobrazen proces homofermentace přes Embden-Meyerhof-Parnasovu dráhu (Obrázek 1), a dále proces heterofermentace přes fosfoke-
tolázovou dráhu (Obrázek 2).



Obrázek 1: Embden-Meyerhof-Parnasova dráha používaná homofermentativními BMK, přeloženo dle [4]



Obrázek 2: Fosfoketolázová dráha používaná heterofermentativními BMK, přeloženo dle

Termofilní bakteriální kultury

Mikroorganismy termofilních kultur náleží k rodům *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Bifidobacterium*. Z rozsáhlého rodu *Lactobacillus* se pro mlékárenské fermentace využívají tradičně *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* a *Lactobacillus helveticus* pro výrobu sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* jako složka jogurtové kultury společně se *Streptococcus thermophilus*, který nalézá uplatnění i pro výrobu sýrů. [6]

Kombinace laktobacilů a *Streptococcus thermophilus* byla vyselektována přirozeným způsobem kvůli společné vysoké optimální teplotě kultivace a symbiotickému působení, které je nejlépe popsáno pro mikroorganismy jogurtové kultury (*Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), kde laktobacily stimulují růst streptokoků uvolňováním aminokyselin při proteolytickém rozkladu bílkovin mléka a streptokoky působí stimulačně na růst laktobacilů produkcí kyseliny mravenčí snižující redox potenciál prostředí. [6]

Dále jsou pro výrobu mlékárenských výrobků používány bakterie intestinálního původu s pozitivním působením na organismy vyšších živočichů, a to laktobacily (*Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*) a bifidobakterie (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*). [6]

2.2 Kvasinkové a plísňové starterové kultury

Kvasinkové starterové kultury jsou v největším měřítku využívány v pekárenství. Jedná se o kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae*, pro něž je typická rozsáhlá a rychlá produkce oxidu uhličitého. Kvasinkové starterové kultury jsou též široce používané pro výrobu vína, piva a lihovin, jejichž působením dochází ke zkvašování cukrů na etanol. [4; 5]

Plísňové starterové kultury jsou využívány pro výrobu relativně malého množství výrobků v porovnání s bakteriálními či kvasinkovými kulturami. Jedná se především o různé druhy sýrů, včetně sýrů s modrou plísní v těstě jako například Roquefort a Gorgonzola, a sýry s bílou plísní na povrchu jako Brie a Camembert. Kultury modré plísně obsahují suspenzi spor *Penicillium roqueforti*, zatímco kultury bílé plísně obsahují *Penicillium camemberti*. Další využití nacházejí plísňové kultury například při výrobě asijských výrobků jako

tempeh, miso a sójové omáčky, a dále při výrobě některých italských a španělských salámů. [4; 5]

V Tabulce 2 jsou uvedeny vybrané druhy plísní a kvasinek používaných ve starterových kulturách, včetně specifikace aplikace do výrobku.

Mikroorganismus	Aplikace
Plísně	
<i>Penicillium camemberti</i>	sýry (bílá plíseň na povrchu)
<i>Penicillium roqueforti</i>	sýry (modrá plíseň v těstě)
<i>Penicillium chrysogenum</i>	salámy
<i>Aspergillus oryzae</i>	sójové omáčky, miso
<i>Rhizopus microsporus</i> subsp. <i>oligosporus</i>	tempeh
Kvasinky	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	víno, pivo, chléb (produkce CO ₂)
<i>Saccharomyces pastorianus</i>	

Tabulka 2: Vybrané plísně a kvasinky používané ve startovacích kulturách, přeloženo z [4]

2.2.1 Speciální kultury pro výrobu sýrů

Níže uvedené kultury pro výrobu sýrů se velice specificky liší svými vlastnostmi, podmínkami kultivace a působením ve výrobku od výše uvedených mezofilních a termofilních kultur obsahujících bakterie mléčného kvašení a bakterie rodu *Bifidobacterium*, proto jsou jmenovány a popsány zvlášť níže.

Propionová kultura je tvořena druhy rodu *Propionibacterium*, které produkují velké množství kyseliny propionové a octové a oxidu uhličitého z laktózy a laktátu. Oxid uhličitý tvoří velká oka nalézající se v sýru Ementál a podobných typech sýrů, ostatní metabolity přispívají k typické chuti a vůni těchto sýrů. Nejčastěji využívanými druhy jsou *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii* a *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*. [5; 6]

Mazová kultura používaná pro zrání sýrů s mazem na povrchu obsahuje obvykle směs bakterií rodů *Brevibacterium* a *Micrococcus* a kvasinky rodů *Kluyveromyces* a *Candida*. Pro správný průběh zráního procesu je nejdůležitější mikroorganismus *Brevibacterium linens*, který se může uplatnit na povrchu sýra poté, co přítomná kyselina mléčná je metabolizována a neutralizována kvasinkami a mikrokoky a pH povrchu sýra stoupne k hodnotám

pH 5,7 – 6,0. *Brevibacterium linens* produkuje žlutooranžové karotenoidní pigmenty, které se podílejí na charakteristickém zbarvení povrchu sýra. [5; 6]

Plísňové kultury používané pro zrání plísňových sýrů obsahují plísně rodu *Penicillium*. Pro výrobu sýrů s plísní na povrchu (Camembert, Brie apod.) se používá tzv. bílé plíseň *Penicillium camemberti* Thom (dříve dva druhy *Penicillium caseicolum* a *Penicillium camemberti*), pro výrobu sýrů s plísní v těstě (Roquefort, Gorgonzola, Stilton) modré plísně *Penicillium roqueforti*. [5; 6]

2.3 Hlavní funkce čistých mlékařských kultur

Jako hlavní funkce mikroorganismů obsažených v mlékařských kulturách uvádí Plocková technologickou, ochrannou a probiotickou. [6]

2.3.1 Technologická funkce

Dle Plockové spočívá technologická funkce čistých mlékařských kultur v zajištění technologické zpracovatelnosti surovin na výrobky požadovaných parametrů, které je u mlékařských výrobků spojeno především s katabolickými procesy mikrobiální degradace sacharidů, lipidů, bílkovin a citrátů. [6] Bez činnosti mikroorganismů čistých mlékařských kultur by nebylo možné dosáhnout žádoucího procesu fermentace a vyrábět tak mléčné výrobky. Prostřednictvím pasteračního záhřevu totiž dochází ke zničení nejen patogenů, ale i technologicky významných mikroorganismů. Přidáním čistých mlékařských kultur jsou do suroviny opět zavedeny ušlechtilé mikroorganismy, jež svými biochemickými procesy zajistí požadované fyzikálně chemické změny, včetně vzniku charakteristické konzistence, chutě a vůně výrobků. [12]

2.3.2 Ochranná funkce

Ochranná funkce čistých mlékařských kultur je dle Plockové založena na inhibici růstu nežádoucích mikroorganismů a mikroorganismů způsobujících onemocnění z požívání v surovinách, meziproduktech, finálních výrobcích, popř. v trávicím traktu teplokrevných živočichů včetně člověka. [6] Tvorba ochranných látek je dána různě u jednotlivých kultur. Nicméně ochranný účinek má především kyselina mléčná inhibující nežádoucí alkaligenní mikroflóru. [12], [13] Prostřednictvím tvorby ochranných látek dochází k prodloužení trvanlivosti výrobků. [14]

V kapitole 1.1.1 jsou popsány enterokoky jako často nežádoucí mikroorganismy v potravinářském průmyslu, přičemž jsou indikátorem fekální kontaminace potravin. [4] Naproti tomu se ale u několika kmenů enterokoků uvádí, že dokáží produkovat antimikrobiální sloučeniny včetně bakteriocinů, přičemž tvorbu bakteriocinů lze považovat za probiotickou vlastnost, resp. ochrannou funkci. [7] Tvorba bakteriocinů kmeny enterokoků je dále popsána v kapitole 2.5. Mezi bakteriociny produkované enterokoky se řadí například enterocin AS-48, enterolysin A, enterocin CCM4231 a EJ97. [7, 15] Enterocin AS-48 se využívá při výrobě cideru, ovocných a zeleninových šťáv a konzervované zeleniny pro inhibici kontaminace. Enterocin CCM4231 a EJ97 se využívají při výrobě sójových alternativ mléka a cuketového pyré pro potlačení kontaminace. [15]

2.3.3 Probiotická funkce

Termín „probiotický“ pochází z řeckých slov *pro bios*, která znamenají „pro život“ nebo „na podporu života“. Tento termín poprvé použili Lilly a Stillwellová v roce 1965 ve svém článku Probiotika: faktory podporující růst, produkované mikroorganismy. [16]

Probiotika dle definice Organizace spojených národů pro výživu a zemědělství (Food and Agriculture Organization, FAO) a Světové zdravotnické organizace (World Health Organization, WHO) představují živé mikroorganismy převážně lidského původu, které aplikovány v přiměřeném množství ovlivňují příznivě zdravotní stav hostitele. [17] Yang a kol. [7] popisují funkci probiotik ve smyslu podpory rovnováhy střevní mikroflóry a přínosu zdravotních benefitů. Dle Plockové [6] se probiotická funkce uplatňuje prokázaným a potenciálním prospěšným působením na stav organismu příjemce včetně člověka. Horáčková a Šviráková [18] popisují probiotika jako živé mikroorganismy, které pozitivně ovlivňují zdraví člověka změnou či udržováním určité rovnováhy střevní mikroflóry. Dle souhrnného pojetí Fullera [19] představují probiotika skupinu kmenů mikroorganismů prospěšných pro hostitele, které jsou schopny metabolické aktivity a schopny přežít v gastrointestinálním traktu, dále které nevykazují žádnou patogenitu, ani toxicitu, a nakonec které si zachovávají svou stabilitu při zátěžových podmínkách a během delší doby skladování.

Přídavek probiotických mikrobiálních kultur modifikuje potraviny na tzv. funkční potraviny. Funkční potraviny představují potraviny s přidanou funkcí, a to prostřednictvím přídavku nové složky, nebo zvýšením podílu obsahu složky v potravine již přítomné. [18]

Mezi nejčastěji uváděné příznivé účinky probiotik patří antimikrobiální aktivita v souvislosti s nejrůznějšími druhy gastrointestinálních infekcí (akutní průjemové onemocnění, průjemové onemocnění spojené s užíváním antibiotik, ozařováním, prevence tzv. cestovních průjmů), spolu s antibiotiky potlačení infekce *Helicobacter pylori*, dále pak zmírnění průběhu nespecifických střevních zánětů (ulcerózní kolitida, Crohnova choroba), prevence atopického ekzému, zlepšení trávení laktózy, redukce hladiny sérového cholesterolu, antikarcinogenní účinky, stimulace imunitního systému, léčení urovaginálních infekcí apod. [18] Tang a Lu [20] uvádějí, že probiotika mají mnoho biologických funkcí, pro něž získávají pozornost. Mezi tyto funkce autoři řadí regulaci imunitní odpovědi, antioxidační aktivita a antimikrobiální účinky. Probiotika vytvářejí antimikrobiální metabolity, mezi které patří například bakteriociny, reuterin, kyselina linolová a sekundární žlučové kyseliny.

Reuterin produkují bakterie *Lactobacillus reuteri* při metabolizaci glycerolu. [21] Jedná se o nebílkovinnou organickou sloučeninu s nízkou molekulární hmotností a vysokou vodorozpustností [20], která je známá jako širokospektrální antimikrobiální činidlo. [21]. Reuterin aktivně působí proti enteropatogenům, kvasinkám, plísním, prvokům a virům. Reuterin zůstává aktivním při širokém rozsahu hodnot pH a vykazuje vysokou antimikrobiální aktivitu i vůči Gram-pozitivním a Gram-negativním patogenům. *Helicobacter pylori* představuje klíčový patogen, který se podílí na patogenezi gastrointestinálních chorob. [21] Urrutia-Baca spolu s dalšími výzkumnými pracovníky zjistil, že již při nízké koncentraci dokáže reuterin nejen snížit počet kolonií patogenů, ale i snížit mRNA expresi genů virulence. [22]

Příkladem probiotických mikroorganismů jsou u bifidobakterií kmeny *Bifidobacterium acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidus*, *Bifidobacterium lactis (animalis)* a *Bifidobacterium infantis*. U laktobacilů se jedná o druhy *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus johnsonii* a *Lactobacillus helveticus*. V neposlední řadě se pak například jedná ještě o druh *Lactococcus lactis*. [18]

2.3.4 Další zdravotní funkce a technologické aplikace

Některé bakterie mléčného kvašení produkují exopolysacharidy, které mají v mléčných výrobcích především technologickou funkci, a to ovlivňování textury u výrobků jako

jogurty, sýry a mléčné dezerty. [23] Mezi bakterie, které produkují exopolysacharidy, patří například *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus johnsonii*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Pseudomonas fluorescens* a další. [24]

Exopolysacharidy představují polysacharidy uvolňované do extracelulárního prostředí ve formě kapsul nebo biofilmu. Mezi úlohy exopolysacharidů se řadí ochrana bakteriálních povrchů, při interakcích s jinými bakteriálními povrchy slouží jako substrát, jako ochranné prostředky proti vnějšímu prostředí, jako stavební stabilizátory v biofilmu či jako signální molekuly. Některé bakteriální polymery jsou využívány i jako aditiva v potravinářském průmyslu (xanthan, gellan, kurdlan). [24]

Exopolysacharidy se dělí na exopolysacharidy vylučované buňkou do prostředí (r-EPS, Released Exopolysaccharides) a na exopolysacharidy vázané ke stěně buňky (c-EPS, Cell-Bound Exopolysaccharides). V Tabulce 3 jsou uvedeny exopolysacharidy produkované některými probiotickými kmeny bakterií. [24]

Kmen	druh EPS
<i>Lactobacillus plantarum</i> 70810	r-EPS
<i>Lactobacillus acidophilus</i> A4	r-EPS
<i>Enterobacter cloacae</i> (GQ426323)	r-EPS
<i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>lactis</i> AD011	r-EPS
<i>Lactobacillus reuteri</i>	r-EPS
<i>Pseudomonas fluorescens</i> WR-1	r-EPS
<i>Streptococcus macedonicus</i> Sc 136	r-EPS
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> OLL1073R-1	r-EPS
<i>Lactobacillus brevis</i>	c-EPS
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 606	c-EPS
<i>Lactobacillus plantarum</i> EP56	c-EPS

Tabulka 3: Produkce r-EPS a c-EPS u některých probiotických kmenů [4]

Podle složení se exopolysacharidy dělí na dvě skupiny: homoexopolysacharidy a heteroexopolysacharidy. Homoexopolysacharidy jsou tvořeny z jednoho druhu monosacharidu

jako například dextran nebo levan. Heteroexopolysacharidy jsou tvořeny z různých druhů monosacharidů. [24]

Technologické funkce exopolysacharidů je široce využíváno při výrobě fermentovaných potravin, nicméně exopolysacharidy získávají větší pozornost i díky svým zdravotním benefitům. Především byly zkoumány imunostimulační, antimutagenní a protinádorové účinky fermentovaných mléčných výrobků vyrobených pomocí bakterií mléčného kvašení produkujících exopolysacharidy. [23]

Imunomodulační účinky a zejména jejich interakce se střevními epiteliálními buňkami byly popsány u exopolysacharidů izolovaných z *Lactobacillus acidophilus* subsp. *5e2* a *Lactobacillus helveticus* subsp. *rosyjski*. Dále byly potvrzeny imunostimulační účinky exopolysacharidů produkovaných *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. [24]

Kim a spol. popsali mechanismy, kterými probiotické bakterie indukují smrt nádorových buněk prostřednictvím autofagie. Exopolysacharidy izolované z *Lactobacillus acidophilus* 606 přímo ovlivňují morfologii buněk a nikoliv buněčný cyklus, což zkoumali u karcinomu tlustého střeva. [24] Rabinowitz a Whiteová [25] definují autofagii jako řízený proces rozkladu buněčných struktur, jako jsou například poškozené orgány nebo poškozené proteiny. Hydrolytický rozklad probíhá v buněčných útvech lyzozomech.

Antioxidační účinky byly prokázány u exopolysacharidů produkovaných *Pseudomonas fluorescens* WR-1 a *Enterococcus faecium* (BDU7), přičemž se uvažuje o jejich hodnotě při léčení žaludečních vředů. [24]

3 NOVÉ TRENDY VYUŽITÍ KULTUR PŘI VÝROBĚ POTRAVIN

Pro zakysání mléčných výrobků lze při výrobě použít dva typy kyselých bakteriálních kultur, a to mezofilního nebo termofilního charakteru, které byly popsány v kapitole 2.4.

Mezofilní smetanová kultura se používá při výrobě širokého spektra mléčných výrobků, a to kysaných mlék, kysaných smetan, kysaného podmásli, másla ze zakysané smetany, pomazánkového másla, tvarohů a sýrů. [6; 14] Termofilní jogurtová kultura se používá především při výrobě různých typů jogurtů a dalších výrobků na bázi jogurtu. [14]

3.1 Kysané mléčné výrobky s kulturou mezofilního charakteru

3.1.1 Koncentrované mléčné výrobky

Za koncentrované mléčné výrobky jsou obecně považovány výrobky s velmi hustou konzistencí vzniklou požadovaným technologickým procesem výroby. Hustá konzistence je způsobena vyšším obsahem sušiny, než jaký je typický pro běžné mléčné výrobky na trhu. [26] V Tabulce 4 jsou uvedeny příklady koncentrovaných mléčných výrobků z celého světa.

Tradiční název	Původ	Typ kultury
Chakka, Shrikhand	Indie	mezofilní
Ymer, Ylette	Dánsko	mezofilní
Labneh, Labaneh, Lebneh, Labna	Východní Středomoří	termofilní
Labneh, Laban Zeer, Leben Zeer	Egypt a Súdán	termofilní
Torba, Süzme	Turecko	termofilní
Tan, Than	Arménie	termofilní
Stragisto, Sakoulas	Řecko	termofilní
Syuzma	Rusko	termofilní
Mastou, Mast-e-Chekideh	Irán, Irák	termofilní
Basa, Zimme, Kisela, Mleko-Slano	Balkánské země	termofilní
Ititu	Etiopie	termofilní
Řecký jogurt nebo jogurt řeckého stylu	Británie, Austrálie, Nový Zéland, USA	termofilní
Skyr	Island	termofilní

Tabulka 4: Přehled koncentrovaných mléčných výrobků; převzato z [27]

V Tabulce 4 je mimo jiné uvedeno, jaký typ starterové kultury byl použit. Popis koncentrovaných mléčných výrobků v této bakalářské práci je tedy rozložen do dvou podkapitol, a to 3.1 Kysané mléčné výrobky s kulturou mezofilního charakteru a 3.2 Kysané mléčné výrobky s kulturou termofilního charakteru.

Většina z výše uvedených výrobků se dříve vyráběla prostřednictvím metody cezení přes plátno, v dnešní době se tyto výrobky vyrábějí průmyslově prostřednictvím tří metod, a to pomocí odstředivky, membránové filtrace nebo úpravou složení výrobku. V prvních dvou případech dochází k zahuštění výrobku díky odstředění či oddělení syrovátky, zatímco v posledním případě dochází ke zvýšení obsahu sušiny ve výrobku přidáním koncentrovaných bílkovinných mléčných složek. [26]

Ymer

Ymer je koncentrovaný zakysaný mléčný výrobek pocházející z Dánska. [27] Charakteristický obsah látek v g/100g je 3,5 g tuku, 5,6 g bílkovin a 3,6 g sacharidů, zatímco ylette představuje variantu ymer s nižším obsahem tuku, a to 1,5 %. [28] Název ymer si nechal již v roce 1937 zaregistrovat E. Larsen jako chráněné označení kysaného mléčného výrobku. [27]

Podstatou výroby ymeru je ultrafiltrace odstředěného mléka při teplotě 50 °C, čímž se dosáhne zakoncentrování bílkovinného obsahu. Dále se do mléčné hmoty přidá smetana, následuje homogenizace, záhřev na 90 – 95 °C na tři minuty, zchlazení na 20 – 22 °C a zakysání mezofilní starterovou kulturou po dobu cca. 18 hodin. Poté se hmota silně promíchá, zchladí na 12 °C a naplní do obalu. [28]

Starterová kultura obsahuje *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (biovar. *diacetylactis*) a *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*. Následně výrobek získává příjemnou kyselou chuť s náznakem diacetylu. [29]

Ymer je balen do nápojových kartonů tetrapak. [30] Ač se jedná o koncentrovaný zakysaný mléčný výrobek s vyšším obsahem sušiny, stále vykazuje nízkou viskozitu a tekutou konzistenci, jak naznačuje Obrázek 3.



Obrázek 3: Fotografie mléčného výrobku Ymer [31]

3.2 Kysané mléčné výrobky s kulturou termofilního charakteru

3.2.1 Mléčný výrobek Viili

Skandinávská populace se obecně řadí mezi největší konzumenty kysaných mléčných výrobků. Mnohé z nich tedy i ze Skandinávie přímo pocházejí. Mezi mléčné výrobky původem ze Skandinávie se řadí například viili, langfil, keldermilk, skyr nebo ymer. [29] Některé z těchto výrobků mají specifické vlastnosti, které jsou popsány v následujícím textu bakalářské práce.

Jako příklad dalšího trendu v použití mikrobiálních kultur v mléčných výrobcích může být považován mléčný výrobek viili, široce konzumovaný ve Finsku. [4] Kromě Finska je viili rozšířený i ve Švédsku a Dánsku, méně pak v Norsku. [32] Nicméně dle Leporanty [33] je tradiční viili nejpopulárnější ve Finsku.

Specifikem a charakteristickým znakem mléčného výrobku viili je použití mikrobiální kultury obsahující mimo standardních bakterií mléčného kvašení též plíseň *Geotrichum candidum*. [4] Luo a Deng [32] konkrétně uvádějí použité druhy bakterií mléčného kvašení, a to *Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* a *Leuconostoc mesenteries* subsp. *cremoris*. Autoři [32] dále doplňují, že kromě zmi-

ňovaných kmenů bakterií mléčného kvašení a plísně jsou při výrobě viili uplatňovány i kvasinky, a to kmeny *Kluyveromyces marxianus* a *Pichia fermentans*. Na druhou stranu Luo a Deng [32] ve své práci uvádějí, že se ale často v dnešní průmyslové praxi ustupuje od použití kvasinek, a to z důvodu eliminace etanolu ve výrobku.

Všechny tyto mikroorganismy obsažené ve viili spolu existují v symbiotickém systému, a vyznačují se probiotickou aktivitou, především ve smyslu pozitivního působení na trávicí systém. [34]

Tradiční výroba viili je popsána následovně: mléko se odstředí a standardizuje na obsah tuku 1,0 až 3,5 %, standardizované mléko se zahřeje na 83 °C na 20 až 25 minut bez homogenizace (absence homogenizace je příčinou vzniku silné vrstvy smetany na povrchu výrobku), dále je mléko zpasterováno a zchlazeno na 20 °C a inokulováno 3 až 4 % startovací kultury složené z bakterií mléčného kvašení a plísně *Geotrichum candidum*. Následně je výrobek balen do prodejního balení, přičemž v obalu zraje při teplotě 18 až 20 °C po dobu 24 hodin, dokud se nedosáhne obsahu kyseliny mléčné 0,9 % a nakonec je zchlazen. Během udržování výrobku při teplotě 18 až 20 °C dochází k oddělování tuku k povrchu výrobku, což umožňuje plísni *Geotrichum candidum* růst a vytvoření sametového povrchu výrobku. [32, 34] Komerčně se vyrábí viili i s použitím homogenizace a bez využití růstu plísně na povrchu výrobku, stejně tak se k výrobě viili může používat i jiné mléko než kravské. [32]

Viili se na trhu vyskytuje v několika variantách: nízkotučný (cca. 2,5 % tuku) známý jako kevytviili, plnotučný (3,9 % tuku) známý jako viili, a smetanový viili obsahující 12 % tuku. [34] Na trhu také existují varianty se sníženým obsahem laktózy a varianty s různými ochucujícími složkami. [32]

Viili je známý pro svou vysokou viskozitu a typickou plísňovou chuť a vůni. Jeho typická táhlovitá textura je způsobena produkcí kapsulárních exopolysacharidů druhem *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis* a *Lactobacillus lactis* subsp. *cremoris*, jeho plísňová chuť je způsobena právě růstem plísně *Geotrichum candidum*. [4, 35] Dalším charakteristickým projevem aktivity plísně *Geotrichum candidum* je tvorba sametového povrchu na konci procesu fermentace výrobku viili. [32] *Geotrichum candidum* je druh plísně běžně využívaný při výrobě sýrů, u kterých je odpovědná za vývoj charakteristické chuti a aroma. Plíseň roste při teplotě od 5 do 38 °C a v širokém intervalu pH od 3 do 11. Optimální teplota a pH růstu je cca. 25 °C, respektive 5,0 až 5,5. [36]

Dle Kitazawy [37, 38] vykazují exopolysacharidy obsažené v produktu viili několik zdravotních benefitů včetně antioxidační, protizánětlivé, protirakovinné, protistárnoucí a imunomodulační aktivity.

3.2.2 Koncentrované mléčné výrobky

Z Tabulky 4 vyplývá, že na světovém trhu existuje široká škála koncentrovaných mléčných výrobků s použitím kultur termofilního charakteru. Kapitola 3.2.2 se blíže věnuje mléčnému výrobku Skyr a řeckým jogurtům a jogurtům řeckého stylu nebo typu.

Mléčný výrobek Skyr

Skyr pochází z Islandu a má více jak tisíciletou historii předávanou z generace na generaci. [39] Jedná se o koncentrovaný mléčný výrobek s obsahem bílkoviny téměř 13 %. Takového vysokého obsahu bílkoviny je komerčně dosaženo prostřednictvím odstředivky, jako se používá pro výrobu tvarohu. [29] Z technologického hlediska lze Skyr přirovnat k tvarohu, z hlediska konzumace se Skyr podobá spíše jogurtu.

Výrobní proces je popsán následovně: Odstředěné mléko se nechá zakysat kulturou podobnou té, která se běžně používá pro výrobu jogurtů, tedy s obsahem termofilních bakteriálních kmenů *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*, nicméně u Skyru jsou tyto bakterie doprovázeny ještě laktózu zkvašujícími kvasinkami. [4] Dle Martha a Steelea lze přidat i menší množství syřidla pro dosažení správné struktury. [29]

Během 4 až 6 hodin při 40 °C je dosaženo pH 4,6. Po dalších 18 hodinách při 18 až 20 °C klesá pH na 4,0, výrobek se zpasteruje, a poté se odstředí na odstředivce při 35 až 40 °C pro získání charakteristické hustoty výrobku. [29]

Jelikož jsou během výroby Skyru využívány kvasinky, ve finálním výrobku je pak vedle kyseliny mléčné, diacetylu, acetaldehydu a kyseliny octové obsažen i etanol. [29]

Skyr je díky svému původu široce rozšířen právě v severských zemích, nicméně v posledních letech nabývá Skyr na oblíbenosti a stal se jedním z trendů v rámci mlékárenského průmyslu. Nejstarší a největší islandské mlékárenské družstvo MS Iceland Dairies dnes dodává svůj Skyr pod značkou Ísey Skyr do mnoha evropských i několika mimoevropských zemí, včetně Británie, Švýcarska, Japonska, Ruska či USA. [40] V USA se výrobek objevuje na trhu pod značkou Icelandic Provisions a jedná se na tamním trhu o jediný Skyr vyráběný

v USA s použitím originální islandské receptury včetně islandských startérových Skyr kultur, jež jsou islandským národním dědictvím. [39] MS Iceland Dairies má vedoucí postavení v mlékárenském průmyslu na Islandu, a sdružuje kolem 600 chovatelů skotu z celé země. Vlastníkem družstva je z 90,1 % společnost Auðhumla a z 9,9 % společnost Skagfirðinga. Nejstarším členem družstva je Asociace mléka a mléčných výrobků KEA, která byla založena 4. září 1927, přičemž toto datum je považováno zároveň i za den založení družstva MS Icelandic Dairies. [41]

Doplňující předností Skyru je jeho široké kulinářské uplatnění. Sama společnost MS Icelandic Dairies uvádí mnohé, různorodé použití Skyru, ať už jako hlavní či vedlejší suroviny, a to od salátů, přes omáčky, dezerty, hummus, až po mléčné nápoje, dipy nebo pomazánky. [42] Společnost MS Icelandic Dairies si uvědomuje potenciál Skyru, kterého dále využívá například otevřením několika Ísey Skyr barů, které zákazníkům nabízí široké portfolio pokrmů na bázi Skyru. [43]

Řecké jogurty a jogurty řeckého typu nebo stylu

K 12. prosinci 2016 vstoupila v České republice v platnost komoditní vyhláška č. 397/2016 Sb. O požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje, která do prosince 2019 definovala řecký jogurt a jogurt řeckého typu nebo stylu v rámci odstavce 3.2.3 pro kysané nebo zakysané mléčné výrobky. Dle § 12 (5) se jako řecký jogurt označoval jogurt, u kterého byl zvýšen obsah sušiny odebráním syrovátky, a který obsahoval minimálně 5,6 % mléčných bílkovin, které nebyly do výrobku záměrně přidány v koncentrované formě. Dle § 12 (6) se jako jogurt řeckého typu nebo jogurt řeckého stylu označoval jogurt, který obsahoval minimálně 5,6 % bílkovin, čehož bylo dosaženo přidáním koncentrovaných bílkovinných mléčných složek před zahájením kysacího procesu. [44]

Řecko se dlouhodobě snaží chránit svou výrobu a proti veškerým mléčným výrobkům s označením „řecký jogurt“, které se nevyrábějí v Řecku, bojuje legislativní cestou. Jedním ze starších případů je například spor mezi britskou firmou Chobani UK Ltd. a řeckou firmou FAGE. V roce 2012 uvedla firma Chobani UK Ltd. na trh „řecký jogurt“ vyráběný v USA. Firma FAGE zahájila soudní spor s firmou Chobani UK Ltd., který následně vyhrála, a Chobani UK Ltd. musela přestat používat název „řecký jogurt“. [45]

Ze stejného důvodu byla ze strany Řecka v roce 2017 napadena u Evropské unie i výše uvedená česká komoditní vyhláška, a to právě z údajně neoprávněné úpravy „řeckého

jogurtu“. Důsledkem nakonec bylo vydání novely této vyhlášky č. 274/2019 Sb. Novela vyhlášky nahrazuje úpravu „řeckého jogurtu“ a „jogurtu řeckého typu“ nebo „jogurtu řeckého stylu“ novou úpravou. V § 12 týkajícím se kysaných nebo zakysaných mléčných výrobků je pod (5) nově uveden „koncentrovaný mléčný výrobek“, který představuje mléčný výrobek, u kterého byl obsah mléčných bílkovin před fermentací nebo po fermentaci navýšen na nejméně 5,6 %. [46] Z této úpravy lze chápat, že Řecko nevystupuje proti technologii výroby, nýbrž proti konkrétnímu značení „řecký jogurt“ s ohledem na původ výrobku.

Společnost Polabské mlékárny i nadále nazývají svůj jogurt jako řecký, nicméně toto označení je pouze obchodní. [47] Taktéž Bohušovická mlékárna pozůstala u obchodního značení „řecký jogurt“. [48] Společnost Bohemilk na svých obalech uvádí „jogurt řeckého typu“. [49] Naopak Mlékárna Kunín od značení „řecký jogurt“ zcela upustila a na svých obalech používá pouze grafické zpracování řecké tematiky. [50]

Bez ohledu na obecně správné označení výrobku se stále jedná technologicky o koncentrovaný výrobek s vyšším obsahem bílkoviny, čímž tyto výrobky, včetně například výše uvedeného Skyru a Ymeru, nabývají velkého potenciálu v souvislosti s ketogenní dietou.

Ketogenní dieta je založena na příjmu vyššího množství tuků, přiměřeného množství bílkovin a velice nízkého množství sacharidů [51], sníženého až na méně než 10 %. Uvedené omezení příjmu sacharidů má za následek přechod organismu z metabolismu sacharidů na metabolismus mastných kyselin, při němž se tvoří ketonové látky. [52]

Ketogenní dieta není po celém světě využívána primárně jen pro snížení tělesné váhy, nýbrž po desítky let slouží i jako forma léčby epilepsie. První zmínky o využívání dietoterapií jako léčby epilepsie se objevují již před 500 lety př.n.l. Nicméně v roce 1921 vydal lékař Russell Morse Wilder dva články ohledně účinků ketonémie na epilepsii. Mnoho vědeckých zdrojů uvádí Wilderovy články jako první zprávy o využití ketogenní diety. [53]

Ketonémie neboli ketóza představuje metabolický stav vyznačující se zvýšenou hladinou ketonových látek v krvi nebo moči. Mezi ketonové látky patří acetacetát, beta-hydroxybutyrát a aceton. Metabolismus ketonových látek sestává z dvou procesů, ketogeneze neboli syntézy ketonových látek z mastných kyselin a ketolýzy neboli rozkladu ketonových látek za vzniku energie, která se tvoří v játrech a je využívána orgány jako mozek, srdce, ledvinová kůra a kosterní svalstvo v případech, kdy jsou sacharidy právě přijímány ve velmi omezeném množství. [54]

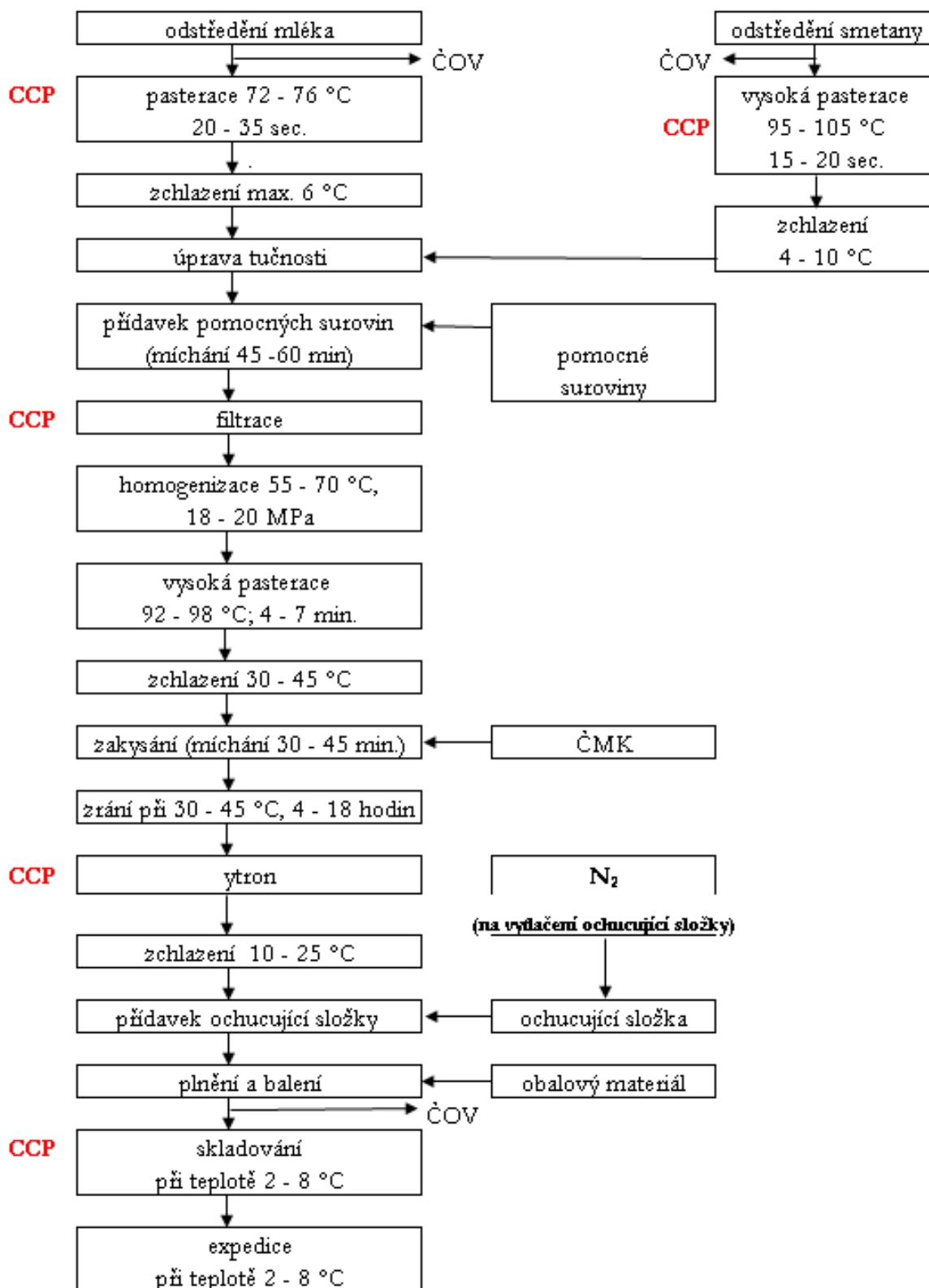
Ketogenní dieta získává v posledních letech na velké popularitě mezi laickou veřejností, a to v souvislosti s potřebou snižování tělesné hmotnosti. Z tohoto důvodu lze v mléčných výrobcích s vyšším obsahem bílkovin spatřovat velký potenciál jako v jedné z důležitých složek ketogenní stravy.

3.2.3 Probiotické jogurty s bifidokulturou

Za kysané mléčné výrobky s bifidokulturou jsou dle vyhlášky č. 397/2016 Sb. považovány mléčné výrobky, při jejichž výrobě byly použity mikrobiální kultury s obsahem *Bifidobacterium* sp. V kombinaci s mezofilními a termofilními bakteriemi mléčného kysání. Ve finálním výrobku se pak musí vyskytovat minimálně 10^6 bifidobakterií v 1 g výrobku. [44]

Ačkoliv byly probiotické účinky potvrzeny i u jiných mikroorganismů (např. *Enterococcus faecium*, *E. coli* Nissle 1917, *Saccharomyces boulardii*), je z výše uvedeného přehledu probiotických mikroorganismů v předchozí kapitole patrné, že tyto účinky jsou připisovány a zkoumány převážně u bakterií mléčného kvašení a bifidobakterií. Tím se mlékárenské výrobky stávají hlavní potravinovou maticí k přenosu prospěšných mikroorganismů do organismu člověka, což dává velký potenciál výrobcům těchto produktů. [18]

Za jeden z výrobků potvrzujících aktuální trend použití probiotických kultur v mléčných výrobcích může být považován Ochucený jogurt s bifidokulturou Active, který vyrábí firma Mlékárna Stříbro s.r.o. pro obchodní řetězec Lidl jako jeho privátní značku. Výrobek Active vyrábí mlékárna pro Lidl již od roku 2013, kdy Lidl touto svou privátní značkou tehdy nahradil dosud na regálu prodávaný probiotický výrobek Activia výrobce Danone. V té době výrobová řada Active obnášela pouze šest základních druhů, resp. příchutě, a to bílý neochucený, bílý slazený, jahoda, meruňka, borůvka a višně. Uvedené druhy patří dodnes k celoročnímu sortimentu. V průběhu let pak postupně Lidl ve vývojové součinnosti s Mlékárnou Stříbro s.r.o. zavedl na trh mnoho dalších sezónních příchutí. Kromě prvotních šesti druhů nyní čítá výrobová řada Active následující příchutě: citron, vanilka, cereálie-quinoa, cereálie-jablko, cereálie-lískový ořech, perník, punč s rozinkami, hruška-skořice, jahoda-rebarbora, červený rybíz-brusinka, ananas-kokos a meloun-limetka.



Obrázek 4: Sestavení výrobního diagramu pro výrobu jogurtu ochuceného a jogurtu ochuceného s bifidokulturou. ČMK jsou přidávány v hlubokomražené podobě přímo do pasterovaného mléka. CCP – kontrolní kritický bod, ČOV – čistička odpadních vod.

Active jogurt je vyroben klasickou technologií z mléka, mléčné bílkoviny, jogurtové kultury, bifidokultury a ochucující složky Syrové kravské mléko je odstředěno, následuje pasterace mléka a smetany, zchlazení, úprava tučnosti a sušiny, filtrace, homogenizace, pasterace, zchlazení, zakysání, zrání, míchání, zchlazení, přídavek ochucující složky a balení. Na Obrázku 3 je uveden zpracovaný výrobní diagram.

Pro výrobu je použita standardní termofilní jogurtová kultura s obsahem bakterií mléčného kvašení *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. K této jogurtové kultuře je dále přidána termofilní probiotická kultura obsahující *Bifidobacterium* (zdokumentovaný probiotický kmen BB-12[®]), *Lactobacillus acidophilus* (zdokumentovaný probiotický kmen LA-5[®]) a *Streptococcus thermophilus*. Dodavatelem probiotické kultury je firma Chr.Hansen Czech Republic, s.r.o.

3.2.4 Mléčné výrobky z delaktózovaného mléka

Výrobky z delaktózovaného mléka představují specifickou skupinu mléčných výrobků, které nacházejí uplatnění na trhu primárně u zákazníků trpících intolerancí laktózy, která se projevuje různými gastrointestinálními potížemi. Intolerance laktózy představuje neschopnost organismu štěpit laktózu z důvodu nedostatku enzymu laktáza, který je schopen laktózu rozštěpit na monosacharidové jednotky glukózu a galaktózu, které jsou stravitelné. [55] Delaktózáce mléka je založena na hydrolyze laktózy prostřednictvím enzymu β -galaktosidáza neboli laktáza. [56] Laktázy široce využívané v potravinářském průmyslu se získávají především z druhů *Aspergillus* a *Kluyveromyces*. [57]

Odhaduje se, že přibližně 75 % světové populace trpí nedostatkem enzymu β -galaktosidázy ve svém organismu, proto vzrostl v nedávných letech zájem o delaktózované mléčné výrobky a v dnešní době se již běžně vyskytují na trhu [58]. Dekker, Koenders a Bruins [59] dokonce uvádějí, že trh s bezlaktózovými mléčnými výrobky je nejrychleji rostoucím trhem v rámci mlékárenského průmyslu. Nicméně náklady na jejich výrobu znatelně převyšují náklady na výroby konvenčních mléčných výrobků. V tomto ohledu se o termofilních enzýmech neboli termozýmech hovoří jako o vhodné alternativě pro snížení výrobních nákladů. [60] Výhody využití termofilní β -galaktosidázy v rámci delaktózačního procesu v porovnání s mezofilními enzymy již byly popsány. Jedná se o zvýšení stability biokatalyzátorů, snížení mikrobiální kontaminace během samotného procesu, vyšší rozpustnost substrátu a rychlost reakce při vyšších teplotách. [60]

Mnozí výrobci mléčných výrobků využívají v rámci své výroby probiotické mikroorganismy, přičemž je jejich funkce popsána blíže v kapitole 2.3.3 této bakalářské práce. Pro zlepšení aktivity probiotik a zvýšení trávení vlákniny se při výrobě konvenčních mléčných výrobků s obsahem laktózy začaly využívat i prebiotika, například u řeckého jogurtu, syrovátkových nápojů, jogurtu, našlehaných mléčných výrobků nebo fermentovaného mléka. [58] Prebiotika jsou definována jako nestrávitelná složka potravin, velmi často nestrávitelné oligosacharidy, které jsou jako substrát selektivně využívány probiotickými mikroorganismy. [5] Vzájemný vztah mezi probiotiky a prebiotiky je prozatím velmi slabě prozkoumán. Cílem výše uvedeného výzkumu bylo zhodnocení fyzikálně-chemických, mikrobiologických a organoleptických vlastností bezlaktózového fermentovaného mléka s přidanými probiotickými mikroorganismy *Lactobacillus acidophilus* LA-5 a *Bifidobacterium lactis* BB-12 a prebiotikem ve formě inulinu. [58] Autoři výzkumu si nejdříve připravili vzorky bezlaktózového probiotického fermentovaného mléka, přičemž polovinu z nich následně obohatili inulinem. Vzorky bez přidaného inulinu se v hodnotě pH nijak nelišily od konvenčních mléčných výrobků a obsah laktózy se pohyboval pod 0,1 %. Naopak vzorky s inulinem vykazovaly vyšší hodnoty pH. Co se týče sensorického hodnocení, většina hodnotitelů ohodnotila parametry jako vzhled, aroma, chuť a textura stejným počtem bodů u obou skupin vzorků. Nicméně vzorky bez inulinu obdržely vyšší průměrné ohodnocení v kategorii vzhledu a textury. Na základě těchto výsledků spatřují autoři výzkumu v bezlaktózových výrobcích se současným obsahem probiotik a prebiotik velký potenciál pro mlékárenský trh. [58]

3.3 Rostlinné alternativy mléčných výrobků

OSN uvádí, že světová populace vzroste až o jednu miliardu lidí v příštích třinácti letech, a v roce 2050 dosáhne až 9,8 miliardy lidí. [60] Dle FAO povede rostoucí světová poptávka po potravinách k růstu světové produkce potravin do roku 2050. [62]

Stejně jako se vyvíjí společnost, vyvíjí se s ní v průběhu času i struktura výživy a stravy. FAO [63] přinesla v roce 2017 velice zásadní informaci. Za posledních 50 let se zvýšil denní příjem bílkovin v zemích s vyspělou ekonomikou, pocházejících především z masných, vaječných a mléčných výrobků. Růst denního příjmu se za roky 1961 až 2011 odhaduje na 39 až 52 g na osobu. Na druhou stranu FAO odhaduje, že od roku 2030 do roku 2050 vzroste denní příjem bílkovin až na 54 až 57 g na osobu.

Stejně jako se v minulosti stala ochrana přírody a životního prostředí následovaná inklinací k udržitelným zdrojům energie stala zásadním společenským tématem, stejně tak se v posledních letech společnost stále více zabývá hledáním alternativních, udržitelných zdrojů potravy. V tomto ohledu se mimo jiné stávají trendem například rostlinné alternativy mléčných výrobků, tzv. „dairy-free“ alternativy nebo produkty. Evropská komise uvádí, že spotřeba rostlinných bílkovin v Evropě má rostoucí tendenci, a to ročně o 14 % u rostlinných alternativ masných výrobků a o 11 % u rostlinných alternativ mléčných výrobků. [64]

Rostlinné materiály, z kterých se vyrábějí rostlinné alternativy mnohých konvenčních potravin, lze rozdělit do pěti základních skupin [65; 66]:

- obiloviny (oves, rýže, kukuřice, špalda, žito)
- luštěniny (sója, arašíd, lupina, vlna, hrách)
- skořápkové plody (mandle, kokosový ořech, lískový ořech, pistácie, vlašský ořech)
- olejnatá semena (sezam, len, konopné semínko, slunečnice, dýňové semínko)
- pseudoobiloviny (quinoa, teff, amarant)

Z rostlinných materiálů lze vyrobit široké portfolio alternativních nemléčných výrobků, od náhražek mléka až po jogurty nebo sýry.

Rostlinné nápoje představují tekuté výrobky, které jsou primárně založeny na extrakci složek z rostlinných materiálů a které se vyrábějí prostřednictvím macerace, mletí a filtrace. Z nutričního hlediska nelze rostlinné nápoje srovnávat s kravským mlékem, přesto mají oproti kravskému mléku několik předností. Rostlinné alternativy neobsahují laktózu, ani cholesterol, a obvykle obsahují přidaný vápník a vitaminy, především B12. Zatímco například rýžové a sezamové alternativy mléka obsahují mezi rostlinnými alternativami nejvíc sacharidů (> 15 %), naopak quinoa a sójové alternativy mléka obsahují nejvíce bílkovin (> 4 %). [66]

Na světovém trhu existuje široká škála rostlinných nápojů, mezi kterými lze jmenovat například horchata, španělský nápoj z plodů Šáchoru jedlého, sikhye, korejský nápoj vyrobený z vařené rýže, sladového extraktu a cukru, boza, nápoj z pšenice, žita, prosa a kukuřice konzumovaný v Bulharsku, Albánii, Turecku a Rumunsku, bushera, ugandský nápoj z čirokového nebo prosného sladu či čínské sójové nápoje. [67]

Rostlinné nápoje jsou bohaté na různé bioaktivní složky. Munekata a kol. [66] shrnují tyto bioaktivní složky dle dostupných zdrojů do následujícího přehledu:

- β -glukany, které regulují hladinu glukózy v krvi a regulují inzulinovou rezistenci
- fytoosteroly, které zlepšují funkci kardiovaskulárního systému a snižují rizika souvisejících onemocnění
- isoflavony, které snižují rizika vzniku onemocnění kardiovaskulárního systému, rakoviny a osteoporózy
- lignany, které snižují hladinu cholesterolu v krvi
- omega-3 mastné kyseliny, které taktéž snižují rizika vzniku onemocnění kardiovaskulárního systému

Rostlinné nápoje obvykle před plněním do obalu procházejí UHT ošetřením, aby se zajistila kvalita a bezpečnost výrobků během skladování. Konvenční ošetření vysokou teplotou však může způsobit nežádoucí rozklad termolabilních složek a změnu fyzikálně-chemických vlastností výrobku. [66] Proto se nabízí využití alternativních technologií jako vysokotlaká homogenizace, ultrazvuk nebo pulzní elektrická pole, která mají minimalizovat tento nežádoucí jev. [65]

Jogurtové alternativy na rostlinné bázi se obecně vyrábějí prostřednictvím fermentace vodných roztoků získaných z různých rostlinných materiálů (např. luštěniny, olejnatá semena, obiloviny nebo pseudoobiloviny), které se následně zhomogenizují, čímž se dosáhne velikosti obsažených částic mezi 5 až 20 μm . Alternativní rostlinné výrobky takto získají vzhled a konzistenci srovnatelnou s konvenčními mléčnými výrobky. [65]

V únoru 2020 zveřejnil výzkumný tým z univerzity v Corku, v Irsku [68] výsledky své studie zaměřené na fyzikálně-chemické, organoleptické a jakostní charakteristiky rostlinných alternativ jogurtů vyrobených ze sóji, kokosového ořechu, kešu, mandlí a konopného semínka. Sójová, kokosová a kešu alternativa vykazovala texturní vlastnosti srovnatelné s konvenčním jogurtem, alternativa z konopného semínka vykazovala odlišné reologické a texturní vlastnosti ve srovnání s konvenčním jogurtem, což je připisováno obsahu agaru a rýžového škrobu. Sensorická analýza ukázala, že některé jogurtové alternativy vykazovaly velmi podobné organoleptické vlastnosti jako konvenční jogurty, nicméně toho bylo dosaženo především přidáním sladidel a aromat.

3.4 Charakteristika nových potravin

Problematiku nových potravin (dříve také potraviny nového typu) upravuje nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 2015/2283, které vstoupilo v platnost 1. ledna 2018. [69]

Nové potraviny nařízení definuje jako jakékoliv potraviny, které se ve významné míře nepoužívaly k lidské spotřebě v Evropské unii před 15. květnem 1997, bez ohledu na den přistoupení členských států k Unii, a které spadají alespoň do jedné z níže uvedených kategorií: [70]

- potraviny s novou nebo záměrně modifikovanou molekulární strukturou,
- potraviny sestávající, izolované nebo vyrobené z mikroorganismů, hub nebo řas,
- potraviny sestávající, izolované nebo vyrobené z látek minerálního původu,
- potraviny sestávající, izolované nebo vyrobené z rostlin nebo jejich částí,
- potraviny, které sestávají z těl živočichů nebo jejich částí,
- potraviny sestávající, izolované nebo vyrobené z buněčné nebo tkáňové kultury získané ze zvířat, rostlin, mikroorganismů, hub či řas,
- potraviny získávané za použití inovativního výrobního postupu, který způsobuje významné změny složení nebo struktury potraviny, jež mají vliv na její výživovou hodnotu, metabolizaci nebo množství nežádoucích látek,
- potraviny, které obsahují umělé nanomateriály,
- vitaminy, minerální látky a jiné látky používané v souladu se směrnicí 2002/46/ES, nařízením (ES) č. 1925/2006 nebo nařízením (EU) č. 609/2013,
- potraviny používané výlučně jako doplňky stravy, pokud jsou určeny k použití v jiných potravinách, než jsou doplňky stravy podle definice v čl. 2 písm. A) směrnice 2002/46/ES.

Prováděcím nařízením Komise (EU) č. 2017/2470 zřídila Evropská unie seznam Unie, který obsahuje všechny nové potraviny schválené dle výše uvedeného nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 2015/2283 o nových potravinách. Pro každou položku seznamu jsou definovány podmínky použití, požadavky na označování a její specifikace. [71]

3.4.1 Využití mikrobiálních kultur při výrobě nových potravin

Jediným fermentovaným výrobkem, který lze dnes dle seznamu Unie považovat za novou potravinu, jsou tepelně ošetřené mléčné výrobky fermentované *Bacteroides xylanisolvens*. Kategorie potravin je dle seznamu Unie specifikována jako fermentované mléčné výrobky v tekuté a polotekuté formě a ve formě sprejově sušeného prášku. [71]

Uvedené fermentované mléčné výrobky jsou dále seznamem Unie specifikovány jako tepelně ošetřené výrobky, které se vyrábí s využitím *Bacteroides xylanisolvens* (DSM 23964) jako startovací kultury. Polotučné mléko (1,5 % až 1,8 % tuku) nebo odstředěné mléko (0,5 % tuku nebo méně) je pasterizováno nebo ošetřeno ultravysokou teplotou před zahájením fermentace *Bacteroides xylanisolvens* (DSM 23964). Výsledný fermentovaný mléčný výrobek je homogenizován a poté podroben tepelnému ošetření za účelem inaktivace *Bacteroides xylanisolvens* (DSM 23964). Konečný výrobek neobsahuje životaschopné buňky *Bacteroides xylanisolvens* (DSM 23964). [71]

Unikem na schválení použití *Bacteroides xylanisolvens* pro výrobu nové potravin je skutečnost, že nový kmen *Bacteroides DSM 23964*, ani žádné jiné kmeny *Bacteroides* nikdy nebyly v minulosti použity pro potravinářské účely. [72]

Rod *Bacteroides* představuje druhý nejčastěji se vyskytující mikroorganismus v lidské střevní mikroflóře. Předpokládalo se, že tento rod může vykazovat mnoho metabolických a imunomodulárních aktivit, které by mohly být prospěšné pro lidské tělo. V německém Hamburku ve Farmakologické laboratoři byla provedena studie, při které byl izolován právě nový kmen *Bacteroides* (DSM 23964), a to z exkrementů zdravých lidí. Tento kmen patří k nepatogennímu druhu *Bacteroides xylanisolvens*. Kmen *Bacteroides* (DSM 23964) je rezistentní vůči aktivitě enzymů gastraintestinálních šťáv, je citlivý vůči antibiotikům a nevykazuje žádnou virulentní aktivitu popisovanou u rodu *Bacteroides*. Tyto výsledky nakonec vedly k vývoji prvního přirozeného probiotického kmenu z rodu *Bacteroides*. [73]

ZÁVĚR

Práce se zabývá využitím mikroorganismů v potravinářském průmyslu, které v něm mají mimořádný význam. Mezi mikroorganismy používané při výrobě potravin se řadí bakterie, kvasinky a plísně.

Mikroorganismy se při výrobě potravin používají ve formě startérových kultur, jejichž přidáním během výrobního procesu dochází k iniciaci fermentace. Nejdůležitější a nejrozšířenější skupinou bakterií používaných jako starterové mikroorganismy jsou bakterie mléčného kvašení. Bakterie mléčného kvašení zkvašují sacharidy obsažené v surovinách a přetvářejí je na různé druhy metabolitů. Bakterie mléčného kvašení jsou převážně využívány v mlékárenském průmyslu, nicméně nacházejí uplatnění i při výrobě pečiva či masných výrobků. Kvasinkové starterové kultury jsou naopak v největším měřítku využívány v pekárenství, dále nacházejí uplatnění při výrobě piva, vína a lihovin. Plísně starterové kultury jsou využívány pro výrobu relativně malého množství výrobků v porovnání s bakteriálními či kvasinkovými kulturami. Jedná se především o různé druhy sýrů. Další využití nacházejí plísně starterové kultury například při výrobě asijských výrobků jako tempeh, miso a sójové omáčky, při výrobě italských salámů. Velikou zvláštností ve využití plísně je její aplikace při výrobě finského zakysaného mléčného výrobku viili.

Čisté mlékařské kultury plní ve výrobcích několik funkcí. Tou nejpodstatnější je funkce technologická. Bez činnosti mikroorganismů čistých mlékařských kultur by totiž nebylo vůbec možné dosáhnout žádoucího procesu fermentace a vyrábět tak jakékoliv fermentované potraviny. Bakterie mléčného kvašení plní v potravinách také ochrannou funkci, jejíž podstatou je inhibice růstu nežádoucích mikroorganismů. Významnou funkcí bakterií mléčného kvašení je i zdravotní funkce, včetně funkce probiotické. Podstatou zdravotní funkce bakterií mléčného kvašení je jejich tvorba exopolysacharidů.

Poslední část práce popisuje trendy využití kultur při výrobě mléčných výrobků. Trend lze spatřit ve výrobě probiotických mléčných výrobků, mléčných výrobků Viili, Skyr, koncentrovaných mléčných výrobků nebo delaktózovaných mléčných výrobků. Zatímco Viili představuje zatím spíše jen finskou specialitu, islandský Skyr naopak v posledních letech postupně dobývá zahraniční trh mléčných výrobků, český trh nevyjímaje. Koncentrované mléčné výrobky a delaktózované mléčné výrobky nacházejí uplatnění na trhu mléčných výrobků po celém světě. Vedle mléčných výrobků se ovšem rychle rostoucím segmentem stávají v posledních letech rostlinné alternativy mléčných výrobků, které nabízí hned několik

benefitů najednou, a to především pro spotřebitele zaměřené na veganskou stravu, trpící intolerancí laktózy nebo vyznávající alternativní způsoby stravování v souvislosti se zdravým životním stylem. Nakonec je věnována pozornost problematice nových potravin ve smyslu nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 2015/2283 a kulturám používaným při jejich výrobě.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. vydání. Praha: Academia, 2002, ISBN 80-200-1024-6.
- [2] BYLUND, G. *Dairy Processing Handbook*. Lund, Sweden: Tetra Pak Processing Systems AB, 1995, 442 s. ISBN 9789163134272.
- [3] BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J. *lékařská mikrobiologie*. Praha: Marvil, 1999.
- [4] HUTKINS, ROBERT W. *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional, 2006. ISBN 978-0-8138-0018-9.
- [5] DOYLE, M. P., BEUCHAT, L. R. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Georgia, USA: Center for Food Safety, The University of Georgia. Washington, USA: ASM Press, 2007. ISBN 978-1-55581-407-6.
- [6] PLOCKOVÁ, M.: Zákysové kultury a způsoby jejich aplikace. In KADLEC, P., et al. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. 2012. 1. vyd. Ostrava: Key Publishing, 569 s. ISBN 978-80-7418-145-0.
- [7] YANG, S.-C-, LIN, C.-H.T. SUNG, C., FANG, J.-Y. Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. In *frontiers in Microbiology*, 10.3389/fmicb.2014.00241. Databáze online [citováno 2020-04-11]. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4033612/>.
- [8] O tvarůžkách. *Olomoucké tvarůžky* [online]. [cit. 2020-04-09]. Dostupné z: <https://www.tvaruzky.cz/o-tvaruzkach>.
- [9] SANTER, M. *Joseph Lister: first use of a bacterium as a „model organism“ to illustrate the cause of infectious disease of humans*. 2009. Databáze online [citováno 2019-05-04]. Dostupné na: <https://royalsociety-publishing.org/doi/full/10.1098/rsnr.2009.0029>.
- [10] GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství II*. 2000. Dotisk. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. ISBN 80-7157-342-6.
- [11] KNĚZ, V., MAŠEK, J., MAXA, V., TEPLÝ, M., VEDLICH, M. *Čisté mlékařské kultury a jejich použití v mlékárenském průmyslu*. 1960. 2. přepracované vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury.
- [12] ŽIŽKA, B., MARTINKOVÁ, Z. *Mikrobiologie pro 4. ročník SPŠ mlékárenské*. 1980. 1. vyd. Praha: SNTL – Nakladatelství technické literatury. ISBN 04-802-80.

- [13] TEPLÝ, M. a kol. *ČMK – Výroba, kontrola použití*. 1984. 1. vyd. Praha: SNTL – Nakladatelství technické literatury.
- [14] GÖRNER, F., VALÍK, L. *Aplikovaná mikrobiologie požívatin*. 2004. Bratislava: Malé centrum. ISBN 80-967064-9-7.
- [15] SETTANNI, L., CORSETTI, A. Application of bacteriocins in vegetable food bio-preservation. In *International Journal of Food Microbiology*, 121(2): 123-38. Databáze online [citováno 2020-04-11]. Dostupné na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160507004941?via%3Dihub>.
- [16] LILLY, D. M., STILLWELL, R. H. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. In *Science*, 1965, 147 (3659): 747-8. Databáze online [citováno 2020-05-05]. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14242024>.
- [17] HILL, C., GUARNER, F., REID, G., GIBSON, G. R., MERENSTEIN, D. J., POT, B., MORELLI, L., CANANI, R. B., FLINT, H. J., SALMINEN, S., CALDER, P. C., SANDERS, M. E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. In *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 11, 506 – 514. 2014. Databáze online [citováno 2019-05-08]. Dostupné na: <https://www.nature.com/articles/nrgastro.2014.66>.
- [18] HORÁČKOVÁ, Š., ŠVIRÁKOVÁ, E. *Probiotické mikroorganismy v mlékařenském průmyslu*. In *Mlékařské listy* č. 113/114. 2009. Praha: Ústav technologie mléka a tuků, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Databáze online [citováno 2019-05-05]. Dostupné na: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2009/113;114_s._12-14.pdf.
- [19] FULLER, R. Probiotics in man and animals. In *Journal of Applied Bacteriology*, 1989, 66, 365 – 378. Databáze online [citováno 2020-04-11]. Dostupné na: <http://www.performanceprobiotics.com/Downloads/Articles/Fuller%201989%20Probiotics%20in%20man%20and%20animals.pdf>.
- [20] TANG, CH., LU, Z. Health promoting activities of probiotics. In *Journal of Food Biochemistry*, 10.1111/jfbc.12944. Databáze online [citováno 2020-05-02]. Dostupné na: <https://onlinelibrary-wiley-com.proxy.k.utb.cz/doi/epdf/10.1111/jfbc.12944>.

- [21] CLEUSIX, V., LACROIX, CH., VOLLENWEIDER, S., DUBOUX, M., LE BLAY, G. Inhibitory activity spectrum of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* against intestinal bacteria. In *BMC Microbiology* 2007, 7:101. Databáze online [citováno 2020-05-02]. Dostupné na: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1471-2180-7-101>.
- [22] URRUTIA-BACA, V. H., ESCAMILLA-GARCÍA, E., DE LA GARZA-RAMOS, M. A., TAMEZ-GUERRA, P., GOMEZ-FLORES, R., URBINA-RÍOS, C. S. In Vitro Antimicrobial Activity and Downregulation of Virulence Gene Expression on *Helicobacter pylori* by Reuterin. In *Probiotics and Antimicrobial Proteins* 10, 168-175 (2018). Databáze online [citováno 2020-05-02]. Dostupné na: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12602-017-9342-2>.
- [23] HARUTOSHI T. *Exopolysaccharides of Lactic Acid Bacteria for Food and Colon Health Applications*. 2013. InTech. Databáze online [citováno 2019-05-08]. Dostupné na: <https://www.intechopen.com/books/lactic-acid-bacteria-r-d-for-food-health-and-livestock-purposes/exopolysaccharides-of-lactic-acid-bacteria-for-food-and-colon-health-applications>.
- [24] FEDOROVÁ, M., PROKEŠ, M., PISTL, J., NEMCOVÁ, R. Exopolysacharidy ako významné produkty probiotík. In *Chemické Listy* 112, 770 – 776. 2018. Košice: Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie, Katedra epizootológie a parazitológie, Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. Databáze online [citováno 2019-05-08]. Dostupné na: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/3215/3189>.
- [25] RABINOWITZ, J. D., WHITE, E. Autophagy and Metabolism. In *Science*, 330(6009): 1344-1348. Databáze online [citováno 2020-04-10]. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3010857/>.
- [26] HUI, Y. H. *Handbook of Food Products Manufacturing I*. 2007. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. ISBN 978-0-470-12524-3.
- [27] TAMIME, A. Y., HICKEY, M., MUIR, D. D. Strained fermented milks – A review of existing legislative provisions, survey of nutritional labelling of commercial products in selected markets and terminology of products in some selected countries.

- In *International Journal of Dairy Technology*, 10.1111/1471-0307.12147. Databáze online [citováno 2020-04-23]. Dostupné na: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1471-0307.12147>.
- [28] *Arla A38®*. Arla [online]. Viby J, Dánsko: Arla Foods. Poslední aktualizace 2020 [citováno 2020-04-24]. Dostupné na: <https://www.arla.dk/produkter/arla-a38/okolyette-15pct-15pct-1000g-85789/>.
- [29] MARTH, E. H., STEELE, J. L. *Applied dairy microbiology*. 2001. New York: Marcel Dekker, Inc. ISBN 0-8247-0536-X.
- [30] *Historien om A38®*. [online] Dánsko: Arla Foods. Poslední aktualizace 2020 [citováno 2020-05-05]. Dostupné na: <https://www.arla.dk/produkter/arla-a38/historien-om-a38/>.
- [31] *So Long Scandie #2 – Danish Cultured Milk*. [online] [citováno 2020-05-05]. Dostupné na: <https://poorskinnychef.wordpress.com/tag/dairy/>.
- [32] LUO, CH., DENG, S. Viili as Fermented Food in Health and Disease Prevention: A Review Study. In *Journal of Agricultural Science and Food Technology*, 2 (2016): 105 – 113. Databáze online [citováno 2020-04-22]. Dostupné na: https://www.researchgate.net/publication/307475948_Viili_as_Fermented_Food_in_Health_and_Disease_Prevention_A_Review_Study.
- [33] LEPORANTA, K. Viili and Långfil – exotic fermented products from Scandinavia. In *Valio Foods & Functionals*, 2 (2003): 3 – 5. Databáze online [citováno 2020-04-22]. Dostupné na: https://www.researchgate.net/publication/292421524_Viili_and_Langfil_-_Exotic_fermented_products_from_Scandinavia.
- [34] LAW, B. A. *Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk*. 1997. 2. vyd. Londýn: Blackie Academic & Professional. ISBN 978-1-4612-8427-7.
- [35] MISTRY, V. V. Fermented liquid milk products. In *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*. 2004. New York: Macerl Dekker, Inc. ISBN 0-8247-4780-1.
- [36] BOUTROU, R., GUÉGUEN, M. Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology. In *International Journal of Food Microbiology*, 102 (2005), 1 – 20. Databáze online [citováno 2020-04-22]. Dostupné na: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0168160505000413?via%3Dihub>.

- [37] KITAZAWA, H., TOBA, T., ITOH, T., KUMANO, N., ADACHI, S., YAMAGUCHI, T. Antitumoral activity of slime-forming, encapsulated *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris* isolated from Scandinavian ropy sour milk viili. In *Animal Science and Technology*, 62 (1990: 277-283. Databáze online [citováno 2020-04-22]. Dostupné na: https://www.jstage.jst.go.jp/article/chikusan1924/62/3/62_3_277/_pdf.
- [38] KITAZAWA, H., YAMAGUCHI, T., MIURA, M., SAITO, T., ITOH, T. B-cell mitogen produced by slime-forming encapsulated *Lactococcus lactis* sp. *cremoris* isolated from ropy sour milk, viili. In *Journal of Dairy Science*, 76 (1993): 1514-1519. Databáze online [citováno 2020-04-22]. Dostupné na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030293774834>.
- [39] *What is Skyr*. Icelandic Provisions [online]. Island: Icelandic Provisions. Poslední aktualizace 2020 [citováno 2020-04-29]. Dostupné na: <https://www.icelandicprovisions.com/what-is-skyr/>.
- [40] *Ísey Skyr*. [online]. Island: MS Iceland Dayiries. Poslední aktualizace 2020 [citováno 2020-04-29]. Dostupné na: <https://www.iseyskyr.com/>.
- [41] *Fyrirtækið*. MS [online]. Island: Mjólkursamsalan ehf. Poslední aktualizace 2018 [citováno 2020-04-29]. Dostupné na: <https://www.ms.is/um-ms/uppruninn/fyrirtaekid>.
- [42] *Ísey Skyr, Recipes*. [online]. Island: MS Iceland Dayiries. Poslední aktualizace 2020 [citováno 2020-04-29]. Dostupné na: <https://www.iseyskyr.com/recipes>.
- [43] *Ísey Skyr Bar*. [online]. Island: Ísey Skyr Bar Iceland. Poslední aktualizace neznámá [citováno 2020-04-29]. Dostupné na: <https://iseyskyrbar.is/news/>.
- [44] Vyhláška č. 397/2016 ze dne 2. prosince 2016, o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje.
- [45] *Fage UK Ltd & Anor v Chobani UK Ltd & Anor [2013] EWHC 630 (Ch)*. [online]. Británie: British and Irish Legal Information Institute. Poslední aktualizace 2020 [citováno 2020-04-29]. Dostupné na: <http://www.bailii.org/ew/cases/EWHC/Ch/2013/630.html>.
- [46] Vyhláška č. 274/2019 ze dne 25. října 2019, kterou se mění vyhláška č. 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje.

- [47] *Řecký jogurt*. Milko [online]. Česká republika: Polabské mlékárny, a.s. Poslední aktualizace 2020 [citováno 2020-04-29]. Dostupné na: <https://www.polabske.cz/recky-jogurt-bily-0/>.
- [48] *Řecké jogurty*. [online]. Česká republika: Bohušovická mlékárna, a.s. Poslední aktualizace neznámá [citováno 2020-04-29]. Dostupné na: <https://www.bohusovicka-mlekarna.cz/produkty/recke-jogurty/>.
- [49] *Jogurty – bílý jogurt řeckého typu*. [online]. Česká republika: Bohemilk, a.s. Poslední aktualizace 2020 [citováno 2020-04-29]. Dostupné na: <https://www.bohemilk.cz/jogurty/jogurt-reckeho-typu>.
- [50] *Athentikos*. [online]. Česká republika: Mlékárna Kunín a.s. Poslední aktualizace 2020 [citováno 2020-04-29]. Dostupné na: <https://www.mlekarna-kunin.cz/vyroby/jogurt/index.html#athentikos>.
- [51] FREEMAN, J. M., KOSSOFF, E. H., HARTMAN, A. L. The Ketogenic Diet: One Decade Later. In *Pediatrics* 2007, 10.1542/peds.2006-2447. Databáze online [citováno 2020-05-01]. Dostupné na: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-ketogenic-diet%3A-one-decade-later.-Freeman-Kossoff/e729ed649950acb845e9980f2da64b8390293f4d>.
- [52] TAYLOR, M. K., SWERDLOW, R. H., BURNS, J. M., SULLIVAN, D. K. An Experimental Ketogenic Diet for Alzheimer Disease Was Nutritionally Dense and Rich in Vegetables and Avocado. In *Food Composition, Nutritional Value, and Toxicology*, 2019. Databáze online [citováno 2020-05-02]. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov.proxy.k.utb.cz/pmc/articles/PMC6435445/pdf/nzz003.pdf>.
- [53] HÖHN, S., DOZIÈRES-PUYRAVEL, B., AUVIN, S. History of dietary treatment from Wilder's hypothesis to the first open studies in the 1920s. In *Epilepsy & Behavior*, 2019, Volume 101, Part A, 106588. Databáze online [citováno 2020-05-01]. Dostupné na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S152550501930914X>.
- [54] LAFFEL, L. Ketone Bodies: a Review of Physiology, Pathophysiology and Application of Monitoring to Diabetes. In *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 1999, 15, 412 – 426. Databáze online [citováno 2020-05-02]. Dostupné na: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/%28SICI%291520-7560%28199911/12%2915%3A6%3C412%3A%3AAID-DMRR72%3E3.0.CO%3B2-8>.

- [55] WILEY, A. S. Lactose intolerance. In *Evolution, Medicine, and Public Health*, 2020, pp. 47 – 48. Databáze online [citováno 2020-04-13]. Dostupné na: https://apps- webofknowledge-com.proxy.k.utb.cz/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=37&SID=F1r6X1gvTNQnrzzf7OU&page=1&doc=6.
- [56] VERA, C., GUERRERO, C., ABURTO, C., CORDOVA, A., ILLANES, A. Conventional and non-conventional applications of β -galactosidases. In *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*, 2020, Volume 1868, Issue 1, 140271. Databáze online [citováno 2020-04-13]. Dostupné na: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S1570963919301578?via%3Dihub>.
- [57] OLIVEIRA, C., GUIMARÃES, M. R., DOMINGUES, L. Recombinant microbial systems for improved β -galactosidase production and biotechnological applications. In *Biotechnology Advances* 29 (2011): 600 – 609. Databáze online [citováno 2020-05-04]. Dostupné na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975011000437>.
- [58] PEREIRA, J. A., PINTO, S. S., DIAS, C. O., VIEIRA, M. P. T., RIBEIRO, D. H. B., AMBONI, R. D. M. C., FRITZEN-FREIRE, C. B. Potentially symbiotic fermented milk: A preliminary approach using lactose-free milk. In *LWT – Food Science and Technology* 118 (2020) 108847. Databáze online [citováno 2020-05-04]. Dostupné na: <https://www-sciencedirect-com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0023643819311892?via%3Dihub>.
- [59] DEKKER, P. J. T., KOENDERS, D., BRUINS, M. J. Lactose-Free Dairy Products: Market Developments, Production, Nutrition and Health Benefits. In *Nutrients* 2019, 11 (3), 551. Databáze online [citováno 2020-05-04]. Dostupné na: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/3/551>.
- [60] IONATA, E., MARCOLONGO, L., LA CARA, F., CENTRANGOLO, G. P., FEBBRAIO, F. Improvement of functional properties of a thermostable β -glycosidase for milk lactose hydrolysis. In *Biopolymers*, 2018, 10.1002/bip.23118. Databáze online [citováno 2020-05-04]. Dostupné na: <https://onlinelibrary-wiley-com.proxy.k.utb.cz/doi/epdf/10.1002/bip.23118>.

- [61] Department of Economic and Social Affairs-Population Division. United Nations. *World Population Prospects: The 2017 Revision. Key Findings and Advance Tables*; United Nations: New York, USA, 2017.
- [62] Food and Agriculture Organization. *Global Agriculture Towards 2050 – High Level Expert Forum – How to Feed the World in 2050*; FAO: Řím, Itálie, 2009.
- [63] Food and Agriculture Organization. *The Future of Food and Agriculture – Trends and Challenges*; FAO: Řím, Itálie, 2017.
- [64] European Commission. *Report from the Commission to the Council and the European Parliament on the Development of Plant Proteins in the European Union*; European Commission; Brussel, Belgie, 2018.
- [65] SETHI, S., TYAGI, S. K., ANURAG, R. K. Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. In *Journal of Food Science and Technology*, 2016, 53 (9): 3408-3423. Databáze online [citováno 2020-05-07]. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5069255/>.
- [66] MUNEKATA, P. E. S., DOMÍNGUEZ, R., BUDARAJU, S., ROSELLÓ-SOTO, E., BARBA, F. J., MALLIKARJUNAN, K., ROOHINEJAD, S., LORENZO, J. M. Effect of Innovative Food Processing Technologies on the Physicochemical and Nutritional Properties and Quality of Non-Dairy Plant-Based Beverages. In *Foods*, březen 2020, vol. 9, issue 3, 10.3390/foods9030288. Databáze online [citováno 2020-05-09]. Dostupné na: http://apps.webofknowledge.com.proxy.k.utb.cz/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=8&SID=E4w2onmUkayAYzVH yas&page=1&doc=8.
- [67] MÄKINEN, O., ZANNINI, E., WANHALINNA, V., ARENDT, E. K. Foods for Special Dietary Needs: Non-Dairy Plant Based Milk Substitutes and Fermented Dairy Type Products. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2016, 56 (3): 339-49. Databáze online [citováno 2020-05-10]. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25575046>.
- [68] GRASSO, N., ALONSO-MIRAVALLÉS, L., O'MAHONY, J. A. Composition, Physicochemical and Sensorial Properties of Commercial Plant-Based Yogurts. In *Foods* 2020, 9(39), 252. Databáze online [citováno 2020-05-10]. Dostupné na: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/3/252>.

- [69] *Nové potraviny*. eAGRI [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství. Poslední aktualizace 04.04.2018 [cit. 07.05.2019]. Dostupné na: <http://eagri.cz/public/web/mze/potraviny/aktualni-temata/potraviny-noveho-typu/>.
- [70] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2015/2283 ze dne 25. listopadu 2015, o nových potravinách, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1169/2011 a o zrušení nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 258/97 a nařízení Komise (ES) č. 1852/2001.
- [71] Prováděcí nařízení Komise (EU) 2017/2470 ze dne 20. prosince 2017, kterým se zřizuje seznam Unie pro nové potraviny.
- [72] EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). *Scientific Opinion on the safety of „heat-treated milk products fermented with Bacteroides xylo-*nisolvens* DSM 23964“ as a novel food*. European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. Databáze online [citováno 2020-04-10]. Dostupné na: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2015.3956>.
- [73] ULSEMER, P., TOUTOUNIAN, K., SCHMIDT, J., LEUSCHNER, J., KARSTEN, U., GOLETZ, S. Safety assessment of the commensal strain *Bacteroides xylo-*nisolvens* DSM 23964*. In *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2011. Berlín: Glycotope GmbH. Hamburk: LPT Laboratory of Pharmacology and Toxicology, GmbH & Co. KG. Databáze online [citováno 2019-05-08]. Dostupné na: <https://pdf.sciencedirectassets.com>.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BMK	bakterie mléčného kvašení
CCP	critical control point – kritický kontrolní bod
ČOV	čistírna odpadních vod
EPS	exopolysacharidy
c-EPS	exopolysacharidy vázané ke stěně buňky
r-EPS	exopolysacharidy vylučované do prostředí
OSN	Organizace spojených národů
FAO	Organizace pro výživu a zemědělství (Food and Agriculture Organization)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Embden-Meyerhof-Parnasova dráha používaná homofermentativními BMK, přeloženo dle [4].....	19
Obrázek 2: Fosfoketolázová dráha používaná heterofermentativními BMK, přeloženo dle [4]	20
Obrázek 3: Fotografie mléčného výrobku Ymer	30
Obrázek 4: Sestavení výrobního diagramu pro výrobu jogurtu ochuceného a jogurtu ochuceného s bifidokulturou. ČMK jsou přidávány v hlubokomražené podobě přímo do pasterovaného mléka. CCP – kontrolní kritický bod, ČOV – čistička odpadních vod.	36

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Přehled bakterií používaných ve startovacích kulturách, přeloženo dle [4]	17
Tabulka 2: Vybrané plísně a kvasinky používané ve startovacích kulturách, přeloženo z [4].....	22
Tabulka 3: Produkce r-EPS a c-EPS u některých probiotických kmenů [4]	26
Tabulka 4: Přehled koncentrovaných mléčných výrobků; převzato z [38]	28