

Mikrobiologická kvalita sušených pekařských směsí

Bc. Blanka Gondová

Diplomová práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav biochemie a analýzy potravin
akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Bc. Blanka GONDOVÁ
Osobní číslo: T08792
Studijní program: N 2901 Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin
Téma práce: Mikrobiologická kvalita sušených pekařských směsí

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Technologie výroby pekařských směsí.
2. Sušené pekařské směsi a jejich udržitelnost.
3. Indikátorové mikroorganismy jako ukazatel kvality potravin.

II. Praktická část

1. Mikrobiologické vyšetření kvality sušených pekařských směsí.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

- [1] CAUVAIN, S. and YOUNG, L. Baking problems solved, Woodhead 2001.
- [2] BURDYCHOVÁ, R. a SLÁDKOVÁ, P. Mikrobiologická analýza potravin, MZLU v Brně, Brno 2007.
- [3] ŠILHÁNKOVÁ, L. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology, SEFIRA, Praha 2002.
- [4] RŮŽIČKA, J. Mikrobiologie pro technology životního prostředí, FT ve Zlíně, Zlín 1999.
- [5] HRABĚ, J. NOVOTNÝ, R. BUDÍNSKÝ, P. KLUSÁČEK, L. KOMÁR, A. GROSSMAN, M. NAVRÁTIL, O. KOBLIHA, Z. HALÁMEK, E. SKALIČAN, Z. PITSCHMANN, V. SKALIČAN, Z. KADLČÁK, J. HOZA, I. URBANOVÁ, R. Sborník VVŠ PV, VědSk, Vyškov 2001.
- [6] DODOK, L. Chémia a technológia trvanlivého pečiva, ALFA, Bratislava 1988.

Vedoucí diplomové práce:

MVDr. Ivan Holko, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

4. ledna 2010

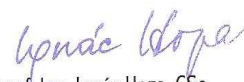
Termín odevzdání diplomové práce:

19. května 2010

Ve Zlíně dne 8. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 12.5.2010

Gondová

Bc. Blanka Gondová

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

V diplomové práci je sledována mikrobiologická kvalita sušených 100% pekařských směsí navrhovaná Univerzitou obrany ve spolupráci se společností IREKS ENZYMA. Teoretická část práce se zabývá technologií výroby pekařských směsí a jejich skladovatelností a také základními ukazateli mikrobiologické kvality potravin. V praktické části bylo provedeno mikrobiologické vyšetření 10-ti vzorků pekařských směsí se zaměřením na celkové počty mikroorganismů, počty koliformních mikroorganismů, počty sporotvorných mikroorganismů a počty kvasinek a plísní. Tyto směsi byly navrženy pro potřeby stravování příslušníků Armády České republiky působících v mezinárodních misích ve střední Asii. V diskusi byla hodnocena kvalita navržených vzorků ve srovnání se vzorkem běžně prodávané chlebové směsi pro domácí použití. Dále byla ověřena vhodnost originální technologie přímého zapracování sušených kvasinek do směsí.

Klíčová slova: sušená pekařská směs, mikrobiologická kvalita, indikátorové mikroorganismy, kvasinky, skladovatelnost.

ABSTRACT

This thesis is a study of the microbiological quality of dried bakery mixtures 100% proposed by the University of Defence in cooperation with IREKS ENZYMAS Corporation. The theoretical part deals with the technological aspect of the production of bakery mixtures and their shelf life. The practical part was conducted by means of microbiological testing of 10 samples of bakery mixtures with a focus on basic microbiological properties such as total counts of aerobic mesophilic microorganisms, counts of coliforms, yeasts and moulds. These mixtures were designed for catering the needs of the Army of the Czech Republic serving on international missions in Central Asia. The quality of the proposed samples with commercially available bread mixtures for home use was compared. Further, the suitability of the original technology of direct incorporation of dried yeast to the mixture was evaluated.

Keywords: baking powder mixture, microbiological quality, indicator microorganisms, yeasts, shelf life.

Poděkování

Touto cestou bych chtěla poděkovat MVDr. Ivanu Holkovi, Ph.D. vedoucímu diplomové práce a laborantkám Olze Haukové a Bc. Haně Miklíkové, za odborné vedení, rady, konzultace a připomínky, které mně poskytovali při zpracování diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat kpt. Ing. Tomáši Bézovi, Ph.D. za poskytnuté materiály k diplomové práci a v neposlední řadě své rodině, která mi umožnila studovat.

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

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 SLOŽENÍ PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ.....	13
1.1 HLAVNÍ PEKAŘSKÉ SUROVINY	13
1.1.1 Obiloviny používané k výrobě mouk pro pekařské účely	13
1.1.1.1 Pšeničná mouka	16
1.1.1.2 Žitná mouka	16
1.1.2 Droždí, kvas, zákys	18
1.1.2.1 Droždí	18
1.1.2.2 Kvas	20
1.1.2.3 Zákys.....	20
1.1.3 Voda	21
1.1.4 Jedlá sůl.....	22
1.2 ZLEPŠUJÍCÍ PŘÍPRAVKY.....	23
1.2.1 Sladidla.....	23
1.2.2 Tuky a oleje.....	24
1.2.3 Vaječné suroviny.....	24
1.2.4 Mléčné suroviny.....	24
1.3 LÁTKY ZVYŠUJÍCÍ JAKOST FINÁLNÍCH VÝROBKŮ TZV. „ZLEPŠOVADLA“	25
1.3.1 Povrchově aktivní látky.....	25
1.3.2 Chemické zlepšující přípravky.....	26
1.3.2.1 Oxidační látky.....	26
1.3.2.2 Redukční látky	27
1.3.3 Hydrokoloidy.....	27
1.3.4 Enzymové preparáty.....	28
2 TECHNOLOGIE VÝROBY PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ.....	29
2.1 PŘÍMÉ A NEPŘÍMÉ VEDENÍ TĚSTA	29
2.2 PEKAŘSKÉ SMĚSI	30
2.3 TECHNOLOGIE VÝROBY PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ.....	32
3 SKLADOVATELNOST A ÚDRŽNOST PEKAŘSKÝCH VÝROBKŮ.....	34
3.1 TEPLOTA	34
3.2 OXIDACE LIPIDŮ	34
3.3 pH PEKAŘSKÝCH VÝROBKŮ	35
3.4 AKTIVITA VODY.....	36
3.5 RETROGRADACE ŠKROBU NEBOLI „STÁRNUTÍ“ PEKAŘSKÝCH VÝROBKŮ.....	37
3.6 NITKOVITOST CHLEBA	37
3.7 PLESNIVĚNÍ	38
4 INDIKÁTOROVÉ MIKROORGANISMY JAKO UKAZATELE KVALITY PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ.....	39

4.1	POZITIVNÍ PŮSOBNÍ MIKROORGANISMŮ.....	39
4.1.1	Kvasinky.....	39
4.1.2	Bakterie mléčného kvašení.....	40
4.2	NEGATIVNÍ PŮSOBNÍ MIKROORGANISMŮ.....	40
4.2.1	Plísně a kvasinky.....	40
4.2.2	Koliformní mikroorganismy.....	41
4.2.3	Sporotvorné mikroorganismy.....	41
4.3	LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ MIKROORGANISMŮ V POTRAVINÁCH POMOCÍ KULTIVAČNÍCH METOD	42
4.3.1	Stanovení celkového počtu mikroorganismů plotnovou metodou.....	42
4.3.2	Stanovení počtu kvasinek a plísní plotnovou metodou.....	43
4.3.3	Koliformní bakterie stanovené plotnovou metodou.....	43
4.3.4	Sporotvorné mikroorganismy stanovené plotnovou metodou.....	43
II	PRAKTICKÁ ČÁST	44
5	MATERIÁL A METODIKA	45
5.1	VZORKY URČENÉ PRO ARMÁDU ČESKÉ REPUBLIKY	45
5.2	POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....	46
5.3	KULTIVAČNÍ PŮDY A ŘEDÍCÍ ROZTOK.....	47
5.3.1	Půda Plate Count Agar	47
5.3.2	Půda Endo agar.....	47
5.3.3	Kultivační půda Yeast Glukose Chloramphenicol.....	48
5.3.4	Fyziologický roztok.....	48
5.4	POSTUP MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ.....	49
5.4.1	Označení vzorku.....	49
5.4.2	Skladovací pokus	50
5.4.3	První mikrobiologické vyšetření	50
5.4.4	Druhé mikrobiologické vyšetření.....	50
6	POSTUP MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ 100% PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ	51
6.1	PŘÍPRAVA VZORKU	51
6.1.1	Odběr vzorků sušených pekařských směsí.....	51
6.1.2	Ředění	51
6.1.3	Inokulace	51
6.1.4	Inkubace	52
6.2	STANOVENÍ VZORKU.....	53
6.2.1	Stanovení celkového počtu mikroorganismů plotnovou metodou.....	53
6.2.2	Stanovení počtu koliformních mikroorganismů plotnovou metodou	53
6.2.3	Stanovení počtu kvasinek a plísní plotnovou metodou.....	54
6.2.4	Stanovení počtu sporotvorných mikroorganismů plotnovou metodou	54
6.3	VÝPOČTY A VYJÁDŘENÍ VÝSLEDKŮ.....	54
7	VÝSLEDKY PRVNÍHO MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ 100% PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ PO 6. MĚSÍCÍCH SKLADOVÁNÍ	55

8	VÝSLEDKY DRUHÉHO MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ 100% PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ PO 12. MĚSÍCÍCH SKLADOVÁNÍ	58
9	DISKUZE	61
	ZÁVĚR	70
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	73
	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	80
	SEZNAM OBRÁZKŮ	81
	SEZNAM TABULEK.....	82

ÚVOD

Několik tisíc let ovládá člověk rozemletí zrna, hnětení těsta a pečení chleba. Chléb patří mezi základní potraviny. Sumerové chlebu přiřkli duši, v Mezopotámii se stal chléb součástí hieroglyfického znaku pro potravu, arabština používá pro pojmy chléb a život tentýž výraz. Pokud chtějí Francouzi člověka pochválit, řeknou, že je „dobrý jako chléb“. O významu chleba v našich dějinách svědčí i starý slovanský zvyk vítat hosty chlebem a solí [1]. Neexistuje země, kde by se chléb nepekl. Neexistuje domov, kde by chléb nevoněl. Neexistuje člověk, jemuž by se chléb přejedl [2].

Pečení chleba nás doprovází od nepaměti a bez pekařského umění si dnes nedokážeme představit naši všední kuchyni. První typy chlebů byly chleby nekynuté. Dnes se vyrábí převážně chleby kynuté. Základními surovinami k výrobě chleba jsou mouka, voda, sůl, droždí. Pomocnými surovinami může být rostlinný olej nebo ztužený pokrmový tuk. Dále může chléb obsahovat přísady, jako vejce, mléko, cukr, koření, ovoce, ořechy a semena. Krom chleba se peče mnoho dalším pekařských výrobků (rohlíky, pletýnky atd.), které mají stejně jako chléb svou neodolatelnou chuť a vůni.

Pekařské výrobky se vyrábí dvěma způsoby, kterými jsou přímé a nepřímé vedení těst. Přímé vedení těst je takové, kdy mísíme všechny suroviny tzv. „na záraz“. Nepřímé vedení těsta je takové, kdy si nejdříve připravíme kvásek. Nepřímé vedení těsta je náročnější na zařízení pro přípravu omládku nebo podobných prefermentů, větší prostory a na odbornost obsluhy. Výhodou nepřímého vedení těst jsou menší nároky na množství přidaných kvasinek a zlepšujících přípravků. Na přípravu přímého vedení těst nepotřebujeme výrobu kvásku, ale přirozeně je potřeba delší dobu zrání těsta a požadavky na aktivitu a standardní plynotvornou kapacitu kvasinek jsou vyšší.

Dnešní doba nabízí způsob, jak zefektivnit výrobu chleba a pekařských výrobků pomocí sušených pekařských směsí. Pekařské směsi jsou velmi praktickým řešením pro většinu pekařů, umožňují nabízet široký sortiment pekařských výrobků a přizpůsobit receptury současným trendům v oblasti stravování. Příprava pekařských výrobků je díky zjednodušenému výrobnímu procesu zkrácena na minimum. Pekařské výrobky z pekařských směsí se vyrábí přímým vedením těst. Všechny komponenty, které pekařská směs obsahuje, podléhají přísnému výběru, aby splňovala bezpečnost, mikrobiální kvalitu a stabilitu. Cílem diplomové práce je vyšetřit mikrobiologickou kvalitu 100% pekařských směsí pro polní pekárny, které jsou skladovány při tropických teplotách.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 SLOŽENÍ PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ

Je tomu již řada let, kdy naši předkové byli při pekařské výrobě odkázáni výhradně na svou tvořivost a dostupné základní suroviny. V té době vznikly tradiční receptury, které jsou ovšem mnohdy poměrně složité na přípravu a náročné na um a zkušenosti pekaře [3].

Základními surovinami k výrobě chleba v polních podmínkách jsou mouka, droždí, voda, sůl a kmín [4]. Mezi zlepšující přípravky patří cukr, tuky, vaječné a mléčné suroviny.

1.1 Hlavní pekařské suroviny

1.1.1 Obiloviny používané k výrobě mouk pro pekařské účely

Obiloviny jsou rostliny využívané a pěstované pro svá semena. Pro lidskou výživu se přímo používá celá, nebo rozemletá na mouku [5]. Obiloviny obsahují sacharidy, bílkoviny, tuk a vlákninu, stejně jako minerální látky a vitamíny, zejména skupiny B, D a E, a mají blízko k neutrálnímu pH [6].

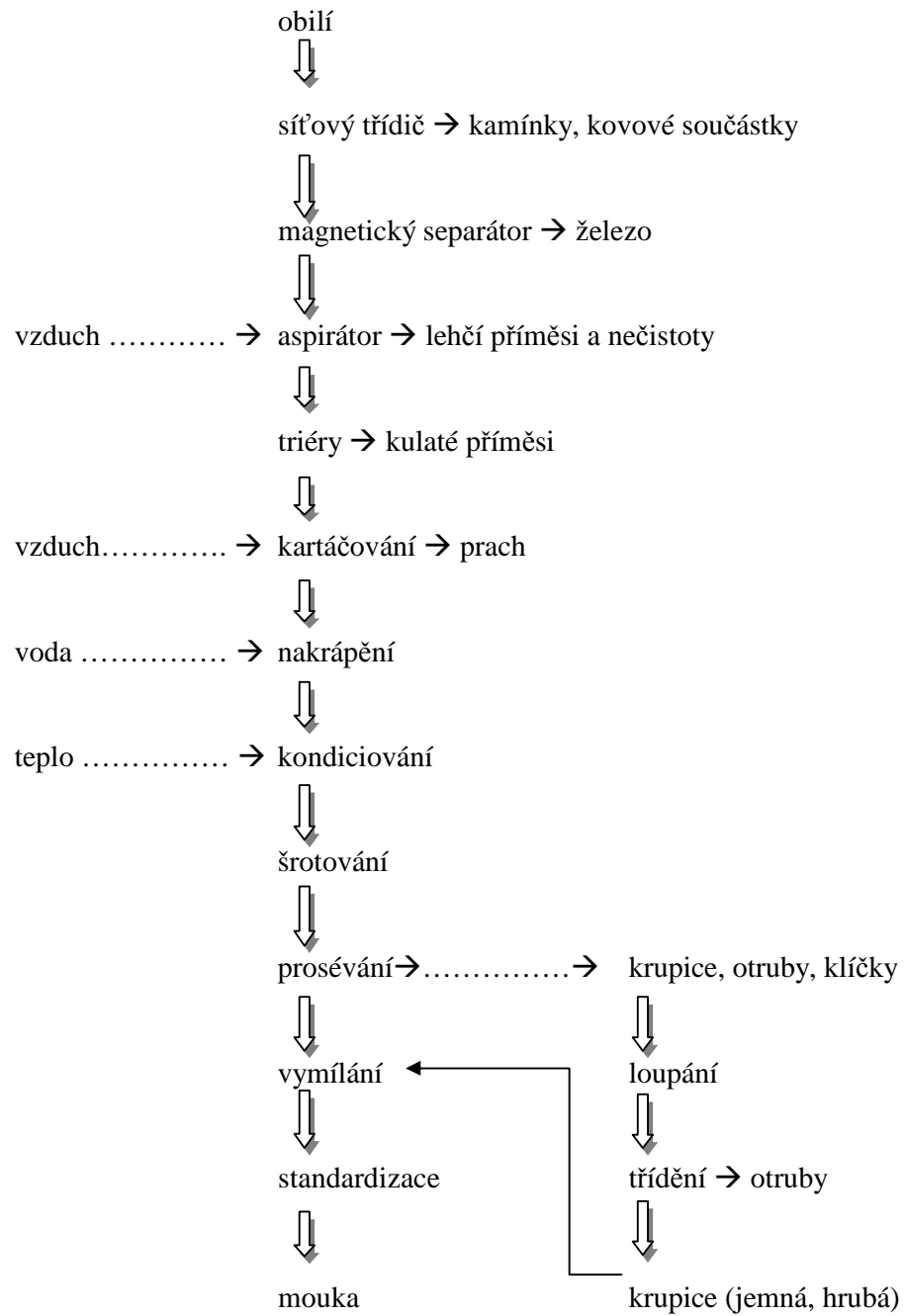
Téměř všechny obiloviny patří do čeledi lipnicovité, lat. *Poaceae*. Společný botanický původ obilovin této čeledi předurčuje jejich značnou vzájemnou podobnost jak ve struktuře a tvorbě zrna, tak v jeho chemickém složení, tj. například v uspořádání obalových a podobalových vrstev zrna, nebo v zastoupení jednotlivých aminokyselin v obilné bílkovině nebo mastných kyselin v tukových složkách. Vlivem různých klimatických podmínek a během staletí šlechtění a pěstování se však současně vytvořily odlišnosti mezi jednotlivými botanickými rody a druhy obilovin, i mezi jednotlivými odrůdami téhož druhu. Postupem doby se zjistila vhodnost různých obilovin pro různá zpracovávání, a proto jen některé získaly dominantní postavení ve využití pro pekárenské účely.

Bylo tradicí nazývat obiloviny, které jsou vhodné pro výrobu chleba a pečiva, chlebové obiloviny. Tento název však odpovídá širšímu chápání pojmu „chléb“ nebo „chlebové“ spíše ve smyslu „pro pekárenské výrobky“, neboť ve většině zemí se pod pojmem chléb rozumí veškeré pečené výrobky především z pšeničné mouky. V našich podmínkách jde výhradně o pšeničnou a žitnou mouku [7]. Pšeničná a žitná mouka jsou pro výrobu chleba základní surovinou [4]. V jiných částech světa mimo Evropu dosahují značného významu další obiloviny, zejména rýže, kukuřice, proso a čirok. Pekařské využití těchto surovin na výrobky podle našich zvyklostí je omezené, neboť nejsou schopny vytvořit pevnou strukturu klenutého výrobku [7].

Obilné zrna se skládá z obalových vrstev, škrobového endospermu a zárodku. V celé obilné mase jsou kromě úplně vyvinutých zrn i různé podíly příměsí, jako zlomková zrna, jiné obilniny a různé nečistoty. Sláma, plevy, kamínky a písek se musí před uskladněním a zpracováním odstranit.

Technologickým postupem se má získat především endosperm. Mouky vysoko vymleté obsahují větší podíl obalových vrstev, což se odráží v hodnotě obsahu popelovin vyjádřeného v mg na 100g mlýnských výrobků. Pšeničné zrna obsahuje asi 14 % vlhkosti, 12 % bílkovin, 70 % sacharidů a 2,5 % popelovin. Bílkoviny vytvářejí s vodou bobtnající gel a škrob je možné vyprat vodou. Takto se získá tzv. mokrý lepek [8].

Nejběžnější druhy mouk zpracovávanými v polních pekárnách jsou žitná mouka a pšeničná mouka chlebová. Při výrobě žitnopšeničného pečiva je udáván celkový recepturní poměr žitné mouky k pšeničné mouce 80:20 nebo 70:30. Při výrobě pšenično-žitného chleba je tento poměr obrácený. Pouze výjimečně se pro výrobu chlebového těsta a chleba používají jiné druhy mouk, užívá se jiných recepturních poměrů, případně se vyrábí chléb pouze z jednoho druhu mouky [4].



Obr. 1. Mlýnská technologie [8].

1.1.1.1 Pšeničná mouka

Pšenice je světově nejrozšířenější obilovinou pro pekařské využití. O jejím nesmírném významu není jistě pochyb a bez nadsázky ji lze označit za strategickou surovinu. Pro běžné pekařské potřeby se převážně používá pšenice obecná (*Triticum aestivum*), ze které bylo vyšlechtěno velké množství odrůd. Za hlavní měřítko pekařské kvality se celosvětově považuje objem získaného pečiva. Po mnoha desetiletí byly za vrchol světové pekařské kvality považovány americké a kanadské pšenice. Nejvyšší kvality pšenice patřily k nejtvrdším. Tvrdost pšenice byla sledována mlynáři, neboť se značně projevuje při mlynářském zpracování, a souvisí především s obsahem a kvalitou pšeničné bílkoviny. Proto také existuje logická souvislost mezi tvrdostí a pekařskou kvalitou a všeobecně je uznáváno, že tvrdší pšenice jsou pekařsky kvalitnější. Americký typ tvrdých ozimých červených (Hard Red Winter – HRW) pšenice se stal světovým standardem kvality. V evropské pekárenské technologii se v minulosti pro dosažení nejlepších výsledků považovalo za nezbytné dovážet americké, kanadské, příp. argentinské či australské tvrdé pšenice. Na rozdíl od pekařských kynutých výrobků je pro výrobu sušenek a oplatek potřeba použít mouky se slabým lepkem. Pro tyto účely vyhovují ponejvíce slabé pšenice, ke kterým v minulosti patřila většina evropských pšenice. Během posledních desetiletí se však změnila kvalita evropských pšeničných mouk a na trhu se objevují tvrdší pšenice zejména francouzské produkce. Současně dochází ke změnám v technologii výroby díky rozsáhlé nabídce zlepšovacích přísad, které umožňují i využití v pekárenské výrobě mnohem více slabších pšeničných mouk [7]. Mouka je hlavní surovinou a tvoří jí hlavně škrob a bílkoviny [9]. Za tradiční ukazatele pekařské kvality pšeničné mouky byly po mnoho desetiletí uváděny tři ukazatele: schopnost tvorby kypřících plynů, pekařská síla a barva mouky. Postupem času se ukázal čtvrtý důležitý parametr – granulační spektrum mouky. Poslední parametr je však poměrně málo sledován nejen přímo v pekárenské výrobě, ale stejně i v celém řetězci zpracovávajícím mouky [7].

1.1.1.2 Žitná mouka

Produkce žita znatelně v České republice klesá. Složení žitného zrna se příliš neliší od pšeničného. Z celkových složek má žito jen poněkud vyšší obsah pentosanů, které jsou odlišné pekárenské zpracovatelské kvality žitné mouky. Parametry, určující pekařskou kvalitu žitné mouky, jsou do značné míry odlišné od mouky pšeničné. Hodnocení její

pekařské kvality není tak detailně propracováno jako u pšeničné mouky. Především je odlišná žitná bílkovina, která zčásti i vlivem působení žitných pentosanů není schopna vytvořit samostatnou souvislou prostorovou strukturní síť, která je nosnou kostrou pšeničného pečiva. U žitné mouky spolupůsobí při vázání vody již za normální teploty při hnětení žitné pentosany a při tvorbě střídy hotového výrobku i škrob. Z toho vyplývá, že škrob hraje při tvorbě žitného těsta a struktury hotového výrobku větší roli než v pšeničném těstě [7].

Tab. 1.

Obsah jednotlivých složek (živin) v obilovinách (v % hmot. při 15% vlhkosti obilí) [10].

obiloviny, zrniny	minerálie	bílkoviny	tuk	sacharidy	vláknina
žito	1,7	9,0	1,7	70,7	1,9
pšenice durum	1,7	13,2	2,4	65,0	2,5
ječmen s pluchami	2,5	9,5	2,1	67,0	4,0
oves s pluchami	3,2	10,3	4,8	56,4	10,3
kukuřice	1,5	11,0	4,4	67,2	2,2
proso loupané	1,8	11,5	3,9	68,1	2,3
rýže Paddy	4,0	6,9	1,6	68,4	8,9

Kvalita všech mouk se mění s prodlužující se dobou skladování. V některých případech mohou být změny výhodou a jindy nevýhodou. Celozrnné mouky mají vyšší obsah tuku nežli bílé mouky a jsou více náchylné ke žluknutí. Nízká aktivita vody u mouky inhibuje germinaci spor. Obsah tuku v mouce může být klíčovým faktorem pro omezení skladovací doby. Dalším problémem při skladování mouk může být napadení hmyzem. Takto znehodnocená mouka se nesmí používat k dalšímu zpracování. Pro zachování co nejdélejší kvality mouky, je nutné realizovat co nejpřísnější kontroly ve skladu, aby se v budoucnosti zabránilo podobným problémům. Prodlužuje-li se doba skladování, mění se i potenciál pekařských mouk, dochází k progresivním objemovým ztrátám u finálních výrobků.

Takové změny se uskutečňují pomalu a jeví se jako doprovodné změny při rozkladu tuků v mouce uvolněním mastných kyselin [11].

1.1.2 Droždí, kvas, zákys

1.1.2.1 Droždí

V roce 1875 Louis Pasteur ukázal, že kvašení probíhá bez přítomnosti kyslíku. On také ukázal, že přítomnost kyslíku potlačuje fermentaci a způsobuje růst kvasinek.

Chemicky je tento proces popsán takto:



Kvasinky jsou živé mikroorganismy, používané pro zajištění kynutí [13]. Droždí je nejběžnější kypřicí prostředek, přidávaný do všech kynutých těst z pšeničné mouky. Droždí jsou slisované kvasinky čisté kultury [9]. Výrobce droždí vhání kyslík ve velkém množství do kvasných kádí a tím brání anaerobnímu kvašení a maximalizuje výnos kvasinek [12].

Dle platné legislativy jsou za pekařské droždí považovány kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae* Hansen, získané biotechnologickým způsobem množení čistých kvasničných kultur, vypěstovaných na cukerných substrátech obohacených živinami, stimulatory a pomocnými látkami, schopné způsobit kynutí těst. V pekárenské technologii se mohou využít i jiné druhy kvasinek, mající odlišné vlastnosti, a proto jsou pro technologické účely vhodnější. Např. *Saccharomyces rosei* se využívá pro mrazená těsta a osmotolerantní *Sacharomyces rouxii* pro těsta s vysokým obsahem cukru [7].

V pekárenské výrobě má droždí tři hlavní funkce:

1. Zvýšení objemu těsta kypřicími plyny, především oxidem uhličitým, který je konečným producentem fermentace.
2. Změny ve struktuře těsta.
3. Ovlivnění sensorických vlastností pečiva [7].

V těstě vyvolávají kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* Hansen etanolové kvašení, což je složitá biochemická přeměna cukru na etanol a oxid uhličitý (kypřicí plyn).

Chemicky je tato zásaditá reakce popsána takto:



Důležité je si všimnout významného rozdílu mezi touto reakcí a reakcí předchozí. Při této reakci vzniká etanol, v předchozí ne. Kvasinky obsahují velké množství enzymů, které jsou potřebné při kvašení a dýchání. Asi 14 různých enzymů je zapojeno do kvasného procesu [14].

V průběhu fermentace vznikají v těstě vedle etanolu a oxidu uhličitého další metabolity, především aldehydy, ketony, alkoholy, a jiné karbonylové sloučeniny, které významnou měrou přispívají k vůni a chuti pečiva. Ve funkci kypřícího činidla lze droždí v určitých případech nahradit kypřícími prášky, ale v roli tvůrce typických sensorických vlastností biologicky kypřeného pečiva je droždí stále nenahraditelné. Droždí lze považovat jako příspěvek k nutriční hodnotě pekařských výrobků, to se týká především obsahu bílkovin a vitamínů [7].

Technologické podmínky

Snaha pro zrychlení technologického procesu, např. při použití tzv. mechanického vývinu těsta, kdy může zcela odpadnout zdlouhavé zrání těsta, má za následek nutnost použití vyšších dávek droždí než je v tradičních technologických postupech obvyklé. Při zvýšené době fermentace těsta je možné snížit recepturní množství droždí [7].

Typy droždí

- *lisované droždí*
- *droždí granulované*
- *aktivní sušené droždí*
- *instantní sušené droždí*
- *inaktivní sušené droždí*

Jakost droždí

Požadavky na jakost lisovaného droždí uvedené v prováděcí Vyhlášce 335 Zákona č. 110/Sb. 97 ve znění pozdějších předpisů – oproti ČSN 56 6810 Droždí jsou stručněji:

- barva světlešedá až světlehnědá
- vzhled bez povlaku a jednotlivých kolonií plísní
- vůně a chuť čistá, bez známek rozkladu
- sušina min. 25 % pro lisované nebo 90 % pro sušené droždí
- mohutnost kynutí max. 70 minut, norma uvádí 90 minut (dle ČSN 56 6810)
- popel v sušině max. 9 %

Obsah nepravých kvasinek rodu *Torula*, *Mycoderma*, *Candida*, *Pichia*, je přípustný jen v množství, které nepříznivě neovlivní vlastnosti droždí [7].

1.1.2.2 Kvas

Jedná se o vysoce aktivní substrát, jehož surovinovým základem je žitná mouka a voda. V žitném kvasu jsou přítomny jak kvasinky, tak mléčné bakterie [10]. Při zahájení výroby chleba „klasickým způsobem“ se vychází z menšího množství vyzrálého kvasu (nátěstku, zárodečné drobenky) odebraného z pekáren. Tento kvas se vhodným způsobem množí (vede), aby bylo získáno potřebné množství kvasu pro plánovanou výrobu [4].

1.1.2.3 Zákys

Zákys se používá při výrobě chleba zkráceným technologickým postupem. Jde v podstatě o druh žitného kvasu, který je veden při vyšších teplotách. Zákys zraje a odebírá se ve čtyřhodinových intervalech. Recepturní množství zákysu musí odpovídat 50% množství celkového objemu zákysu pro jeden cyklus. Ze zbylých 50 % vyzrálého kvasu se vymíchává nový zákys přidáním 25 % žitné mouky T 930 a 25 % vody. První zákys pro zahájení výroby se připraví z běžného kvasu nebo dehydratovaného zákysu. Zákys se vnáší do kvasu nebo do těsta v potřebném množství mléčné bakterie, které zde spolu s droždím vytvářejí při výrobě chleba typický a nutný kvasný a kyselinotvorný proces [4].

1.1.3 Voda

Voda použitá k výrobě chlebového těsta musí odpovídat požadavkům na pitnou vodu, které jsou uvedeny ve vyhlášce Ministerstva zdravotnictví č. 376/2000 Sb. [4]. Pitná voda musí být čirá, bezbarvá, bez cizích příchutí nebo pachu. Jedním z ukazatelů kvality vody je její tvrdost, což představuje obsah rozpuštěných vápenatých a hořečnatých složek. Další charakteristikou vody je její kyselost nebo alkalita. Tento ukazatel již může mít vliv i na vedení těst zejména kynutých droždím. Z vlivů kvalitativních ukazatelů vody na technologické postupy jsou nejvýznamnější vlivy na fermentaci těsta kypřeného droždím [7].

V tabulce (Tab. 2.) je za měkkou vodu považována voda s obsahem méně než 120 ppm vápenatých a hořečnatých iontů, normálně tvrdou se 120 – 180 ppm a velmi tvrdou s více než 180 ppm. Při mimořádně tvrdosti vody se také doporučuje buď zvýšení dávky droždí, nebo snížení dávky droždí a přidavek sladové moučky (diasty) [7]. Množství vody se řídí vazností použité mouky. Vaznost mouky udává v % hmotnosti vody, kterou je mouka schopna koloidně poutat. Pohybuje se běžně kolem 50 až 68% [9].

V souhrnu lze uvést, že měkká voda dává volnější a lepkavé těsto, které vykazuje sníženou vaznost vody. Je-li pH vody nižší zrychluje se průběh zrání. Objem pečiva je větší, ale vybarvení chudší. Tvrdá voda zpomaluje fermentaci v těstě a příliš ztužuje lepek. Alkalická voda zpomaluje fermentaci, a pokud není prodlouženo zrání, dává menší objem pečiva, ale s dobrou barvou a strukturou střídy. Z empirických studií vyplývá, že vliv jednotlivých minerálních prvků na těsta není tak významný, jak se někdy předpokládá [7].

Tab. 2. Vliv tvrdosti a kyselosti vody na vedení fermentace těsta [7].

typ vody		vhodný typ droždí	dávka droždí	další doporu- čení
kyselost	tvrdost			
mírně kyselá (pH pod 7)	měkká	běžné	normální	extrém. přípa- dy: sůl nebo CaSO ₄ v rozkvasu
	normální	běžné	normální	Žádná
	vysoká	běžné	nižší	extrém. přípa- dy: slad v rozkvasu
neutrální (pH 7-8)	měkká	běžné	vyšší	Žádná
	normální	běžné	normální	Žádná
	vysoká	běžné	nižší	slad v rozkvasu
alkalická (pH > 8)	měkká	kyselé n. běžné s CaHPO ₄	vyšší	extrém. přípa- dy: CaHPO ₄
	normální	kyselé	normální	žádná
	vysoká	kyselé	nižší	extrém. přípa- dy: hodně sladu plus kyselina octová nebo mléčná

1.1.4 Jedlá sůl

V prováděcí vyhlášce Ministerstva zemědělství č. 331/1997 Sb. ve znění novely č. 419/2000 Sb. k Zákonu o potravinách se používá pouze termín jedlá sůl. Jedlá sůl je definována jako krystalický produkt obsahující nejméně 97 % chloridu sodného v sušině, případně obohacený potravním doplňkem (jód, jód s fluórem atd.). Používá se nejen jako chuťová přísada, ale také i jako regulátor důležitých technologických procesů [15].

Pro výrobu chleba se aplikuje v množství asi 1,6 – 1,8 % hmotnosti zpracované mouky. Používá se vždy rozpuštěná v části recepturní mouky [4]. Jedlá sůl mírně ztužuje (dehydratuje) bílkoviny, tlumí činnost enzymů, dále zvyšuje osmotický tlak prostředí, a tím zhoršuje fyziologický stav kvasničných buněk. Proto ji nelze přidávat do kvasných stupňů, kde se požaduje zvýšená fyziologická aktivita mikroorganismů. V některých oblastech Německa se ale v malém množství připadá jedlá sůl i do žitných kvasů [7].

Vlivy soli přidané do těsta se projevují v pekařství v několika směrech. Značný vliv má přídavek jedlé soli na reologické vlastnosti těsta. Přídavek jedlé soli se ztužuje konzistence lepkové bílkoviny, ale současně se snižuje vaznost mouky. Zároveň se prodlužuje doba vývinu těsta. U velmi silných mouk představovalo prodloužení hnětení do dosažení maxima konzistence téměř dvojnásobek původního času. Další významný vliv vykazuje přídavek jedlé soli na fermentaci těsta nebo kvasných předstupňů [7].

1.2 Zlepšující přípravky

1.2.1 Sladidla

Sladidla jsou jednou z hlavních složek v pekařském výrobku, protože jen velmi málo pekárenských výrobků je vyráběno bez přidaného sladidla. Kromě poskytování sladké chuti jsou sladidla používána jako zdroj zkvasitelných cukrů pro kvasinky, podílí se na barvě kůrky, zlepšují měkkost a prodlužují trvanlivost chleba [16]. Nejběžnějším potravinářským sladidlem v pekařství se používá neredukující disacharid sacharóza. Je důležitá k udržení intenzity kvasného procesu. V těstech bez přídavku sacharózy, zejména u silnějších mouk, nastává kolem třicáté minuty kynutí prodleva, tj. přestávka ve vývinu CO₂. Toto přerušení kvasného procesu je zaviněno tím, že kvasinky po spotřebování zkvasitelných sacharidů mouky postrádají substrát ke kvašení, a to tak dlouho, dokud se z moučného škrobu enzymaticky neuvolní dostatek maltózy, která je zkvasitelná [9]. Pro rychlejší rozběh fermentace při zrání těsta je tedy nízká dávka sacharózy do těsta významná. Vliv cukru na sensorické vlastnosti výrobků nespočívá jen ve sladivosti. Cukr také vytváří dojem plné chuti, které výrobky bez sacharózy postrádají [7].

1.2.2 Tuky a oleje

Tuky a oleje jsou důležitou pekařskou přísadou [17]. Tuk nebo olej přidaný do recepturní směsi obaluje jemným filtrem částičky tuhé fáze zejména mouky, čímž kromě jiného i zadruhuje vzduch, který obaluje částičky tuhé fáze vnitřní těsta. Proces má pozitivní vliv na křehkost výrobku. Vytvořením jemného filtru okolo moučných bílkovin a škrobu zabraňuje přístupu vody k nim, a tak omezuje jejich bobtnavost [18]. Tuk a olej má pozitivní vliv na texturu. Může se přidávat až 5 % tuku, i když obvyklé je 3 až 4 % tuku. Tuk zpomaluje proces stárnutí chleba [17].

1.2.3 Vaječné suroviny

V pekárnách a cukrárnách se v praxi pro výrobní spotřebu používá výhradě slepičích vajec. Je prokázáno, že čerstvá vejce patří k nejnebezpečnějším surovinám z hlediska rizika kontaminace salmonelami, proto většina výrobců používá sušených nebo zmražených vajec a vaječných složek. V současnosti se také dodávají vaječné obsahy s cukrem, v nichž je podíl cukru natolik vysoký, že neumožňuje rozvoj bakteriální kontaminace [7]. Vejce mají všestranně zlepšující účinek. Zvyšují výživnou hodnotu pečiva a obsahují plnohodnotné bílkoviny, vitaminy, a minerální látky, dále žloutky výrazně ovlivňují barvu střídy obsahem karotenových barviv a obsahují přirozený emulgátor lecitin [15].

1.2.4 Mléčné suroviny

Mléko a mléčné výrobky ve velké míře zlepšují reologické vlastnosti těsta, chuť i vůni výrobku. Mléčný tuk, i když se v mléku vyskytuje v porovnání s množstvím tuku v receptuře ve velmi menším množství, je emulgovaný a lehko absorbovaný lepkem. V pekařství se převážně používá mléko sušené a odtučněné. Sušené mléko je také často nosičem zlepšujících přísad jako emulgátorů, enzymů apod., které mohou být přidány ve velmi nízkých koncentracích. Aby je šlo rovnoměrně rozmíchat do mouky, musí být předem přimíchány s neutrálním nosičem, tj. obvykle mlékem nebo moukou [7, 18].

1.3 Látky zvyšující jakost finálních výrobku tzv. „zlepšovadla“

Pojem „zlepšovadla“ je používáno pro široký rozsah látek, které mohou být přidány přímo k mouce, nebo do těsta za účelem zlepšit některý z aspektů finální kvality pekařského výrobku. Používání „zlepšovadel“ je běžné, nejčastěji se aplikuje směs několika přísad v nízkých koncentracích smícháním s tzv. „nosičem“. Použití zlepšovatelů je ovlivněno legislativní kontrolou, seznamem dovolených přísad, které mohou být použity v pekařství. Téměř každá látka přidaná k mouce a vodě bude mít zlepšující účinek na těsto. Například přidáním droždí se zlepšuje světllost a chutnost chleba, zatímco jedlá sůl mění vlastnosti těsta a ovlivňuje chuť pečeného chleba. „Zlepšovadla“ jsou přidávány v mnohem nižších dávkách, nežli kvasnice nebo jedlá sůl [14].

Mezi zlepšující látky patří řada přípravků, z nichž se některé používají již desítky let (enzymové přípravky ze sladu) a které podle účelu můžeme rozdělit na:

1.3.1 Povrchově aktivní látky

Povrchově aktivní látky používané v pekařství jsou obvykle označovány buď jako emulgátory, nebo jako „dough strengtheners“ [7].

Emulgátory jsou přírodní nebo syntetické látky, které podporují tvorbu a zlepšují stabilitu emulzí [19]. Podporují vznik a stálost emulzí tuku s vodou, které se vyskytuje ve většině pekařských těst [15].

Emulgátory jsou používány pro řadu různých důvodů, působí na těsto komplexně např.:

- podporují tvorbu plynu v těstě,
- zadržují plyn v těstě a tím se zvětšuje objem pečiva,
- zlepšují stabilitu tukových emulzí,
- udržují měkkost (jemnost) střídy, vláčnost střídy [4, 14].

„Dough strengtheners“ (zesilovače těsta) jsou povrchově aktivní látky, které pravděpodobně reagují s lepkovými bílkovinami a ovlivňují ty reologické vlastnosti těsta, kterým se říká „síla“, tj. zpevňují těsto [7].

V oblasti pekárenské výroby se jako nejběžnější užívané emulgátory přispívající k charakteru těsta a kvalitě chleba ukázaly funkční především tyto deriváty:

Ester monoacylglycerolu s kyselinou diacetylvinnou („DATA ester, DATEM, DAWE“), který má vynikající vlastnosti jako emulgátor emulze tuk ve vodě, dále má schopnost stabilizovat komplex škrob-bílkovina – prodlužuje trvanlivost výrobků, výrazně zlepšuje vlastnosti lepku v pšeničných těstech a napomáhá k udržení plynu v těstě, a tím udržení objemu pečiva v peci.

Ester kyseliny jantarové a kyseliny stearové s glycerolem vytváří komplexy se škrobem, čímž dochází k prodloužení trvanlivosti pečiva, další funkcí je emulgování tuku v těstě, tj. dokonalejší dispergování a zvyšování účinku tuku v těstě.

Stearyl laktylát sodný (SSL) se používá zejména na zesílení těsta, zabraňuje stárnutí střídy a podporuje měkkost střídy, je méně účinný než DATA ester.

Lecithin (přírodní emulgátor) zpomaluje stárnutí, mírně zlepšuje vlastnosti výrobků (zejména objem), nemá vliv na zpevnění struktury těsta. Nejvýznamnějším zdrojem lecitinu je surový sójový olej. Hlavní složkou sojového lecitinu je fosfatidylcholin, dále je přítomen fosfatidylserin a fosfatidylinositol, méně významnými zdroji jsou další rostlinné oleje a vejce [7, 14].

1.3.2 Chemické zlepšující přípravky

1.3.2.1 Oxidační látky

Používání oxidačních látek v pekárenské technologii vyplývá z naléhavé potřeby regulace technologických vlastností surovin především v souvislosti s koncentrací a mechanizací výroby. Výrobní proces v pekárnách přináší určitá negativa např. výrobní proces většinou vyžaduje co nejkratší zpracování těsta, dobu zrání, kynutí je u kontinuální výroby dána výkonem linky atd. Použitím oxidačních látek lze tato negativa do určité míry odstranit, je třeba však vzít v úvahu, že použítá látka a její dávkování musí odpovídat vlastnostem dané mouky. Mouky jsou poměrně složitý systém, reagují mnohdy zcela neočekávaně a odlišně na stejnou oxidační látku, třebaže jejich jakostní znaky, určené běžnými metodami, jsou velmi podobné. Podle účinku a použití rozeznáváme tři typy oxidačních látek:

- a) k bělení mouk – pšeničná mouka, může být bělena oxidačními činidly, jako je oxid chlóru nebo chlór, nebo také benzoylperoxidem. Bělením mouk se snižuje do určité míry mikrobiální úroveň, ale germinace spor je málo ovlivněna [20].

b) k urychlení zrání mouk – např. dioxid chlóru, azodikarbamid

c) se zlepšujícím účinkem na těsto – např. kyselina askorbová

Z chemických zlepšovadel s oxidačním účinkem se používá kyselina askorbová, bromičnan, jodičnan draselný apod. V České republice je povolena pouze kyselina askorbová v nezbytném množství [6, 7, 21, 22].

Kyselina askorbová (L-AA)

Za přístupu vzduchu se kyselina askorbová chová jako oxidační činidlo, tj. stabilizuje lepek, zvyšuje schopnost lepku zadržovat plyn, zlepšuje objem a texturu pečiva, jemnost střídy. Za nepřístupu vzduchu se chová jako redukční činidlo [7, 14].

1.3.2.2 Redukční látky

Jejich účinek na lepek si zakládá na štěpení disulfidových vazeb, což zapříčiňuje zeslabení, změkčení lepku. Tím se sníží spotřeba energie při mísení, sníží se pružnost těsta, zvýší se jeho tažnost. Předávkováním nastává úplná destrukce lepkové struktury [18]. Redukční látky používané v pekařské technologii jsou: *L-cystein*, *tripeptid glutathion* a *různé hydrogensířičitany* [15, 22].

1.3.3 Hydrokoloidy

Hydrokoloidy se běžně používají z důvodu zlepšení fyzikální a chemické stability a reologickým vlastností těsta. V nejnovější literatuře vědci uvádí, že hydrokoloidy se řadí spíše k stabilizátorům, jelikož mohou nabídnout dlouhodobou stabilitu. Hydrokoloidy jsou vysokomolekulární látky, z nichž většinu můžeme zařadit mezi polysacharidy. Charakteristickou vlastností hydrokoloidů, tj. vysokomolekulárních vazných látek, je schopnost těsta i střídy poutat vodu [21].

Podle charakteru zdroje, ze kterého hydrokoloidy získáme, můžeme rozlišit hydrokoloidy:

- živočišného původu – např. želatina, vaječný albumin, kaseináty a mléčné bílkoviny,
- rostlinného původu – vitální lepek, arabská guma, tragant, pektin moučka ze semen svatojánského chleba atd.,
- mořského původu – agar-agar, karagenan, algináty,
- mikrobiálního původu – dextran a xanthan [15].

1.3.4 Enzymové preparáty

Některé enzymy se vyskytují už v surovinách. Hlavní skupinu enzymatických přípravků tvoří amylolytické enzymy hydrolyzující škrob a proteolytické enzymy štěpící proteiny. V pekárenské technologii se amylasy používají především pro dosažení těchto zlepšujících účinků:

- zvýšení objemu výrobku
- zlepšení barvy kůrky
- zlepšení textury střídy
- zpomalování stárnutí výrobku

Zdrojem amylas mohou být např. termostabilní bakteriální α -amylasy, speciálně upravená maltogenní amylasa, nebo zkvašení mikroskopických plísní (*Aspergillus oryzae*) aj.

Proteolytické enzymy zapříčiňují zvýšení tažnosti a snížení pružnosti těsta.

Dále mezi enzymatické preparáty řadíme hemicelulosity, pentosanasy, lipoxygenasy, peroxidasy, glukosooxidasy, [7, 14, 22].

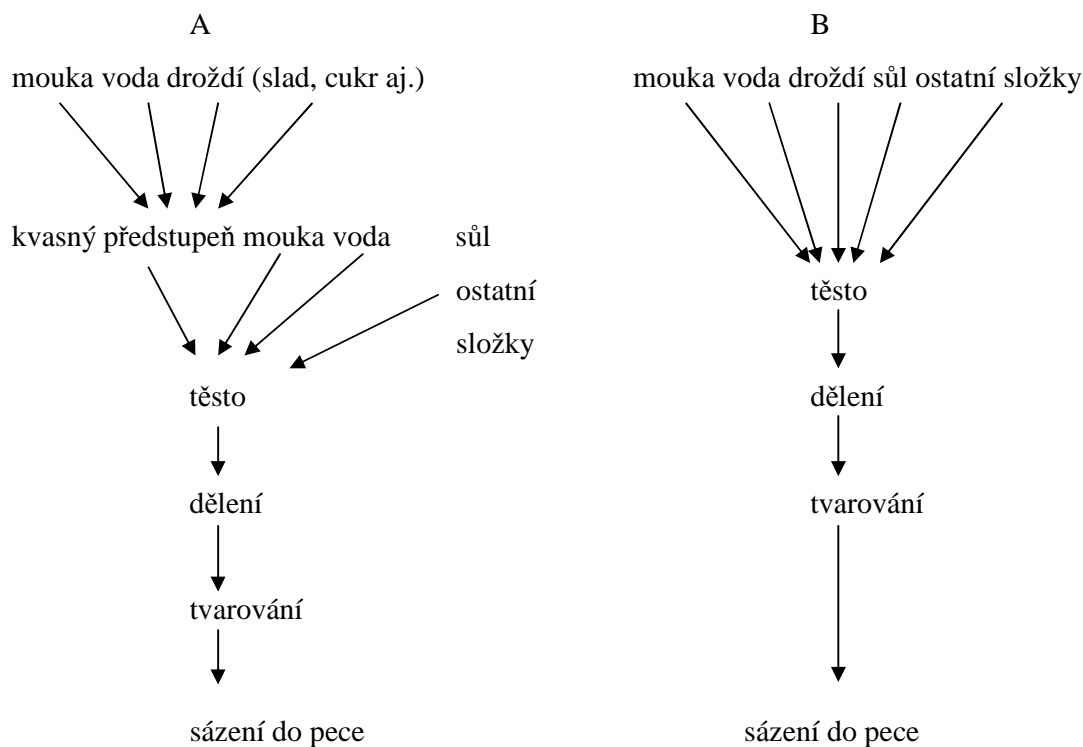
2 TECHNOLOGIE VÝROBY PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ

2.1 Přímé a nepřímé vedení těsta

V naší pekárenské technologii se pracuje v podstatě se dvěma způsoby výroby chlebového těsta a to tzv. přímé a nepřímé vedení těst.

Nepřímým vedením těsta zásadně rozumíme přípravu předstupně na rozkvašení přidávaného droždí ještě před vymísením konečného těsta. Složení a postup přípravy kvasného přestupně je v různých zemích, ale i v jednotlivých pekárnách, velmi odlišný. V minulosti bylo používání těchto kvasných předstupňů velmi rozšířené [7]. Dnes se tento způsob výroby chleba používá jen výjimečně v maloobchodních podmínkách menších pekáren. Při zahájení výroby se k přípravě prvního kvasu používá kvas z předešlé výroby. Čím větší množství zdravého kvasu se použije při zahájení výroby, tím kratší může být vedení kvasů [4].

V posledních letech jsou zaváděny nové moderní technologie výroby chleba a pečiva zkrácenou technologií tzv. „na záraz“, nebo také přímé vedení pšeničného těsta. Výhodou postupu je značné zjednodušování technologického postupu. Princip tohoto postupu spočívá v tom, že při zahájení výroby se smíchají všechny recepturní komponenty, tj. žitná a pšeničná mouka ve stanoveném poměru, přidá se voda, sůl, a zlepšující přísady. Zlepšující přípravky jsou např. koncentráty žitných kvasů, vyrobený chléb se blíží svou kvalitou tradičnímu chlebu vyvedeného z kvasů [23]. Přímé a nepřímé vedené pšeničného těsta je znázorněno na obrázku (Obr. 2.) [7].



Obr. 2. Schematické porovnání nepřímého (A- s kvasným předstupněm) a přímého (B) způsobu vedení těsta [7].

Některé mlýnské a pekárenské společnosti přizpůsobují svůj výrobní program současnému trendu a zařazují do sortimentu pro pekaře výrobu mnohé pomocníky v podobě „chytrých“ surovin – směsí na výrobu konkrétních výrobků [7, 24].

2.2 Pekařské směsi

Pod pojmem „směsi“ se skrývá nepřehledná škála sypkých surovin, které více či méně nahrazují suroviny pro výrobu pečiva. Širokou nabídku směsí lze proto pro přehlednost rozdělit dle typů finálního výrobku a jejich způsobu použití na několik skupin. První z nich představují kompletní směsi, které obsahují všechny suché příměsi včetně potřebného množství mouky. Tyto směsi jsou vhodné pro menší pekárny, které nemají moučné hospodářství a používají mouku pytlovanou [3].

Další možností jsou zakoncentrované kompletní směsi. Ty obsahují všechny suché příměsi jinak přidané k mouce jednotlivě. Samotná směs ovšem obsahuje minimální množství mouky. Jsou tedy vhodné zejména pro větší pekárny, jež nakupují mouku

ve velkém a mají moučné hospodářství. Příprava těsta potom spočívá ve smísení mouky, koncentrované směsi a tekutých surovin [7].

Poslední skupinou jsou premixy, jež jsou sestaveny z různých složek v poměru vhodném pro daný výrobek. Množství mouky v nich je minimální, na rozdíl od koncentrovaných kompletních směsí, ale nutně nemusí obsahovat všechny suché suroviny potřebné pro výrobu těsta. Dle svého složení se přidávají do těst v různých koncentracích. Míchají se s moukou, případnými dalšími suchými složkami a tekutými surovinami v pekárně, dle typu daného finálního výrobku. Dnes se často používají kompletní směsi či premixy na výrobu koblíh, šlehaných hmot, celozrnného, vícezrnného a speciálního běžného pečiva a chleba. Kromě základních surovin jako je např. mouka, sůl, mléčné suroviny, cukry a emulgátory se do směsí přidávají mnohé další mlýnské výrobky dle požadovaného typu finálního výrobku. Jedná se například o mlýnské výrobky z ječmene, kukuřice, ovsu, prosa, pohanky, dále o luštěniny (hlavně sója), olejniny (nejvíce mák, slunečnice, sezamové semínko a len).

Směsi i premixy už většinou obsahují zlepšovací prostředky, kypřící látky či kvasové koncentráty ve vhodných poměrech pro přípravu těst [3, 7].

Premixy a hotové směsi byly vyvinuty ve Spojených státech. Jejich předchůdcem byla směs pšeničné mouky a pečicího prášku, která byla patentována v USA v roce 1849.

Přitažlivost premixů a hotových směsí pro pekaře všeobecně spočívá v jejich zjednodušeném a pohodlném použití, spolehlivosti, efektivnosti a zrychlení výrobního procesu. Zpočátku to byla především otázka jednoduchosti a větší spolehlivosti výroby pekařských výrobků. Pekárnám se daří eliminovat komplikované vážení jednotlivých komponent, které byly často zdrojem chyb, zejména u těch složek, které se přidávají v malém množství [24].

Vzhledem k tomu, že nároky na stálou vysokou kvalitu výrobků jsou na prvním místě, má používání směsí velký význam právě pro udržení vysokého standartu, který je koncovými zákazníky vyžadován. Směsi patří navíc mezi suroviny, jejichž vlastnosti je možné dosti přesně přizpůsobovat nárokům pekáren např. úspora času. S pekařskými směsmi mohou pracovat i pracovníci s nízkou kvalifikací [7, 24]. Tato skutečnost také měla na vývoj směsí značný vliv. Není proto překvapením, že prvními výrobky tohoto charakteru, které se objevily na trhu, bylo pečivo, jehož receptura vyžadovala velký počet ingrediencí. Zanedlouho potom následoval chléb a drobné běžné pečivo. Jak se rozšiřoval sortiment pekařských výrobků a spotřebitelé požadovali stále nové druhy, zvyšoval se

i tlak na výrobu směsi, které by umožňovaly takovéto výrobky připravit i za zcela základních podmínek. To zahrnuje i použití surovin, které se v konvenční pekařské výrobě běžně nepoužívají, jako mlýnské produkty z méně obvyklých cereálií nebo semena olejnin ve výrobě chleba. V sektoru etnických potravin jsou směsi důležitým prvkem, umožňujícím výrobu a prodej národních nebo regionálních specialit i v jiných oblastech a zemích, což dokumentují např. typicky evropské výrobky v Japonsku. Prostřednictvím směsi se mohou rovněž prakticky, formou pekařských výrobků, uplatnit nové vědecké poznatky z oblasti výživy a přinést prospěch širokému okruhu spotřebitelů.

Současně s tím došlo ke zjednodušení skladování, protože namísto celé řady různých ingrediencí se skladuje pouze jeden produkt [24].

2.3 Technologie výroby pekařských směsí

Do jisté míry jsou premixy a hotové směsi pouze směsi suchých surovin v práškové formě, které se mohou připravit v relativně jednoduchém směřovací zařízení. Suroviny se ovšem musí před zpracováním analyzovat, aby se zajistilo, že mají požadované, přesně určené charakteristiky. Mouka a škrob tvoří základ pro mnoho suchých pekařských produktů. Mouka je smíchána s jinými suchými přísadami, jako jsou sušená vejce, sušené mléko, koření a sušené droždí. Suchý proces míchání jen málo ovlivňuje množství mikroorganismů. Skladování výrobku za suchých podmínek je důležité, aby se zabránilo náhodné kontaminaci [6].

Suroviny se směšují tak dlouho, dokud se nezíská homogenní směs. Navíc se musí zajistit, že nedojde během přepravy či skladování směsi k oddělování jednotlivých složek, což je důležité především tam, kde se používají suroviny s rozdílnou granulací, např. u produktů s obsahem semen olejnin. U výrobků určených pro použití v domácnostech je možno balit ingredience různé granulace nebo ve formě kousků odděleně, ovšem pro průmyslové potřeby tento způsob nepřichází v úvahu. Poněkud komplikovanější způsob výroby se uplatňuje v případě, že produkt má obsahovat vyšší množství tuku, oleje nebo emulgátorů, které se přidávají do mouky. Až do úrovně 10 % na množství sypkých komponent je mouka relativně dobrým nosičem pro sprejově nanesený tuk nebo olej. V některých případech je třeba jako pomocný prostředek použít suchý led. Jestliže má hotová směs obsahovat větší množství tuku, používají se předem sprejově připravené sypké komponenty, v nichž je tuk obklopen nebo potažen malým množstvím vysoce účinného nosiče. Tento způsob se používá rovněž pro emulgátory, aby

se udržely v sypkém stavu v požadované granulaci a netvořily hrudky. Při výběru tuku je třeba vzít v potaz, že příznivé účinky pekařského tuku, které pramení z jeho speciální krystalické struktury se při zpracování do premixů nebo hotových směsí ztrácejí, což znamená, že se musí používat speciální tuky. Do jisté míry to platí také o sušených vaječných produktech. V případě jejich použití se musí pečlivě sledovat, aby se v průběhu sušícího procesu neztratily technologické atributy čerstvých vajec (emulgační schopnost, zadržování plynu). Tuto podmínku není možno ve všech případech garantovat, a proto se dává při pečení přednost použití čerstvých nebo zmražených vajec. Čím menší sortiment finálních výrobků se má z konkrétní mouky vyrobit, tím jednodušší je připravit „mouku na míru“ pro dosažení optimální kvality [24].

3 SKLADOVATELNOST A ÚDRŽNOST PEKAŘSKÝCH VÝROBKŮ

Když uvažujeme o uskladnění pekárenských výrobků, musíme mít na zřeteli nejen jejich uložení, ale také uskladnění ve vhodných podmínkách [18].

Pekárenské výrobky, stejně jako mnoho zpracovaných potravin podléhají fyzikálnímu, chemickému a mikrobiologickému znehodnocení. Zatímco fyzikální a chemické znehodnocení omezuje trvanlivost při nízké vlhkosti pečiva, mikrobiologické kažení bakteriemi, kvasinkami a plísněmi se týká vysoké vlhkosti, tj. výrobky s vodní aktivitou $a_w > 0,85$. Podle Smitha a kol. (2004), několik pekařských výrobků obsahovalo velmi vážné původce onemocnění *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* a *Bacillus cereus*, zatímco *Clostridium botulinum*, je velkým problémem u produktů s vysokou vlhkostí, např. u pečiva baleného v modifikované atmosféře [25].

Mezi nejčastější vlivy, které mohou znehodnotit výrobek, jsou teplota, aktivita vody, pH, retrogradace škrobu, mikrobiální nakažení plísněmi, uskladnění v blízkosti látek s výrazným pachem atd. [18].

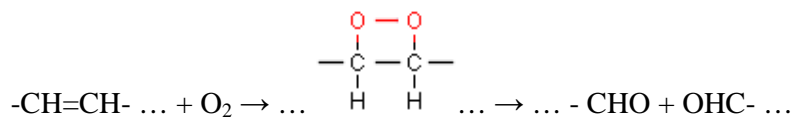
3.1 Teplota

Zvýšení skladovací teploty uspíší mnoho nežádoucích procesů v pekařských výrobcích. Nejméně stabilními složkami jsou lipidy, které jsou citlivé na oxidaci. Oxidační reakce lipidů je jednou z hlavních reakcí, která zhoršuje kvalitu pekařských výrobků. Oxidace lipidů je ovlivněna několika faktory. Přítomnost kyslíku a teploty hrají rozhodující roli při ovlivňování rychlosti reakce. Při pokojové teplotě dochází k oxidaci lipidů velmi pomalu [26].

3.2 Oxidace lipidů

Oxidace lipidů (též žluknutí) je proces způsoben oxidací dvojných vazeb nenasycených mastných kyselin vzdušným kyslíkem, obsažených především v lipidech. Výsledkem tohoto procesu jsou nežádoucí produkty, zejména aldehydy a ketony, které jsou nositeli žluklé chuti. Následkem je částečné nebo úplné znehodnocení potravin [27].

Chemickou podstatou žluknutí je adice molekul O_2 vzdušného kyslíku na dvojnou vazbu mastné kyseliny za vzniku peroxidu, s následným štěpením uhlíkového řetězce:



Obr. 3. Průběh oxidační reakce lipidů [28].

Tekuté oleje s vysokým podílem nenasycených mastných kyselin jsou k oxidaci náchylnější než tuhé lipidy. Oxidaci může být urychlena vhodnými enzymy. Naopak potlačují ji tzv. antioxidanty [27, 28].

3.3 pH pekařských výrobků

Růst mikroorganismů i jejich biochemická činnost jsou silně ovlivněny koncentrací vodíkových iontů v prostředí. Každý mikrobiální druh se může rozmnožovat pouze v určitém rozmezí pH. Pro optimální růst většiny bakterií a kvasinek je toto rozmezí poměrně úzké, zatímco u většiny plísní je podstatně širší [29].

Potenciálně nebezpečné potraviny mají $\text{pH} > 4,5$ a $a_w > 0,84$. Mnoho pekárenských výrobků spadá do této kategorie [30].

Pekárenské výrobky lze pohodlně rozdělit do tří skupin podle pH.

- 1) vysoce kyselé pekárenské výrobky s $\text{pH} < 4,6$,
- 2) středně kyselé pekárenské výrobky s $\text{pH} > 4,6$,
- 3) nekyselé nebo alkalické pekárenské výrobky s $\text{pH} > 7$ [30].

Tab. 3. Hodnota pH vybraných pekařských výrobků [30].

Pekařský produkt	pH
Vysoce kyselé	pH < 4,6
Kvasný chleba	4,2-4,6
Jablečný koláč	4,2
Středně kyselé	pH > 4,6
Bílý chléb	5,7
Celý pšeničný chléb	5,6
Nekyselý	pH > 7
Lívanec	6-8

3.4 Aktivita vody

Voda, která je nezbytnou složkou buněčné hmoty, představuje 75 až 90% hmotnosti mikrobiálních těl. Veškeré chemické reakce v živé buňce probíhají pouze ve vodním prostředí, a proto zde voda musí být přítomna v dostatečném množství v kapalném stavu. Potřeba vody může být u mikroorganismů kvantitativně vyjádřena rozmezím vodních aktivit prostředí, při nichž se dané mikroorganismy mohou rozmnožovat. Vodní aktivita a_w určitého roztoku se rovná poměru tlaku vodních par nad tímto roztokem k tlaku vodních par nad destilovanou vodou za stejných podmínek [29].

Aktivita vody a_w pekárenských výrobků je také důležitým ukazatelem pro potenciální rozmnožování mikroorganismů v nich. Podle některých autorů [30] se pekařské výrobky klasifikují na základě jejich a_w jako: výrobky s nízkou vlhkostí ($a_w < 0,6$), pekárenské výrobky se střední vlhkostí ($a_w > 0,85$) a výrobky s vysokou vlhkostí (a_w mezi 0,95 a 0,99). Mnoho pekárenských výrobků má pH a a_w v úrovni, která omezuje růst mikroorganismů [30].

3.5 Retrogradace škrobu neboli „stárnutí“ pekařských výrobků

Pravidelně se na zkracování doby skladovatelnosti pekařského výrobku podepisují změny škrobové složky. Stárnutí pekařských výrobků, jako výsledek změn škrobové složky (tj. změny amylozových a amylopektinových molekul), se označuje jako retrogradace škrobu. Retrogradace škrobu začíná v okamžiku dopečení výrobku a nastupujícího chlazení. U amylozy většinou proběhne kompletní retrogradace během chlazení na pokojovou teplotu, retrogradace amylopektinu, která je primárním faktorem stárnutí, vyžaduje mnohem více času. Během doby stárnutí se molekuly amylopektinu vracejí do původního pevného stavu krystalických granulí. V důsledku toho ztrácí střída pečiva vlhkost, stává se tuhou a méně elastickou. Jestliže změny v receptuře nejsou ideálním prostředkem zamezení stárnutí, použitý obalový materiál je naopak důležitým faktorem, který by měl být brán v potaz, protože do jisté míry umožňuje zpomalení procesu stárnutí. Balením chleba do materiálu nepropustného pro vlhkost, např. voskovaný papír, celofán nebo polyetylenové folie, se mohou ztráty vlhkosti minimalizovat. V důsledku toho se v porovnání s nebaleným chlebem zpomaluje rychlost tvrdnutí střídy, vlhkost se ve výrobku může rovnoměrně rozdělit mezi střídu a kůrku a doba skladovatelnosti se prodlužuje [31].

3.6 Nitkovitost chleba

Nitkovitost je vada chleba eventuelně i pečiva, která se sice nevyskytuje příliš často, ovšem v teplých letních měsících se s ní můžeme setkat, protože bakterie, které tuto chorobu způsobují – *Bacillus subtilis* a *Bacillus mesentericus*, jsou termofilní. Spory těchto bakterií přečkávají teplotu pečení, která nepřekročí 100 °C uvnitř chleba, a mohou za příznivých podmínek vyklíčit. Napadány bývají zejména výrobky vyšší hmotnosti a z pšeničné mouky. Nitkovitost je výsledkem tvorby slizovitých pouzder těchto bakterií společně s enzymovou hydrolyzou lepku a škrobu, který po zcukření podporuje tvorbu pouzder. Střída chleba začne druhý až třetí den po upečení vlhnout, maže se, je lepivá, zbarvuje se dožluta a hnilobně páchne. Při doteku se vytahuje do dlouhých nití, což je patrné zejména při rozlomení bochníku. Vznik nitkovitosti podporují následující podmínky [32]:

- kontaminace surovin, především mouky, ale i droždí sušeného mléka či sladových přípravků sporama uvedených bakterií,
- nedostatečně vyčištěné výrobní zařízení,
- pomalé chlazení chleba po upečení (nejkritičtější teplota je mezi 30 a 45 °C),
- nízká kyselost chleba (*Bacillus subtilis* a *Bacillus mesentericus* se množí nejlépe při neutrální reakci, růst je potlačován při kyselosti kolem pH 5,0),
- skladování chleba v teplé a vlhké atmosféře (optimální teplota pro vznik nitkovitosti je při teplotě 30 – 35 °C). Nitkovitost chleba tudíž může být způsobena mimo jiné právě nedostatečným propečením pekařských výrobků. Nitkovitost chleba sice nemůže v zásadě nijak ohrozit zdravý spotřebitele, je však závažným jakostním nedostatkem [32].

3.7 Plesnivění

Plesnivění chleba je způsobeno druhem plísní, jejichž růst je podporovaný příznivými podmínkami v některých prostorech pekáren, kde je optimální kombinace vlhkosti a teploty. Plísně se vyskytují u vysoce vlhkého a středně vlhkého pekařského výrobku na povrchu, kde způsobují značné škody a výrobek je nepoživatelný [33, 34, 35]. Pečení ničí většinu forem. Nicméně, během chlazení, balení a skladování může dojít k opětovné kontaminaci [36].

Jednou z možností redukování růstu plísní je použití plísňových inhibitorů jako jsou propionáty, sorbáty či benzoany, jejichž aplikace ale vyžaduje zásah do receptury a technologického postupu. Tomu je možno se vyhnout použitím vhodného obalového materiálu a způsobu balení [31].

Vzhledem k tomu, že plísně jsou přísně aerobní, modifikovaná atmosféra obalu (MAP), zahrnující snížený obsah O₂ a zvýšený obsah CO₂ se zdá být adekvátním řešením [37, 38].

4 INDIKÁTOROVÉ MIKROORGANISMY JAKO UKAZATELE KVALITY PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ

4.1 Pozitivní působení mikroorganismů

Chleba, na který je zvyklý náš spotřebitel obsahuje poměrně vysoký podíl žitné mouky a nezakváší se droždím nýbrž přirozenou mikroflórou žitného mouky, kterou si pekárna připravuje ve formě řídkého žitného těsta – chlebového kvasu.

Mikroflóru žitných kvasů tvoří dvě skupiny mikroorganismů: kvasinky a mléčné bakterie [10].

4.1.1 Kvasinky

Chléb je definován také jako pekařský produkt vyrobený z jakýchkoliv obilovin s lepší chutí a texturou důsledkem přirozeného kvašení. Je zřejmé, že tato široká definice představuje velký výběr pečiva, které se liší ve složení, množství přísad a podmínek zpracování. I když některé z nich jsou kynuté spontánním kvašením, většina z nich má společné to, že se k základním surovinám přidávají kvasinky k zajištění reprodukovatelného procesu a zisku vysoce kvalitního pekařského výrobku [39].

Kvasinky jsou snad neznámějšími mikroorganismy, které slouží člověku od nepaměti. Nejznámější a průmyslově nejvíc používanými kvasinkami jsou kvasinky druhu *Sacharomyces cerevisiae* Hansen, které byly vyšlechtěny tak, aby v provozu poskytovaly maximální výtěžnost s optimálními vlastnostmi pro pekařské účely [40].

Kvasinky podstatně přispívají k typické chuti chleba přes tvorbu těkavých látek a aromatických prekurzorů v průběhu fermentace. To také ovlivňuje reologické vlastnosti těsta a rozvíjí strukturu střídy [39]. Tyto živé organismy mají schopnost přeměňovat přirozené cukry v mouce na oxid uhličitý, který právě způsobuje kynutí těsta a též etanol, který se při pečení vypaří. Čerstvé pekařské droždí obsahuje spoustu vitamínů, bílkovin a minerálů [6]. V technologii výroby pekařských směsí pro účely Armády České republiky se používá aktivní sušené droždí.

Aktivní sušené droždí

Aktivní sušené droždí, které je vyrobeno z kmene vybraných kvasnic, musí být odolné proti dehydrataci a následné rehydrataci [19]. Výhodou aktivního sušeného droždí je vysoká trvanlivost (6 měsíců až 1 rok), s malou ztrátou aktivity. Na trvanlivost aktivního sušeného droždí má vliv i obsah rezervních sacharidů, především trehalosy a glykogenu [40].

Nejběžnějším typem aktivního sušeného droždí je dehydratované droždí při nízkých teplotách, do vlhkosti 7,5 % - 8,5 %. Složení aktivního sušeného droždí je velmi podobné lisovanému droždí. Mohou být vyrobeny jako krátké tenké prameny, malé kuličky, malé granule nebo prášek, které jsou zabalené v pružných sáčcích. Pokud jsou kvasinky zabaleny v ochranné atmosféře dusíku nebo oxidu uhličitém a skladovány při pokojové teplotě ztrácejí asi 1 % své aktivity za měsíc. Pokud nebylo aktivní sušené droždí zabaleno v jedné z těchto inertních atmosfér, může ztráct až 8% své aktivity za měsíc [19].

4.1.2 Bakterie mléčného kvašení

Bakterie mléčného kvašení v žitném kvasu jsou jednak homofermentativní a jednak heterofermentativní. Homofermentativní bakterie (např. *Lactobacillus plantarum*) tvoří převážně kyselinu mléčnou. Kyselina mléčná spolu s dalšími organickými kyselinami, alkoholy, kypřícími plyny a těkavými látkami vytvářejí typické chlebové aroma. Kyselina mléčná s dalšími kyselinami chrání kvas před nežádoucí infekcí, zejména hnilobnými bakteriemi, zrychluje proces bobtnání bílkovin, vyvolává jejich částečnou peptizaci. Heterofermentativní bakterie vytváří mimo kyseliny mléčné široké spektrum dalších kyselin, z nichž významná je zejména kyselina octová a rovněž různé aldehydy a ketony. Žádoucí je homofermentativní průběh kvašení, protože zvýšený obsah kyseliny octové a dalších kyselin na úkor kyseliny mléčné způsobuje senzorické vady chleba [10].

4.2 Negativní působení mikroorganismů

4.2.1 Plísně a kvasinky

Množství kvasinek a plísní v mouce se běžně pohybuje okolo 1000 CFU/g. Představitelé hub v mouce jsou většinou zástupci rodu *Penicillium* a *Eurotium* a *Aspergillus candidus*. Houby nalezené v mouce se výrazně liší od těch v pšenici, z níž je mouka vyrobená, což prokazuje význam mlýna jako zdroj mikroorganismů. Kvasinky jsou důležité pouze

v případě, přilije-li se do mouky voda. Má-li mouka vlhkost vyšší jak 12 %, mohou se zde vyskytovat některé xerofilní houby [6].

Mykotoxiny jsou toxické sekundární metabolity toxinogenních plísní, tj. vláknitých toxinogenních hub. Patří mezi jedny z nejzávažnějších kontaminantů přírodního původu a jedná se o vysoce nebezpečné chemické látky známé svými toxickými účinky na zdraví člověka. Obilí obsahující mykotoxiny přechází i do mouky, přežívají ohřívací kroky, nebo jiné postupy, jejichž účelem je zabít houby.

Více jak 70 forem mykotoxinů bylo izolováno z mouky a chleba, 16 bylo rodu *Aspergillus*, 48 rodu *Penicillium* a šest zastupitelů jiných rodů. Patnáct ze 48 rodů *Penicillium* a jednoho z kmene *Aspergillus ochraceus* produkovaly mykotoxiny na laboratorních médiích [41]. Mykotoxiny nepředstavují zdravotní riziko v suché pekařské směsi, protože růst plísní nemůže nastat u produktů s nízkou vodní aktivitou [6].

4.2.2 Koliformní mikroorganismy

Koliformní bakterie jsou gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky z čeledi *Enterobacteriaceae*, zkvašující laktosu při 37 °C do 48 h za současné tvorby kyselin a plynu [42].

Kmeny patřící mezi koliformní bakterie jsou součástí střevní mikroflóry člověka a hospodářských zvířat a současně se vyskytují i ve vnějším prostředí. Patří sem *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* a zástupci rodů *Klebsiella* a *Citrobacter*. V potravinářské mikrobiologii mají význam jako indikátorové mikroorganismy. Jsou indikátory sekundární kontaminace potravin, indikátory správné sanitace technologického zařízení a náradí, a v pitné vodě jsou indikátorem její jakosti [43].

4.2.3 Sporotvorné mikroorganismy

Do této skupiny patří rody, které tvoří v buňce vždy jen jednu sporu. Tato spora se vyznačuje velkou odolností k vysokým teplotám, záření a jiným nepříznivým podmínkám. Do této skupiny zařazujeme rody *Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Sporolactobacillus*, *Sporasarcina*, *Oscillospira*.

Rod *Bacillus* je velmi rozsáhlý a v přírodě velmi rozšířený. Většina druhů má velmi aktivní amylytické enzymy, které štěpí škrob, řada druhů má pektolytické enzymy, které štěpí rostlinné pektiny, a většina druhů má velmi aktivní proteolytické enzymy, takže se

uplatňuje při aerobním a anaerobním rozkladu bílkovin. Některé druhy tvoří slizovitá pouzdra polysacharidové povahy (levany a dextransy), které způsobují nežádoucí nitkovitost pečiva a pšeničného chleba [29]. Mezi druhy způsobující nitkovitost chleba patří např. *Bacillus subtilis* a *Bacillus mesentericus*.

Bacillus cereus je přítomný v pšeničné mouce, ale obvykle ve velmi nízkých číslech [44]. Podle Kaura (1986) je hladina *Bacillus cereus* v mouce nízká a jen občas > 10/g. Tento organismus nemůže růst v sušené mouce, a proto nepředstavuje nebezpečí [45].

Rod *Clostridium* je obligátně anaerobní. Některé druhy mají silné proteolytické schopnosti a uplatňují se při anaerobním rozkladu bílkovin, jiné mají silné sacharolytické schopnosti a vedle jednoduchých cukrů využívají i oligosacharidy a škrob, některé druhy štěpí i celulosu [29].

4.3 Laboratorní vyšetření mikroorganismů v potravinách pomocí kultivačních metod

4.3.1 Stanovení celkového počtu mikroorganismů plotnovou metodou

Celkové počty mikroorganismů (CPM) jsou aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy (bakterie, kvasinky, plísňe) tvořící počítatelné kolonie, vyrostlé za podmínek specifikované normou. Tato skupina se nejvíce přibližuje absolutnímu celkovému počtu a nejlépe vystihuje stupeň mikrobiálního znečištění daného substrátu. Rozborem se nestanoví termofilní mikroorganismy, psychrotrofní mikroorganismy, striktní anaeroby, kultivačně náročné druhy a některé kvasinky a plísňe. CPM poskytuje základní informace o stupni mikrobiální kontaminace a rekontaminace surovin, hotových výrobků a prostředí provozoven. Z výsledků lze usuzovat na úroveň technologie a dodržování hygienických směrnic při výrobě, přepravě a uskladnění [43].

4.3.2 Stanovení počtu kvasinek a plísni plotnovou metodou

Kvasinky a plísně jsou mikroorganismy, které při aplikaci metody tvoří kolonie na selektivní půdě při 25 °C. Kvasinky a plísně mají pozitivní i negativní význam. Mohou být producenty mykotoxinů, původci kažení potravin nebo indikátorem mikrobiologické jakosti potravin. Vyznačují se významnou proteolytickou, lipolytickou a sacharolytickou aktivitou, někdy jsou termorezistentní [43].

4.3.3 Koliformní bakterie stanovené plotnovou metodou

Koliformní bakterie jsou bakterie, které při určité teplotě tvoří charakteristické kolonie v půdě s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučí a laktózou. 30 °C je pro účel technologický, 37 °C je pro vyšetření v souvislosti s ochranou zdraví lidí [43].

4.3.4 Sporotvorné mikroorganismy stanovené plotnovou metodou

Stanovení sporotvorných mikroorganismů je založeno na inaktivaci vegetativních buněk ve vyhřáté vodní lázni a inokulaci a inkubaci přežívajících spor. Spory některých druhů dokonce vyžadují tento teplotní šok, aby mohly dostatečně rychle vyklíčit během inkubace na živné půdě. Po inaktivaci je nutno vzorek ihned ochladit ve vodné lázni a to na cca 35 °C [46].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 MATERIÁL A METODIKA

5.1 Vzorčky určené pro Armádu České republiky

100% pekařské směsi

- chléb: **CH01** – pšenično-žitný chléb
CH03 – žitný chléb s dýňovými semínky
- běžné pečivo: **BP01** – běžné pečivo
- celozrnné pečivo: **CP03** – sojové pečivo
- jemné pečivo: **JP01** – jemné pečivo s 10% podílem tuku (pro výrobu vánoček, mazanců, makovek apod.)
- jemné pečivo: **JP02** – jemné pečivo s 18% podílem tuku (pro výrobu závinů, koláčů, šátečků apod.)

Hlavní přidané suroviny

Aktivní sušené droždí

- ze všech forem droždí je nejdolnější vůči teplu a vlhkosti vzduchu (FERMIPAN)

Sušený tuk

- sušený mléčný tuk (DP 211)

Vedlejší použité suroviny

Pšeničná mouka chlebová (T1050)

- na pomoučení ošatek a pracovních ploch

Žitná mouka chlebová (T930)

- na pomoučení ošatek a pracovních ploch

Komerční vzorek

Chléb slunečnicový - směs pro domácí pekárny

Složení: pšeničná mouka, žitná mouka, pšeničná sladová mouka, semínka slunečnice, kmín

Výrobce: ALFA mlýn a balárna Pouzdřany

5.2 Pomůcky a přístroje

- laboratorní sklo a mikrobiologické vybavení
- parní sterilátor H + P VARIOKLAV 75S, 135 S, Německo
- biologický termostat BT 120, Česká republika
- laboratorní inkubátor Memmert, Německo
- analytické váhy KERN 440-47N, Německo
- automatické pipety – Hirschmann (Německo), Nichipet EX (Japonsko)
- krokový homogenizátor – Seward Stomacher, Velká Británie
- třepačka – Heidolph ReaxTop, Německo
- vodní lázeň Memmert, Německo

5.3 Kultivační půdy a ředící roztok

5.3.1 Půda Plate Count Agar

Plate Count Agar (PCA) se používá pro stanovení počtu mikroorganismů v potravinách a ve vodě. Složení půdy odpovídá požadavkům ČSN ISO 4833, 2293, 7698, 17410 a ČSN P ISO/TS 26844.

Příprava PCA :

23,5 g půdy PCA (HIMEDIA, Indie) se naváží do 1000 ml destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Sterilizuje se v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Konečné pH (při 25°C) $7,0 \pm 0,2$

Složení PCA:	gram/litr
enzymatický hydrolyzát kaseinu	5,0
kvasničný extrakt	2,5
glukosa	1,0
agar	15,00

5.3.2 Půda Endo agar

Endo Agar se používá pro detekci a rozlišení laktosa-pozitivních a laktosa-negativních koliformních bakterií.

Příprava Endo Agar:

41,5 g Endo Agar (HIMEDIA, Indie) se naváží do 1000 ml destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Sterilizuje se v autoklávu při 121 °C po dobu 1 minut. Před naléváním do Petriho misek se důkladně promíchává. Konečné pH (při 25°C) $7,5 \pm 0,2$.

Složení Endo Agar:	gram/litr
masový pepton	10,0
laktosa	10,0
siřičitan sodný	2,5
hydrogenfosforečnan (di)draselný	3,5
basický fuchsin	0,5
agar	15,0

5.3.3 Kultivační půda Yeast Glukose Chloramphenicol

41,1 g Yeast Glukose Chloramphenicol (YGC) (BIO-RAD, Francie) se naváží a rozpustí v 1 litru destilované vody. Přivede se opatrně k varu. Steriluje se při 121 °C po dobu 15 minut. pH se upraví na hodnotu $6,6 \pm 0,2$. Poté se nechá médium vychladnout na 50 °C, pak se nalévá do Petriho misek. Petriho misky se skladují na suchém a chladném místě.

Složení YGC:	gram/litr
kvasničný extrakt	5,0
glukóza	20,0
chloramfenikol	0,1
agar	15,00

5.3.4 Fyziologický roztok

Fyziologický roztok se připraví rozpuštěním a smícháním 8,5g chloridu sodného v 1000 ml destilované vody, poté se připravený roztok steriluje při 121 °C po dobu 15 minut. Výsledná koncentrace chloridu sodného je 0,9 % v roztoku.

5.4 Postup mikrobiologického vyšetření

Mikrobiologické vyšetření mělo ověřit skladovatelnost a funkčnost 10-ti vzorků 100% pekařských směsí navrhovaných Univerzitou obrany ve spolupráci se společností IREKS ENZYMA.

Byl proveden skladovací pokus s následným mikrobiologickým vyšetřením se zaměřením na celkový počet mikroorganismů, počty koliformních mikroorganismů, počty sporotvorných mikroorganismů a počty kvasinek a plísní. Směsi byly navrženy pro potřeby stravování příslušníků Armády České republiky dislokovaných v podmínkách podnebí s pevninským tropickým typem, které je charakteristické suchým a velmi teplým klimatem, s velkými denními výkyvy teploty vzduchu. Stejně mikrobiologické vyšetření jsem pro srovnání učinila i u vzorku běžně se prodávající chlebové směsi pro domácí použití.

Klima pro 100% pekařské směsi bylo simulováno v inkubátorech a suchých skladech v délce:

- 1) 6 měsíců
- 2) 12 měsíců

Po uplynutí 6-ti měsíců bylo provedeno první mikrobiologické vyšetření 100% pekařských směsí. Po následujících celkově 12-ti měsících bylo provedeno druhé mikrobiologické vyšetření.

Mikrobiologické vyšetření probíhalo podle českých technických norem. Suspenze nebyla zalévána rozehrátou agarovou půdou, z důvodu časových a prostorových kapacit laboratoře, ale inokulována na povrchu tuhé půdy, což ve srovnání s technikou zalévání suspenze tuhou půdou má určité přednosti, např. morfologie vyrostlých kolonií je lépe rozpoznatelná [47].

5.4.1 Označení vzorku

Směsi byly označeny písmenem S v případě, že byly skladovány v suchém skladě, a písmenem I, pokud byly umístěny v inkubátoru. Dále potom hodnotou 100 nebo 150. Tyto hodnoty uvádí procentní vyjádření přítomnosti sušeného droždí oproti receptuře. (Tedy vzorky s hodnotou 100% neznamenají navýšení na dvojnásobné množství droždí,

nýbrž zachování původní receptury. Analogicky 150% přídavek droždí znamená jeho navýšení o jednu polovinu).

5.4.2 Skladovací pokus

100 % pekařské směsi byly po 3 kg rozváženy do papírových sáčků a umístěny na dobu 6. měsíců a 12. měsíců:

- do skladu potravin při běžné teplotě (suchý sklad, 20 °C), r. v. 70-75 %,
- do inkubátorů při teplotě 50 °C, r. v. 70-75 %.

5.4.3 První mikrobiologické vyšetření

V prvním mikrobiologickém vyšetření 100% pekařských směsí byly stanoveny:

- celkové počty mikroorganismů na PCA půdě
- počty koliformních mikroorganismů na Endově půdě
- počty kvasinek a plísní na půdě YGC
- sporotvorné mikroorganismy na PCA půdě

5.4.4 Druhé mikrobiologické vyšetření

V druhém mikrobiologickém vyšetření 100% pekařských směsí byly stanoveny:

- celkové počty mikroorganismů na PCA půdě
- počty koliformních mikroorganismů na Endově půdě
- počty kvasinek a plísní na půdě YGC
- sporotvorné mikroorganismy na PCA

+ mikrobiologické vyšetření běžně prodávané chlebové směsi pro domácí pekárny

6 POSTUP MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ 100% PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ

6.1 Příprava vzorku

6.1.1 Odběr vzorků sušených pekařských směsí

Odběr 100 % pekařských směsí byl proveden sterilními lžícemi do sterilních PE sáčků. Do sáčku s naváženým vzorkem byl přidán fyziologický roztok. Obsah PE sáčku byl homogenizován v poměru 1:9 v krokovém homogenizátoru po dobu 5 – ti minut. Mikroorganismy ve vzorku byly rovnoměrně rozptýleny po celém objemu vzorku.

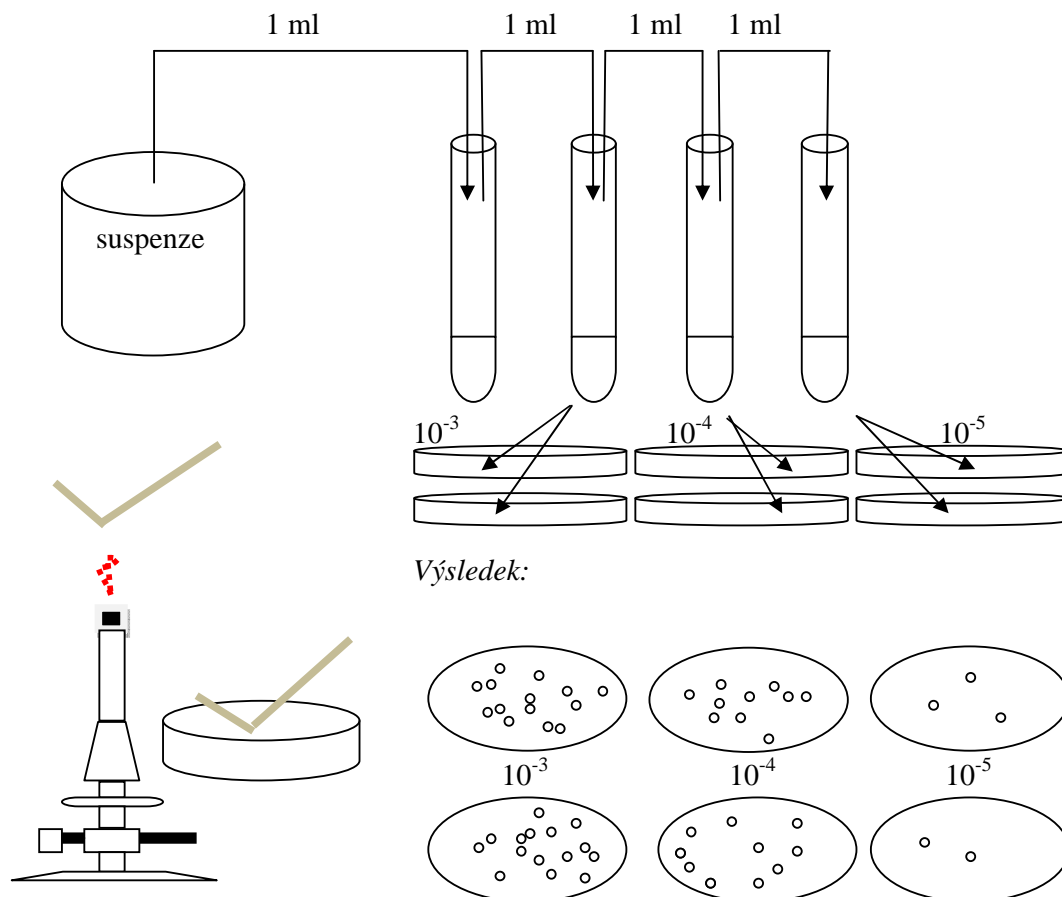
6.1.2 Ředění

Suspenzi bylo nutné před očkovaním na Petriho misky ředit. Účelem ředění bylo dosáhnout takové koncentrace mikroorganismů ve vzorku, aby na tuhém médiu vyrostly jednotlivé kolonie, které se nepřekrývají svými okraji a zároveň byly počítatelné. Špatně odhadnuté ředění by vedlo k nepřesnému celkovému stanovení mikroorganismů. Metoda vychází ze základního empiricky ověřeného předpokladu, že z 1 životaschopné buňky vyrůstá 1 kolonie. Pojmem "životaschopnost" se v tomto případě rozumí schopnost buňky vytvářet na agarovém živném mediu viditelné makroskopické kolonie [48]. Vezme-li se v úvahu objem zkoušeného podílu vzorku a počet vyrostlých kolonií, je výsledek vyjádřen jako počet kolonií tvořících jednotek v předem určené navážce vzorku (CFU/g).

6.1.3 Inokulace

Na předem připravené a popisovačem označené Petriho misky s příslušnou kultivační půdou byly sterilní pipetou inokulovány 0,1 ml suspenze, vždy 2 misky od každého ředění. Napipetovaný vzorek byl roztírán sterilní skleněnou hokejkou krouživým pohybem co nejrychleji a co nejrovnoměrněji po celém povrchu Petriho misky [48]. Bezprostředně po inokulaci byly Petriho misky obráceny dnem vzhůru, aby se vyhnulo případnému stékání zkondenzovaných par z víčka na kulturu, a výsledek by nešel vyhodnotit. Inokulované Petriho misky byly vloženy do termostatu s teplotou udržovanou ve vhodné výši [47].

Příprava vzorku a následná inokulace vzorku na Petriho misky je znázorněna na obrázku č. 4.



Obr. 4. Příprava vzorku [49].

6.1.4 Inkubace

Po inokulaci půdy byly mikroorganismy inkubovány při jejich optimální teplotě růstu. Pro kvantitativní a kvalitativní stanovení mikroorganismů v potravinách je pro každý druh normativně stanovena příslušná teplota inkubace.

6.2 Stanovení vzorku

6.2.1 Stanovení celkového počtu mikroorganismů plotnovou metodou

Pracovní postup

Pro mikrobiologická vyšetření 100% pekařských směsí byly použity předem dehydratované PCA půdy v Petriho misce o tloušťce nejméně 3 mm. Spodní strana Petriho misky byla označena číslem vzorku, stupněm ředění, datem. Vzorek ve zkumavce s příslušným ředěním byl nejdříve promíchán krouživým pohybem v třepačce po dobu 5 -10 s. Rotace byla zvolena tak, aby hladina vířící tekutiny dosahovala nejvýše 3 cm pod ústí zkumavky. Sterilní pipeta nebyla zanořena hlouběji než 1 cm. Z každého ředění bylo sterilní pipetou přeneseno 0,1 ml suspenze doprostřed dehydratované PCA půdy. Pro přenosy suspenze z každého naředěného vzorku byla použita jiná sterilní pipeta, s výjimkou práce, kdy se u jednotlivých vzorků postupovalo od nejvyššího ředění k nejnižšímu. Poté byla sterilní skleněnou hokejkou roztírána suspenze po povrchu dehydratované PCA půdy. Inokulované plotny se inkubovaly při teplotě 30 °C po dobu 72 hodin. Počty mikroorganismů v 1 g vzorku byly stanoveny tak, aby počty těchto kolonií poskytovaly hodnotitelný výsledek. Metoda stanovení nezachycuje počet všech metabolicky aktivních buněk, ale pouze tzv. kolonie tvořících jednotek na gram (CFU/g) [43, 47].

Po skončení inkubace byly pro výpočet použity Petriho misky obsahující ne více než 300 CFU/g ve dvou po sobě jdoucích ředěních. Je nutné, aby jedna z těchto misek obsahovala alespoň 15 kolonií [43].

6.2.2 Stanovení počtu koliformních mikroorganismů plotnovou metodou

Pracovní postup

Stanovení počtu koliformních mikroorganismů plotnovou metodou byl v souladu s českou technickou normou pro stanovení počtu koliformních bakterií. Pro stanovení koliformních mikroorganismů plotnovou metodou byla použita Endova půda. Pracovní postup probíhal podobně, jak v bodě 3. 5. 2. Inokulované plotny byly inkubovány při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Tato teplota byla zvolena pro vyšetření v souvislosti s ochranou zdraví lidí. Po skončení inkubace byly počítány charakteristické kolonie na miskách s 15-150 charakteristickými koloniemi [43, 50].

6.2.3 Stanovení počtu kvasinek a plísni plotnovou metodou

Pracovní postup

Pracovní postup byl podobný jak v bodě 3.5.2, jen pro stanovení počtu kvasinek a plísni bylo mikrobiologické vyšetření provedeno na selektivní agarová půdě s kvasničným extraktem, glukózou a chloramfenikolem, dle české technické normy pro stanovení počtu kvasinek a plísni. Inokulované Petriho misky byly inkubovány dnem vzhůru po dobu 5 dnů při teplotě 20 – 25 °C. Po skončení inkubace byly počítány zvlášť kvasinky a zvlášť plísně [43, 47, 51].

6.2.4 Stanovení počtu sporotvorných mikroorganismů plotnovou metodou

Pracovní postup

Stanovení počtu sporotvorných mikroorganismů plotnovou metodou byla založena na inaktivaci vegetativních buněk ve vyhřáté vodní lázni při 80 °C po dobu 10 minut a následné ochlazení. Postup inokulace probíhala na PCA půdě podle pracovního postupu v bodě 3. 5. 2. Inkubace přežitých spor byla při teplotě 30 °C po dobu 24 hodin [52].

6.3 Výpočty a vyjádření výsledků

Pro výpočet stanovení mikroorganismů se obecně použijí misky obsahující ne více než 300 kolonií ve dvou po sobě jdoucích ředěních. Pro správnost výsledků se obecně pokládá za nezbytné, aby jedna plotna obsahovala alespoň 10 kolonií. Počet mikroorganismů N na g výrobku se vypočte podle vzorce:

$$N = \frac{\sum C}{V \times (n_1 + 0,1 \times n_2) \times d} \rightarrow CFU / g$$

$\sum C$ součet všech kolonií spočítaných na vybraných plotnách

n_1 počet ploten použitých pro výpočet z prvního ředění

n_2 počet ploten použitých pro výpočet z druhého ředění

d faktor prvního pro výpočet použitého ředění

V objem suspenze v ml vneseného do každé Petriho misky

Výsledek se vyjádří jako počet mikroorganismů na g výrobku jako číslo 1,0 až 9,9 násobené 10^x , kde x je příslušná mocnina 10 [47, 50, 51, 53].

7 VÝSLEDKY PRVNÍHO MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ 100% PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ PO 6. MĚSÍCÍCH SKLADOVÁNÍ

Tab. 4. Výsledky celkového počtu mikroorganismů při 1. mikrobiologickém vyšetření po 6. měsících skladování.

VZOREK	CPM (CFU/g)
SCP03 100	$8,0 \times 10^6$
SCH03 100	$1,8 \times 10^4$
SCH03 150	$5,9 \times 10^7$
SCP03 150	$1,2 \times 10^7$
SJP01 100	$4,5 \times 10^5$
SJP02 100	0
SCH01 150	$3,2 \times 10^8$
SCH01 100	0
IJP01 100	0
IBP01 150	0

Tab. 5. Výsledky pro počty koliformních mikroorganismů při 1. mikrobiologickém vyšetření po 6. měsících skladování.

VZOREK	KOLIFORMNÍ MIKROORGANISMY (CFU/g)
SCP03 100	0
SCH03 100	0
SCH03 150	0
SCP03 150	0
SJP01 100	0
SJP02 100	0
SCH01 150	0
SCH01 100	0
IJP01 100	0
IBP01 150	0

Tab. 6. Výsledky počtů kvasinek při 1. mikrobiologickém vyšetření po 6. měsících skladování.

VZOREK	KVASINKY (CFU/g)
SCP03 100	$1,6 \times 10^7$
SCH03 100	$7,9 \times 10^6$
SCH03 150	$1,3 \times 10^7$
SCP03 150	$9,2 \times 10^6$
SJP01 100	$1,3 \times 10^7$
SJP02 100	$2,6 \times 10^4$
SCH01 150	$1,4 \times 10^7$
SCH01 100	$6,5 \times 10^6$
IJP01 100	0
IBP01 150	0

Tab. 7. Výsledky počtu plísní při 1. mikrobiologickém vyšetření po 6. měsících skladování.

VZOREK	PLÍSNĚ (CFU/g)
SCP03 100	0
SCH03 100	0
SCH03 150	0
SCP03 150	0
SJP01 100	0
SJP02 100	0
SCH01 150	0
SCH01 100	0
IJP01 100	0
IBP01 150	0

Tab. 8. Výsledky počtů sporotvorných mikroorganismů při 1. mikrobiologickém vyšetření po 6. měsících skladování.

VZOREK	SPOROTVORNÉ MIKROORGANISMY (CFU/g)
SCP03 100	0
SCH03 100	0
SCH03 150	0
SCP03 150	0
SJP01 100	0
SJP02 100	0
SCH01 150	0
SCH01 100	0
IJP01 100	0
IBP01 150	0

8 VÝSLEDKY DRUHÉHO MIKROBIOLOGICKÉHO VYŠETŘENÍ 100% PEKAŘSKÝCH SMĚSÍ PO 12. MĚSÍCÍCH SKLADOVÁNÍ

Tab. 9. Výsledky celkových počtů mikroorganismů při 2. mikrobiologickém vyšetření po 12. měsících skladování.

VZOREK	CPM (CFU/g)
SCP03 100	$9,1 \times 10^5$
SCH03 100	$6,6 \times 10^5$
SCH03 150	$1,2 \times 10^6$
SCP03 150	$3,1 \times 10^6$
SJP01 100	$1,8 \times 10^6$
SJP02 100	$6,4 \times 10^4$
SCH01 150	$6,1 \times 10^5$
SCH01 100	$1,4 \times 10^6$
IJP01 100	0
IBP01 150	0

Tab. 10. Výsledky počtů koliformních mikroorganismů při 2. mikrobiologickém vyšetření po 12 měsících skladování.

VZOREK	KOLIFORMNÍ MIKROORGANISMY (CFU/g)
SCP03 100	0
SCH03 100	0
SCH03 150	0
SCP03 150	0
SJP01 100	0
SJP02 100	0
SCH01 150	0
SCH01 100	0
IJP01 100	0
IBP01 150	0

Tab. 11. Výsledky počtů kvasinek při 2. mikrobiologickém vyšetření po 12. měsících skladování.

VZOREK	KVASINKY (CFU/g)
SCP03 100	$2,3 \times 10^5$
SCH03 100	$1,4 \times 10^5$
SCH03 150	$2,9 \times 10^5$
SCP03 150	$3,8 \times 10^5$
SJP01 100	$2,1 \times 10^5$
SJP02 100	0
SCH01 150	$1,7 \times 10^5$
SCH01 100	$1,2 \times 10^5$
IJP01 100	0
IBP01 150	0

Tab. 12. Výsledky počtů plísní při 2. mikrobiologickém vyšetření po 12. měsících skladování.

VZOREK	PLÍSNĚ (CFU/g)
SCP03 100	0
SCH03 100	0
SCH03 150	0
SCP03 150	0
SJP01 100	0
SJP02 100	0
SCH01 150	0
SCH01 100	0
IJP01 100	0
IBP01 150	0

Tab. 13. Výsledky počtů sporotvorných mikroorganismů při 2. mikrobiologickém vyšetření po 12. měsících skladování.

VZOREK	SPOROTVORNÉ MIKROORGANISMY (CFU/g)
SCP03 100	120
SCH03 100	160
SCH03 150	100
SCP03 150	0
SJP01 100	200
SJP02 100	$2,0 \times 10^3$
SCH01 150	0
SCH01 100	10
IJP01 100	50
IBP01 150	0

Tab. 14. Výsledky mikrobiologického vyšetření pekařské směsi určené pro domácí pekárny.

Mikrobiologické vyšetření CFU/g	Slunečnicový chléb
CPM	$4,3 \times 10^5$
Koliformní mikroorganismy	$3,8 \times 10^4$
Kvasinky	0
Plísně	$3,2 \times 10^3$
Sporotvorné mikroorganismy	20

9 DISKUZE

Určení množství mikroorganismů v potravinách je důležitým aspektem potravinářské mikrobiologie. Mikroflóra pekařských směsí se v průběhu jejich zpracování a tudíž i skladování mění. Byly vytipovány mikroorganismy a jejich limity informující o mikrobiologickém stavu a procesech probíhajících v potravinách [49].

Indikátorové mikroorganismy poukazují na možnost výskytu patogenních mikroorganismů. Musí se ve vzorcích zjišťovat lehce, rychle a lacino standardizovanými metodami. Obiloviny a obilné výrobky jsou bohatým zdrojem živin pro růst mikroorganismů. Snížená aktivita vody v obilovinách a v obilných výrobcích zabraňuje růstu většiny bakterií. Plísně jsou více tolerantní k snížené aktivitě vody, než bakterie. Plísně mohou růst a způsobit zkažení v široké škále produktů z obilovin. Další významnou schopností plísní je produkce mykotoxinů před sklizní, při sušení nebo při nevhodném sušení a skladování obilovin [6].

Zrna určená k mletí jsou vystavena řadě čistění a aspiračním krokům před kondicionáním. Tyto kroky snižují mikrobiální úroveň znečištění zrna při vstupu do šrotování. Nicméně, podle Eyles a kol. (1989) analýza pěti australských vzorků zjistila, že ani praní pšeničných zrn výrazně nesníží počet mikrobiologických kolonií v pšeničné mouce [44].

Zdravá, čistá zrna, zejména těch, které jsou řádně zpracovaná, obsahují málo mikroorganismů. Nicméně, kontakt s mlýnským zařízením představuje riziko kontaminace, které je ovlivněno stupněm čistoty. Existuje tedy vzájemný vztah mezi mikrobiální úrovní v produktu a mlýnským technologickým procesem. Vysoké riziko sekundární kontaminace existuje ve špatně udržovaných mlýnech, a to až na $3,4 \times 10^6$ CFU/g zbytku mouky na zařízení [54] a až na 10^8 CFU/g v mlýnu [55].

Mouka s vlhkostí $\leq 12\%$ nebude podporovat růst mikroorganismů [56]. Přesto, voda z jakéhokoliv zdroje bude podporovat růst mikroorganismů ve zbytcích hladké mouky v mlýně na strojním zařízení. Tyto zbytky mohou vznikat z vysoké vlhkosti vzduchu, z kondenzátu na chladném povrchu, z nevhodných čistících postupů [56, 57], nebo z činnosti hmyzu [20].

Cílem diplomové práce bylo vyšetřit a zhodnotit mikrobiologickou kvalitu sušených 100% pekařských směsí navrženou Univerzitou obrany ve spolupráci se společností IREKS ENZYMA. Pro mikrobiologické vyšetření byly zvoleny standardní plotnové metody, kde suspenze byly inokulovány na povrch agarových půd v souladu s českými technickými

normami. U jednotlivých pekařských vzorků byly vyšetřeny celkové počty mikroorganismů, kvasinek a plísně, koliformní a sporotvorné mikroorganismy. Výsledky prvního i druhého mikrobiologického vyšetření byly zaznamenány do tabulek č. 4 až č. 13.

Vzorky byly označeny písmeny S a I. Písmenem S v případě, že byly skladovány v suchém skladě při teplotě 20 °C, a písmenem I, pokud byly umístěny v inkubátoru při teplotě 50 °C. Dále hodnotou 100 a 150. Tyto hodnoty uvádí procentní vyjádření přítomnosti aktivního sušeného droždí v původní receptuře. První mikrobiologické vyšetření proběhlo po 6. měsících a druhé mikrobiologické vyšetření proběhlo po celkově 12. měsících. Z uvedených tabulek pro stanovení celkového počtu mikroorganismů a kvasinek, v prvním i druhém mikrobiologickém vyšetření vyplývá, že hodnoty dosahovaly až několika tisíc mikroorganismů v 1 gramu vzorku (řádově od 10^4 do 10^8 CFU/g). Sporotvorné mikroorganismy dosahovaly v druhém mikrobiologickém vyšetření řádově od 10^1 do 10^3 CFU/g.

Byly srovnány celkové počty mikroorganismů (viz Tab. 4. a Tab. 9) chlebového těsta, běžného pečiva, celozrnného pečiva, jemného pečiva s 10 % obsahem tuku a jemného pečiva s 18 % obsahem tuku v prvním a druhém mikrobiologickém vyšetření 100% pekařských směsí. Výsledky těchto pekařských směsí se značně lišily. Vzorek pšenično-žitného chleba skladován v suchém skladu s obsahem kvasinek 100 % značen SCP03 100 měl v prvním mikrobiologickém vyšetření celkový počet mikroorganismů 8×10^6 CFU/g a v druhém $9,1 \times 10^5$ CFU/g, což je o řád nižší. Nejvyšší obsah celkového počtu mikroorganismů měl vzorek pšenično-žitného chleba značen SCH01 100 s hodnotou $3,2 \times 10^8$ CFU/g a v druhém mikrobiologickém měl tuto hodnotu o tři řády nižší. Podobné výsledky byly i u ostatních pekařských vzorků. Pokles celkových počtů mikroorganismů mohl být způsoben nepříznivými skladovacími podmínkami, nebo vyčerpanými živinami pro mikroorganismy.

Výjimkou byla 100% pekařská směs žitného chleba s dýňovými semínky SCH03 100, skladována v suchém skladu se 100% obsahem kvasinek, která měla v druhém mikrobiologickém vyšetření obsah mikroorganismů o řád vyšší $6,6 \times 10^5$ CFU/g, nežli v prvním mikrobiologickém vyšetření $1,8 \times 10^4$ CFU/g. Tato skutečnost mohla být zapříčiněna přirozenou mikroflórou žitné mouky, které se i za těchto podmínek může množit. Další možností je i sekundární kontaminace vzorku z vnějšího prostředí. Výjimkou bylo i jemné pečivo s 18% podílem tuku pro výrobu závinů, koláčů, mazanců, makovek apod.

s obsahem 100 % kvasinek značen SJP02 100, které bylo skladováno v suchém skladě při teplotě 20°C, mělo v prvním mikrobiologickém vyšetření celkové počty mikroorganismů 0 CFU/g a v druhém mikrobiologickém vyšetření byl nárůst celkových počtů mikroorganismů o několik řádů vyšší $6,4 \times 10^4$ CFU/g. Pšenično - žitný chléb s obsahem kvasinek 100% skladován při 20°C značen SCH01 100 měl v prvním mikrobiologickém vyšetření celkové počty kolonií tvořících jednotek 0 CFU/g a v druhém měl celkové počty mikroorganismů $1,4 \times 10^6$ CFU/g. Zvýšení celkových počtů mikroorganismů vzorku SJP02 100 a SCH01 100 v druhém mikrobiologickém vyšetření poukazuje na možnou kontaminaci při 1. odběru vzorku, nebo mohlo dojít k sekundární kontaminaci směsi z vnějšího prostředí v průběhu následujícího 6. měsíčního uskladnění v suchém skladu.

Vzorky jemného pečiva s 10% podílem tuku a 100% obsahem kvasinek značen v Tab. 4 jako IJP01 100 a běžné pečivo s 150% obsahem kvasinek značen IBP01 150 byly skladovány v inkubátoru při teplotě 50 °C. Tyto vzorky měly v prvním i druhém mikrobiologickém vyšetření pro stanovení celkového počtu mikroorganismů 0 CFU/g. 50°C teplota v inkubátoru byla pro mikroorganismy smrtelná.

Výsledky pro počty koliformních mikroorganismů (viz Tab. 5 a Tab. 10) byly negativní při prvním i druhém mikrobiologickém vyšetření 100% pekařských směsí, z čehož se dá usuzovat, že stav hygieny při výrobě a distribuci 100% pekařských směsí byla vyhovující.

Výsledky vyšetření počtu kvasinek (viz Tab. 6 a Tab. 11) byly pozitivní v prvním i druhém mikrobiologickém vyšetření 100% pekařských směsí, což ověřuje vhodnost technologie zpracování aktivních sušených kvasnic do směsi. K sušeným pekařským směsím byly přidávány kvasinky v různém procentuálním poměru oproti receptuře (100 % a 150 %). Kvasinky v prvním mikrobiologickém vyšetření se u pekařských vzorků se 150% obsahem pohybovaly v řádech 10^7 CFU/g, u vzorku se 100% obsahem kvasinek se hodnoty pohybovaly v řádu 10^6 CFU/g. V druhém mikrobiologickém vyšetření se hodnoty všech vzorků bez rozdílu obsahu kvasinek snížily na obsah kvasinek 10^5 CFU/g. U vzorku jemného pečiva s 18% podílem tuku skladován v suchém skladu při teplotě 20°C značen SJP02 100 byly hodnoty kvasinek $2,6 \times 10^4$ CFU/g a v druhém mikrobiologickém vyšetření nabyly hodnoty 0 CFU/g. Nebyla nalezena příčina tohoto výsledku.

Vzorky IJP01 100 a IBP01 150 měly počty kvasinek v prvním i druhém mikrobiologickém vyšetření 0 CFU/g. Teplota 50°C je pro kvasinky nevhovující.

Výsledky pro stanovení počtu plísní (Tab. 7 a Tab. 12) na půdě YGC byly také negativní v prvním i druhém mikrobiologickém vyšetření 100% pekařských směsí. Nepřítomnost plísní byla způsobena vhodným uskladněním, bez vlhkosti a kontaminace plísněmi.

Stanovení sporotvorných mikroorganismů je založené na inaktivaci vegetativních mikroorganismů ve vodní lázni při teplotě 80°C po dobu 10 minut a následném ochlazení a inokulaci na povrch agarové půdy [52]. Výsledky sporotvorných mikroorganismů z prvního mikrobiologického vyšetření jsou zaznačeny v Tab. 8 a měly hodnoty 0 CFU/g. Výsledky z druhého mikrobiologického vyšetření jsou značeny v Tab. 13. Nejvyšší obsah sporotvorných mikroorganismů byl u vzorku SJP02 100, což je jemné pečivo s 18% podílem tuku pro výrobu závinů, koláčů, šátečků apod., který měl 2×10^3 CFU/g. Následoval vzorek SJP01 100, který měl 200 CFU/g, což je vzorek jemného pečiva s 10% obsahem tuku, poté žitný chléb s dýňovými semínky SCH03 100 s 160 CFU/g. Dále vzorek celozrnného sojového pečiva SCP03 100 s 120 CFU/g, SCH03 150 s počtem sporotvorných mikroorganismů 100 CFU/g, vzorek SCH01 100 měl 10 CFU/g a vzorek IJP01 100 měl 50 CFU/g. 0 CFU/g měly vzorky SCPO3 150, SCH1 150, IBPO1 150. Takto vysoký obsah sporotvorných mikroorganismů u vzorků SJP02 100 a SJP01 100 mohl být způsoben možnou kontaminací sušeným mléčným tukem, protože počty se zvyšovaly s obsahem tohoto tuku. U vzorku SCH03 100 mohl být možným zdrojem kontaminace dýňové semínko, u vzorku SCP03 100 a SCH03 150 různé druhy přidaných zrn, nebo sója. U vzorku IJP01 100 je zřejmé, že spory mikroorganismů přežívají i vyšší teplotu uskladnění, která byla v tomto případě 50 °C.

Výsledky 100% sušených pekařských směsí byly rekapitulovány do Tab. 15.

Tab. 15. Rekapitulace výsledků 100% pekařských směsí

VZOREK (CFU/g)	Mikrobiologické vyšetření 100% pekařských směsí					
	CPM		Kvasinky		Sporotvorné	
	6. měs.	12. měs.	6. měs.	12. měs.	6. měs.	12. měs.
SCP03 100	$8,0 \times 10^6$	$9,1 \times 10^5$	$1,6 \times 10^7$	$2,3 \times 10^5$	0	120
SCH03 100	$1,8 \times 10^4$	$6,6 \times 10^5$	$7,9 \times 10^6$	$1,4 \times 10^5$	0	160
SCH03 150	$5,9 \times 10^7$	$1,2 \times 10^6$	$1,3 \times 10^7$	$2,9 \times 10^5$	0	100
SCP03 150	$1,2 \times 10^7$	$3,1 \times 10^6$	$9,2 \times 10^6$	$3,8 \times 10^5$	0	0
SJP01 100	$4,5 \times 10^5$	$1,8 \times 10^6$	$1,3 \times 10^7$	$2,1 \times 10^5$	0	200
SJP02 100	0	$6,4 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$	0	0	$2,0 \times 10^3$
SCH01 150	$3,2 \times 10^8$	$6,1 \times 10^5$	$1,4 \times 10^7$	$1,7 \times 10^5$	0	0
SCH01 100	0	$1,4 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$	$1,2 \times 10^5$	0	10
IJP01 100	0	0	0	0	0	50
IBP01 150	0	0	0	0	0	0

Srovnání s komerčním výrobkem

Pro ilustraci byla náhodně vybrána a zakoupena pekařská směs slunečnicového chleba určena pro domácí pekárny, do nichž nebyly v rámci receptury přidány pekařské kvasinky. U tohoto vzorku byly vyšetřeny celkové počty mikroorganismů, kvasinek a plísňí, koliformních a sporotvorných mikroorganismů viz Tab. 14.

Celkové počty mikroorganismů u vzorku pro domácí pekárny byly $4,3 \times 10^5$ CFU/g. Tyto počty CFU/g byly shodné s pekařskými směsmi Armády České republiky.

Koliformní mikroorganismy jsou ukazateli sekundárního znečištění z vnějšího prostředí, indikátory správné sanitace technologického zařízení a náradí [34]. U komerčního vzorku slunečnicového chleba dosahovaly hodnot až $3,8 \times 10^4$ CFU/g.

Kvasinky měly hodnoty 0 CFU/g, což souhlasí s deklarovaným složením na obalu výrobku. Do výrobku se kvasinky přidávají těsně před výrobou slunečnicového chleba.

Plísně měly hodnotu $3,2 \times 10^3$ CFU/g.

Sporotvorné mikroorganismy byly taktéž přítomny, a to v množství 20 CFU/g.

Jelikož bylo provedeno mikrobiologické vyšetření pouze u jednoho běžně se prodávajícího výrobku pekařské směsi, nelze tomu výsledku přikládat příliš velkou váhu. Nekvalitní ingredience, špatná hygiena, kontaminaci, a nesprávné zacházení s touto pekařskou směsí může mít za následek takto vysoké hodnoty mikroorganismů.

Ve srovnání s pekařskými směsmi určené pro Armádu České republiky lze posoudit, že hygienická a technologická kvalita výroby pekařských směsí byla na vyšší úrovni. Zachování vysoké hygienické kvality 100% pekařských směsí určené pro Armádu České republiky je důležité, z důvodu potřeby delšího skladování pekařské směsi v nepříznivých podmínkách. Technologická kvalita 100% pekařských směsí je i po 12-ti měsících skladování zachována a kvasinky jsou stále aktivní pro pekařský pokus.

V České republice zatím není vyhláška, která by stanovovala maximální přípustné hodnoty mikroorganismů pro sušené pekařské směsi obsahující aktivní sušené droždí, ale pouze vyhláška 132/2004 Sb. o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsoby jejich kontroly a hodnocení zaměřující se na pekařské a jiné výrobky. Sušené pekařské výrobky nepatří do skupiny potravin určené k přímé spotřebě a nejsou v kategorii mikrobiologicky rizikových potravin, jako je např. mléko a mléčné výrobky. Bezpečnost pekařských směsí a následně pekařských výrobků musí být zajištěna zejména dodržáním stanovených technologických postupů (správné výrobní praxe), správné hygienické praxe a uplatněním systému kritických kontrolních bodů [58].

Vedení chlebových těst pomocí prefermentačních stupňů tj. žitných kvasů je osvědčený a spolehlivý způsob přípravy těst. Rovněž kvalita těsta při tomto způsobu a použití žitné mouky bývá vyšší než u žitnopšeničných těst vedených „na záraz“. Tento způsob je však nejméně vhodný pro polní podmínky. Navržený způsob vedení těsta byl zvolen tzv. „na záraz“, dle technologických doporučení firmy ENZYMA STAMAG. Použita byla žitná a pšeničná mouka v poměru 60:40 včetně zlepšujících a okyselujících přípravků [4].

Technologický postup výroby chleba se skládá z těchto dílčích operací:

- smísení surovin, včetně vody a jejich důkladné vyhnětení20 minut,
- zrání těst (prokynutí a nakypření)30 minut,
- tvarování těsta20 minut,
- dokynutí těsta ve formách10 minut,
- sázení do pece a pečení chleba50 minut.

Technologie výroby chlebového těsta navržené firmou ENZYMA STAMAG má tyto výhody:

- pomocí zlepšujících a okyselujících přípravků je zabezpečena standardní jakost vyráběného chleba. Zlepšujícími přípravky vylepšíme technologickou jakost mouky na potřebné parametry. V opačném případě musíme často pracovat s moukou, jejíž pekařské vlastnosti jsou nevyhovující a jiné řešení není možné,
- časová náročnost výroby chlebového těsta a chleba je podstatně kratší. Vyzkoušená technologie umožní výrobu finálního výrobku chleba do 2,5 hodiny po zahájení výroby, což představuje zkrácení výroby asi o 40 %,
- lze pružně reagovat na přerušení výroby a případné ztráty vzniklé likvidací rozpracovaných těst jsou nižší,
- zlepšující přípravky obsahující základní složku zákysu tj. enzymy případně mikroorganismy v koncentrované formě což plně nahradí vlastní funkci zákysu,
- typická chuť a vůně chleba, která je ovlivněna správným prokysáním těsta, tj. kvašením vytvořenou kyselinou mléčnou a etanolem (příp. podpořena dalšími organickými kyselinami jako je octová kyselina) je garantována přidavkem okyselujícího přípravku, v němž je kyselina octová obsažena.
- široký sortiment přípravku umožňuje operativně upravovat recepturu a sortiment vyráběného chleba a eliminovat případné jakostní a technologické nedostatky použitých surovin,

- existuje vysoká garance dosahování standardní jakosti výroby,
- zjednodušení technologie klade nižší nároky na odborné znalosti a počty personálu [59],
- pro výrobu chlebového těsta je možno použít další modifikované způsoby výroby chlebového těsta „na záraz“, které uvádí Palásek [60],
- vyšší výtěžnost výroby až o 10%, což znamená vyšší ekonomickou efektivitu [4].

Nevýhody využití uvedené technologie výroby chlebového těsta a chleba jsou následující:

- vyšší nároky na surovinové zabezpečení a udržování jejich zásob,
- nutnost přesného dodržování technologických postupů a recepturní skladby potravin [4].

Po upečení pekařských výrobků dochází k řadě změn, které přispívají ke zkáze výrobku. Pro zvýšení trvanlivosti pekařských výrobků se používá tzv. modifikovaná atmosféra v obalu (MAP). Jenomže, několik studií prokázalo, že plísně mohou růst v přítomnosti zvýšeného obsahu CO_2 a minimálního obsahu O_2 [61, 62]. Bylo prokázáno, že plísně mohou tolerovat, a dokonce rostou při minimální koncentraci kyslíku od 1% do 2% [63]. Proto, je nutné odstranit O_2 rychle a kompletně [64]. Ačkoliv MAP může být využita k prodloužení skladovatelnosti a udržet kvalitu potravin, může docházet k aerobnímu zkažení balených výrobků, v závislosti na výši zbytkového O_2 v balení. Toto zbytkové množství může být způsobeno řadou faktorů např. propustností obalového materiálu, únikem vzduchu přes špatně podlepené švy atd. [65]. Vysoce porézní textura pekárenských výrobků neumožňuje úplné odstranění O_2 [66]. Proto existují tzv. aktivní obaly (AP), které obsahují chemické látky v obalovém materiálu, díky nimž se prodlouží trvanlivost a zvýší se bezpečnost potravin [67, 68].

Jednou z možností je využít materiál pohlcující O_2 tzv. absorbér O_2 , který je v rámci balíčku na snížení koncentrace O_2 [69]. Tyto materiály umístěny uvnitř balení, aktivně mění prostředí v balení a snižuje úroveň O_2 na méně než 0,01% na 1 až 4 dny při pokojové teplotě [65]. Salminen a další (1996) provedly test na krajici chleba s tímto absorbérem O_2 a bylo zjištěno, že mikrobiální trvanlivost plátku chleba se zvýšila.

Koncentrace O_2 v obalu klesla pod 0,1% během několika dnů. Zdá se, že absorbéry O_2 nemají žádný vliv na sensorickou kvalitu chleba během skladování [70].

V různých zemích se AP již úspěšně uplatňují. V Evropě je vývoj a aplikace této technologie omezen z důvodu legislativních omezení, strachu spotřebitelů apod. [67]. Kromě CO_2 je možné použít i dusík [33].

ZÁVĚR

V diplomové práci byla vyšetřena mikrobiologická kvalita 100% sušených pekařských směsí navrhovaná Univerzitou obrany ve spolupráci se společností IREKS ENZYMA. Analyzováno bylo deset vzorků 100% pekařské směsi. Ke každému z těchto vzorků bylo přidáno aktivní sušené droždí, a to ve výši 100 %, nebo 150 %. Tyto hodnoty uvádí procentní vyjádření přítomnosti sušeného droždí oproti receptuře. Vzorky s hodnotou 100 % neznamenaají navýšení na dvojnásobné množství droždí, nýbrž zachování původní receptury. Analogicky 150 % přídavek droždí znamená jeho navýšení o jednu polovinu. Takto obohacené pekařské vzorky o sušené pekařské droždí byly po 3kg rozváženy do papírových sáčků a skladovány při teplotě 20 °C v suchém skladu a při teplotě 50 °C v inkubátoru. První mikrobiologické vyšetření 100% sušených pekařských směsí proběhlo po šesti měsících a druhé mikrobiologické vyšetření 100% pekařských směsí probíhalo celkově po dvanácti měsících. Po uplynutí prvního šestiměsíčního intervalu byly stanoveny celkové počty mikroorganismů, kvasinek a plísní, koliformních a sporotvorných mikroorganismů. První i druhé mikrobiologické vyšetření bylo provedeno standardními metodami inokulace na povrch agarových pūd v souladu s českými technickými normami. Po uplynutí následujících celkově dvanácti měsíců byl navíc vyšetřen i komerční vzorek pekařské směsi pro domácí pekárny. Výsledky jsou vyjádřeny jako tzv. kolonie tvořící jednotky na gram (CFU/g).

Výsledek celkového počtu mikroorganismů poskytoval základní informace o stupni mikrobiální kontaminace a rekontaminace pekařské směsi. V prvním mikrobiologickém vyšetření celkový počet mikroorganismů dosahoval řádově od 10^4 do 10^8 CFU/g. V druhém mikrobiologickém vyšetření došlo k poklesu mikroorganismů o jeden řád, viz Tab. 15. Výjimkou byl vzorek jemného pečiva s 10 % obsahem tuku SJP02 100, který měl v prvním mikrobiologickém vyšetření celkový počet mikroorganismů 0 CFU/g a v druhém mikrobiologickém vyšetření měl $6,4 \times 10^4$ CFU/g, což mohlo být zapříčiněno i kontaminací při prvním odběru vzorku, nebo mohlo dojít k sekundární kontaminaci směsi z vnějšího prostředí v průběhu následujícího 6. měsíčního uskladnění v suchém skladu.

Aktivita kvasinek v průběhu skladování klesala, viz Tab. 15. Výjimkou byl vzorek SJP02 100, který měl v prvním mikrobiologickém vyšetření počty kvasinek $2,6 \times 10^4$ CFU/g a v druhém mikrobiologickém vyšetření 0 CFU/g. Nebyla nalezena příčina tohoto výsledku.

Počet koliformních mikroorganismů a plísní byl ve všech případech negativní, z čehož vyplývá, že hygienická a technologická kvalita výroby a distribuce 100% pekařských směsí je vyhovující.

V prvním mikrobiologickém vyšetření byly počty sporotvorných mikroorganismů 0 CFU/g. V druhém mikrobiologickém vyšetření byly odečteny sporotvorné mikroorganismy řádově od 10^1 do 10^3 CFU/g. U vzorku SJP02 100 byl výsledek sporotvorných mikroorganismů řádově nejvyšší a to 2×10^3 CFU/g, viz Tab. 15.

Mikrobiologická kvalita 100% sušených směsí určená pro Armádu České republiky byla podrobena srovnání s mikrobiologickou kvalitou pekařské směsi pro domácí pekárny. Pro tuto zkoušku byla náhodně vybrána běžně se prodávající pekařská směs pro výrobu slunečnicového chleba od firmy ALFA mlýn a balárna Pouzdřany a podrobena stejnému mikrobiologickému vyšetření jako pekařské směsi určené pro Armádu. Rozdíl mezi pekařskými směsmi určenými pro účely Armády České republiky a běžnou pekařskou směsí pro domácí pekárny spočíval v nepřítomnosti aktivních sušených kvasnic přímo ve směsi. Této skutečnosti odpovídal i výsledek kvasinek, který měla komerční pekařská směs 0 CFU/g, viz Tab. 14. Celkové počty mikroorganismů byly $4,3 \times 10^5$ CFU/g. Koliformní mikroorganismy se pohybovaly v řádech $3,8 \times 10^3$ CFU/g, plísně $3,2 \times 10^3$ CFU/g, sporotvorné mikroorganismy 20 CFU/g.

Srovnání mikrobiologických výsledků 100% pekařských směsí určené Armádě České republiky a výsledků běžné pekařské směsi určené pro domácí pekárny je zřejmé, že 100% pekařské směsi určené vojákům České republiky mají mnohem vyšší hygienickou a mikrobiologickou kvalitu, nežli pekařské směsi určené pro domácí pekárny. Tomuto závěru nelze přikládat 100% pravdivost, protože byla mikrobiologickému vyšetření podrobena pouze jedna komerční pekařská směs.

Mikrobiologické vyšetření 100% sušených pekařských směsí pro potřeby Armády České republiky bylo provedeno poprvé a nelze je s ničím srovnat. Na základě výsledku 100% sušených pekařských směsí mohu konstatovat, že mikrobiologická kvalita 100% pekařských směsí měla i po 12. měsících skladování odpovídající technologickou kvalitu pro upečení pekařského výrobku. Tyto výsledky ověřily i skutečnosti o vhodnosti originální technologie zapracování aktivních sušených kvasnic do pekařské směsi. Nejvyšší aktivita kvasinek v prvním mikrobiologickém vyšetření byla $1,6 \times 10^7$ CFU/g u vzorku pšenično – žitného chleba. V druhém mikrobiologickém vyšetření byla aktivita kvasinek

u jednotlivých pekařských směsí vyrovnaná, nejvyšší aktivitu kvasinek mělo sojové pečivo $3,8 \times 10^5$ CFU/g.

100% pekařské směsi navrhované Univerzitou obrany ve spolupráci se společností IREKS ENZYMA jsou velmi praktickým řešením pro polní pekárny a umožňují vyrábět pekařské výrobky přímým vedením těst tzv. „na zázaz“.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Chléb a pečivo. *iReceptáře*. 2009 [online]. [cit. 2009-10-15]. Dostupný z WWW: <<http://www.ireceptar.cz/vareni-a-recepty/chleb-a-pecivo>>
- [2] O chlebu. *Pekařina*. Mirkův svět. 2007 [online]. [cit. 2010-02-15]. Dostupný z WWW: <<http://clupmi.blog.cz/0701/o-chlebu>>
- [3] KOTRBA, D., SALAQUARDA, J. Pekařské směsi bez přidávaných látek a směsi se zaměřením na zdravou výživu. *Potravinářský zpravodaj*. 2009, č. 5, 17 s.
- [4] HRABĚ, J., NOVOTNÝ, R., BUDINSKÝ, P. Nová technologie výroby chleba pro polní pekárny. In *Sborník VVŠ PV 3/2001*. 193-204 s.
- [5] *Wikipedia: Obiloviny* [online]. [cit. 2010-02-15]. Dostupný z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Obiloviny>>
- [6] SMITH, T., HOOD, S. Cereals. In *Microorganisms in foods 6 second edition, Microbial ecology of food commodities/ICMFS*, 2nd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005, 763 s. ISBN 030648675X
- [7] PŘÍHODA, J., HUMPOLÍKOVÁ, P., NOVOTNÁ, D. *Základy pekárenské technologie*, 1. vyd. Praha: Pekař a cukrář s. r. o., 2003, 363 s.
ISBN 80-902922-1-6
- [8] DRDÁK, M. *Základy potravinářských technologií*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 1996. 495 s. ISBN 8096706411
- [9] SKOUPIL, J. *Suroviny na výrobu pečiva*, Pardubice: Kora, 1994, 211 s.
ISBN 80-85644-07-X
- [10] HRABĚ, J., ROP, O., HOZA, I. *Technologie výroby potravin rostlinného původu*. 1. vyd. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005. 178 s. ISBN 8073183722
- [11] BELL, B. M., CHAMBERLAIN, N., COLLINS, T.H., DANIELS, D.G.H. and FISHER, N. (1980) The effects of prolonged storage of flour on its composition and baking quality: further studies. *FMBRA Report No. 90*, CCFRA, Chipping Campden, UK.

- [12] CHAMBERLAIN, N. Gases – the neglected ingredient. In *Proceedings of the 49th Conference of the British Society of Baking*, British Society of Baking, 1979, 12–17 s.
- [13] Droždí. *Pekárny u nás*[online]. [cit. 2009-12-15]. Dostupný z WWW:
<<http://www.pekarny.unas.cz/drozdi1.html>>
- [14] WILLIAMS, A. and PULLEN, G. Functional ingredients. In *Technology of Breadmaking* (eds S. P. Cauvain and L. S. Young) Blackie Academic & Professional, London, UK, 1988, 45–80 s.
- [15] KUČEROVÁ, J. *Technologie cereálií* 1.vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická Univerzita v Brně, 2004. 141 s. ISBN 80-7157-811-8
- [16] HUI, Y. H., CORKE, H., DE LEYN, I., NIP, W., CROSS, N. *Bakery products: Science and Technology*. 1st. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2006. 556 s.
ISBN 0-8138-0187-7
- [17] STAUFFER, E. C. Fats and Oils in Bakery products. In *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. 6th ed. John Wiley & Sons, Inc. 2005. 207-227 s.
ISBN 978-0-471-38460-1
- [18] DODOK, L. *Chémia a technológia trvanlivého pečiva*. 1. vyd. Bratislava: ALFA, 1988. 297 s. 063-037-87 CAT
- [19] MATZ, A. S. *Bakery technology and engineering*. 3rd ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992. 843 s. ISBN 0-442-30855-8
- [20] THATCHER, F. S., COUTU, C. AND STEVENS, F. The sanitation of Canadian flour mills and its relationship to the microbial content of flour. *Cereal Chem.*, 30, 1953, 71-102 s.
- [21] GARTI, N., LESER, E. M. Emulsification Properties of Hydrocolloids. *Polymers for Advanced Technologies*. 2001, vol. 12, 123 – 135 s.
- [22] PELIKÁN, M. *Zpracování obilnin a olejnin*, Brno: MZLU, 1999, 147 s.

- [23] ČEPIČKA, J., PŘÍHODA, J. a kol. *Cereální technologie, Obecná potravinářská technologie*, Praha: VŠCHT, 1995, 244 s.
- [24] KOPÁČOVÁ, O. *Trendy ve zpracování cereálií s přihlédnutím zejména k celozrnným výrobkům (II. část)*. Praha: ÚZPI. 2007. 102 s. [online]. [cit. 2010-03-20]. Dostupný z WWW:
<<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=13&typ=1&val=80929&ids=2615>>
- [25] SMITH, P. J., DAIFAS, P. D., EL-KHOURY, W., KOUKOUTSIS, J., EL-KHOURY, A. Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products- A Review/
/abstrakt. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2004, vol. 44, 19 – 55 s. ISSN 1549-7852
- [26] SINGH, K. T., CADWALLADER, R. K. The Shelf Life of Foods: An Overview. In *Freshness and Shelf Life of Foods*. 2002, 2 – 21 s. ISBN 9780841219380
- [27] *Wikipedia: Žluknutí* [online]. [cit. 2010-03-20]. Dostupný z WWW:
<<http://cs.wikipedia.org/wiki/%C5%BDluknut%C3%AD>>
- [28] DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J. *Chemie potravin* 1. vyd. Praha: SNTL, 1983, 629 s.
- [29] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology* 3. vyd. Praha: Academia, 2008. 363 s. ISBN 978-80-200-1703-1
- [30] NOVAK, S. J., SAPERS, M. G., JUNAJE, K. V. *Microbial safety of minimally processed foods*. United States of America: CRC Press LLC, 2003. 343 s. ISBN 1-58716-041-2
- [31] KOPÁČOVÁ, O. Balení prodlužuje dobu udržitelnosti pekařských výrobků. *Bakers Journal*. 64, 2004, č. 4, s. 31
- [32] Nitkovitost chleba. *Bezpečnost potravin, A-Z slovník pro spotřebitele*. Praha: ÚZPI [online]. [cit. 2010-02-15]. Dostupný z WWW:
<<http://www.agronavigator.cz/az/vis.aspx?id=76582>>

- [33] SMITH, JP. Productos de panadería. In *Parry RT*, editor. Envasado de los alimentos en atmósfera modificada. Madrid, Spain: A. Madrid Vicente, ediciones, 1995, 155–192 s.
- [34] SMITH, JP, HOSHINO J, ABE Y. Interactive packaging involving sachet technology. In: Rooney ML, editor. Active food packaging. London: Blackie Academic & Professional, 1995, 143–76 s.
- [35] SEILER, D. Envasado en atmósferas modificadas de los productos de panadería. In: Brody AL, editor. Envasado de alimentos en atmósferas controladas, modificadas y a vacío. Zaragoza, Spain: Acribia, S. A., 1996, 141–57 s.
- [36] GUYNOT, M. E., SANCHIS, V., RAMOS, A. J., MARÍN S. Mold-free Shelf-life Extension of Bakery Products by Active Packaging. *Journal of Food Science*. 2006, vol. 68, 2547 – 2552 s.
- [37] BLACK, RG., QUAIL, KJ., REYES, V., KUZYK M., RUDDICK, L. Shelf-life extension of pita bread by modified atmosphere packaging. *Food Aust.* 45, 1993, 387–91 s.
- [38] EL HALOUAT, A., DEBEVERE, JM. Effect of water activity, modified atmosphere packing and storage temperature on spore germination of moulds isolated from prunes. *Int. J Food Microbiol.* 35, 1997, 41–8 s.
- [39] RANDEZ-GIL, F., AGUILERA, J., CODÓN, A., RINCÓN, M. A., ESTRUCH, F., PRIETO, A. J. Baker's yeast: challenges and future prospects. In *Functional Genetics of Industrial Yeasts*. Chapter 3. Springer Berlin/Heidelberg, 2003. 57 – 97 s. ISBN 978-3-540-02489-7
- [40] KADLEC, P. a kolektiv *Technologie potravin II* 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2002. 236 s. ISBN 80-7080-510-2
- [41] BULLERMAN, L. B. AND HARTUNG, T. E. Mycotoxin-producing potential of molds isolated from flour and bread. *Cereal Sci.Today*, 18, 1973, 346-7 s.
- [42] DEMNEROVÁ, K. a kolektiv. *Laboratorní cvičení z mikrobiologie* 3. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2001. 179 s. ISBN 80-7080-415-7

- [43] BURDYCHOVÁ, R., SLÁDKOVÁ, P. *Mikrobiologická analýza potravin* 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007. 218 s. ISBN 978-80-7375-116-6
- [44] EYLES, M. J., MOSS, R. and HOCKING, A. D. The microbiological status of Australian flour and the effects milling procedures on the microflora of wheat and flour. *Food Aust.*, 41, 1989, 704-8 s.
- [45] KAUR, P. *Survival and growth of Bacillus cereus in bread*, *J. Appl. Bacteriol.*, 60, 1986, 513 -6 s.
- [46] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologické zkoumání potravin* 1. vyd. Praha: VŠCHT v Čs. Redakci VN MON, 1987. 104 s.
- [47] ČSN EN ISO 7218 *Mikrobiologie potravin a krmiv - Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiologické zkoušení*. Česká technická norma. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha 2008.
- [48] JANDOVÁ, B., KOTOUČKOVÁ, L. *Praktikum z mikrobiologie* 1. vyd. Brno: Vydavatelství MU, 1996. 67 s. ISBN 80-210-1374-5
- [49] MONTVILLE, J. T., MATTHEWS, R. K. *Food microbiology: an introduction* 1st. ed. Washington, D. C.: ASM Press, 2005. 380 s. ISBN 1-55581-308-9
- [50] ČSN ISO 4832 *Mikrobiologie – Všeobecné pokyny pro stanovení počtu koliformních bakterií. Technika počítání kolonií*. Česká technická norma. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha 1995
- [51] ČSN ISO 7954 *Mikrobiologie - Všeobecné pokyny pro stanovení počtu kvasinek a plísní. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 25°C*. Česká technická norma. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha 1994
- [52] LUKÁŠOVÁ, J. A KOL. *Mikrobiologie potravin - praktická cvičení*. Brno: VFU, 1997, 55 s. ISBN 80-85114-74-7.
- [53] ČSN 56 0100 *Mikrobiologické zkoušení poživatin, a prostředí potravinářských provozoven*. Česká technická norma. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Praha 1968

- [54] CHRISTENSEN, C. M., and COHEN, M. Numbers, kinds and sources of molds in flour. *Cereal Chem.*, 27, 1950, 178 – 85 s.
- [55] SEMENIUK, G. Microflora. In *Storage of Cereal Grains and Their Products* (eds. J. A. Anderson and A. E. Alcock), Monograph Ser. 2, American Society of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota, 1954, 77 – 151 s.
- [56] HESSELTINE, C. W. and GRAVES, R. R. Microbiology of flours, *Econ. Bot.*, 20, 1966, 156 – 68 s.
- [57] GRAVES, R. R. ROGERS, R. F., LYONS, A. J., AND HESSELTINE, C. W. Bacterial and actinocycete flora of Kansas – Nebraska and Pacific Northwest wheat and wheat flour. *Cereal Chem.*, 44, 1967, 288-99 s.
- [58] Vyhláška č. 132/2004 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení.
- [59] MEJZLÍK, P. Jaká technologie výroby kvasů pro chléb? *Pekař a cukrář*, 1998, roč. 8., č. 2, 7 s.
- [60] PALÁSEK, M. Novinky v případě chlebových kvasů a těst. *Pekař a cukrář* 1998, roč. 8, č. 6, 3 s.
- [61] ELLIS, W. O., SMITH, JP., SIMPSON, BK., KHANIZADEH S., OLDHEM, JH. Control of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* under modified atmosphere packaging (MAP) conditions. *Food Microbiol.* 10, 1993a, 9–21 s.
- [62] ELLIS, WO, SMITH, JP, SIMPSON, BK, RAMASWAMY, H. Effect of inoculum level on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* under modified atmosphere packaging (MAP) conditions. *Food Microbiol.* 10, 1993b, 525–35 s.
- [63] TABAK, HH., COOK, WB. The effects of gaseous environments on the growth and metabolism of fungi. *Bot. Rev.* 34, 1978, 126–252 s.
- [64] PIERGIOVANNI, L., FAVA, P. Minimizing the residual oxygen in modified atmosphere packaging of bakery products. *Food Addit. Contam.* 14, 1997, 765–73 s.
- [65] SMITH, JP., OORAIKUL, B., KOERSEN, WJ., JACKSON, ED., LAWRENCE, RA. Novel approach to oxygen control in modified atmosphere packaging of bakery products. *Food Microbiol.* 3, 1986, 315–20 s.

- [66] SOARES NFF, RUTISHAUSER DM, MELO N, CRUZ RS, ANDRADE NJ. Inhibition of microbial growth in bread through active packaging. *Packag. Technol. Sci.* 15, 2002, 129 – 32 s.
- [67] VERMEIREN, L., DEVLIEGHERE, F., VAN BEEST, M., DE KRUIJF, N., DEBEVERE, J. Developments in the active packaging of foods. *Trends Food Sci. Technol.* 10, 1999, 77–86 s.
- [68] FRANKE, I., WIJMA, E., BOUMA, K. Shelf life extension of pre-baked buns by an active packaging ethanol emitter. *Food Addit. Contam.* 19, 2002, 314–22 s.
- [69] LEGAN, JD. Mould spoilage of bread: the problem and some solutions. *Int.Biodeter. Biodegrad.* 32, 1993, 33–53 s.
- [70] SALMINEN, A., LATVA-KALA, K., RANDELL, K., HURME, E., LINKO, P., AHVENAINEN, R. The effect of ethanol and oxygen absorption on the shelf-life of packaged slice rye bread. *Packag Technol. Sci.* 9, 1996, 29–42 s.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

HRW	Hard Red Winter
PCA	Plate Count Agar
YGC	Yeast Glukose Chloramphenicol
CFU	Colony Forming Units
MAP	modifikovaná atmosféra obalu
AP	aktivní obal

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Mlýnská technologie.....	15
Obr. 2. Schematické porovnání nepřímého (A- s kvasným předstupněm) a přímého(B) způsobu vedení těsta.....	30
Obr. 3. Průběh oxidační reakce lipidů.....	35
Obr. 4. Příprava vzorku.....	52

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Obsah jednotlivých složek (živin) v obilovinách (v % hmot. při 15% vlhkosti obilí).....	17
Tab. 2. Vliv tvrdosti a kyselosti vody na vedení fermentace těsta.....	22
Tab. 3. Hodnota pH vybraných pekařských produktů.....	36
Tab. 4. Výsledky celkového počtu mikroorganismů při 1. mikrobiologickém vyšetření po 6. měsících skladování	55
Tab. 5. Výsledky pro počty koliformních mikroorganismů při 1. mikrobiologickém vyšetření po 6. měsících skladování	55
Tab. 6. Výsledky počtů kvasinek při 1. mikrobiologickém vyšetření po 6. měsících skladování	56
Tab. 7. Výsledky počtu plísní při 1. mikrobiologickém vyšetření po 6. měsících skladování	56
Tab. 8. Výsledky počtů sporotvorných mikroorganismů při 1. mikrobiologickém vyšetření po 6. měsících skladování.....	57
Tab. 9. Výsledky celkových počtů mikroorganismů při 2. mikrobiologickém vyšetření po 12. měsících skladování.....	58
Tab. 10. Výsledky počtů koliformních mikroorganismů při 2. mikrobiologickém vyšetření po 12 měsících skladování	58
Tab. 11. Výsledky počtů kvasinek při 2. mikrobiologickém vyšetření po 12. měsících skladování	59
Tab. 12. Výsledky počtů plísní při 2. mikrobiologickém vyšetření po 12. měsících skladování	59
Tab. 13. Výsledky počtů sporotvorných mikroorganismů při 2. mikrobiologickém vyšetření po 12. měsících skladování	60

Tab. 14. Výsledky mikrobiologického vyšetření pekařské směsi určené pro domácí pekárny	60
Tab. 15. Rekapitulace výsledků 100% pekařských směsí	65