

Mikrobiologické kažení mlékařenských výrobků s vysokým obsahem mléčného tuku

Martina Špačková

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Martina ŠPAČKOVÁ

Osobní číslo: T09213

Studijní program: B2901 Chemie a technologie potravin

Studijní obor: Technologie a řízení v gastronomii

Forma studia: kombinovaná

Téma práce: Mikrobiologické kažení mlékárenských výrobků s vysokým obsahem mléčného tuku

Zásady pro vypracování:

- 1. Stanovte mikrobiální rizika při výrobě mléčných výrobků s vysokým obsahem mléčného tuku**
- 2. Charakterizujte mikrobiální lipázy, popište jejich vlastnosti a význam**
- 3. Mikrobiální vady smetany, másla a mražených smetanových krémů**
- 4. Metody konzervace u mléčných výrobků**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. SANGEETHA, R., I. ARULPAND and A. GEETHA. Bacterial lipases as potential industrial biocatalysts: an overview. Research Journal of Microbiology. 2011, č. 6, s. 1-24. ISSN 1816-4935.
2. GUPTA, R., N. GUPTA and P. RATHI. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. Applied Microbiology and Bio-technology. 2004, č. 1, s. 763-781. ISSN 1432-0614.
3. LUKÁŠOVÁ, Jindra. Hygiena a technologie mléčných výrobků. Brno: Vysoká škola zemědělská, 2001. ISBN 80-730541-59.
4. FERNANDES, Rhea. Microbiology handbook: dairy products. Cambridge: Leatherhead Publishing, 2009. ISBN 1-905-22462-1.

Vedoucí bakalářské práce:

Mgr. Magda Doležalová, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce:

11. února 2013

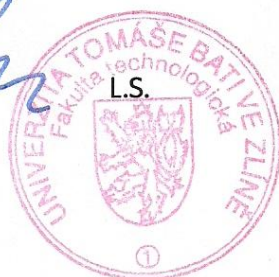
Termín odevzdání bakalářské práce:

17. května 2013

Ve Zlíně dne 11. února 2013

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.

děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.

ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 3. 5. 2013

.....


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 nevydělečně 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). Odpirá-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

Tato bakalářská práce se v první části zaměřuje na mikrobiální lipázy, jejich rozdělení, vlastnosti a využití v potravinářském průmyslu. Druhá část charakterizuje případná mikrobiální rizika a mikrobiální vady při zpracování a skladování jednotlivých mléčných výrobků s vysokým obsahem mléčného tuku. Třetí část se zabývá metodami konzervace, pomocí kterých lze účinně zabránit růstu nežádoucím mikroorganismům u těchto výrobků.

Klíčová slova: lipázy, smetana, máslo, mražené smetanové krémy, kažení, mikroorganismy

ABSTRACT

This bachelor thesis is focused in the first part on the microbial lipases, their classification, properties and use in the food industry. The second part describes of the potential microbial risk and microbial defects in processing and storage of individual milk product with a high content of milk fat. The third part deals with methods of preservative that can be used to effectively prevent the growth of undesirable microorganism.

Keywords: lipases, cream, butter, frozen creamy creams, spoilage, microorganisms

Tímto bych chtěla poděkovat především vedoucí této bakalářské práce Mgr. Magdě Doležalové, Ph.D. za ochotu, cenné rady, čas a metodické vedení práce.

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

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| ÚVOD | 10 |
| I TEORETICKÁ ČÁST | 11 |
| 1 MLÉČNÝ TUK | 12 |
| 1.1 LIPOLÝZA MLÉČNÉHO TUKU | 13 |
| 1.1.1 Mikrobiální lipázy | 13 |
| 1.1.1.1 Rozdělení mikrobiálních lipáz | 14 |
| 1.1.1.2 Vlastnosti mikrobiálních lipáz | 15 |
| 1.1.1.3 Využití mikrobiálních lipáz v potravinářství | 17 |
| 1.1.2 Nativní lipázy | 20 |
| 2 SMETANA | 21 |
| 2.1 MIKROBIÁLNÍ RIZIKA VÝROBY SMETANY | 21 |
| 2.1.1 Čištění a odstředování mléka..... | 22 |
| 2.1.2 Tepelné ošetření smetany | 22 |
| 2.1.3 Další technologické kroky výroby smetany | 24 |
| 2.2 MIKROBIÁLNÍ VADY SMETANY | 25 |
| 3 MÁSLA | 29 |
| 3.1 MIKROBIÁLNÍ RIZIKA VÝROBY MÁSLA | 29 |
| 3.1.1 Pasterace, odvětrávání a chlazení smetany na výrobu másla | 30 |
| 3.1.2 Zrání smetany na výrobu másla | 30 |
| 3.1.3 Způsob výroby másla | 31 |
| 3.1.4 Úprava smetany barvením..... | 32 |
| 3.1.5 Přeměna smetany na máslo | 32 |
| 3.1.6 Balení másla | 32 |
| 3.1.7 Skladování másla | 32 |
| 3.2 MIKROBIÁLNÍ VADY MÁSLA | 33 |
| 4 MRAŽENÉ SMETANOVÉ KRÉMY | 35 |
| 4.1 MIKROBIÁLNÍ RIZIKA VÝROBY MSK..... | 35 |
| 4.1.1 Mikrobiologická kvalita surovin MSK | 35 |
| 4.1.2 Mikrobiologická kvalita výrobního procesu MSK | 36 |
| 4.1.3 Pasterace zmrzlinové směsi..... | 36 |
| 4.1.4 Homogenizace zmrzlinové směsi..... | 37 |
| 4.1.5 Zrání a chlazení zmrzlinové směsi | 37 |
| 4.1.6 Zmražení zmrzlinové směsi | 37 |
| 4.1.7 Balení a skladování zmrzlinové směsi | 38 |
| 4.1.8 Prodej zmrzliny | 39 |
| 5 METODY KONZERVACE U MLÉČNÝCH VÝROBKŮ | 40 |
| 5.1 VNITŘNÍ FAKTORY | 40 |
| 5.1.1 Kompartmentalizace vodné fáze | 40 |
| 5.1.2 Využití nových technologií | 40 |
| 5.1.3 pH..... | 41 |
| 5.1.4 Roztok NaCl..... | 42 |
| 5.1.5 Lantibiotika | 42 |
| 5.1.6 Extrakty z bylin | 43 |

| | | |
|---|--------------------------------|-----------|
| 5.2 | VNĚJŠÍ FAKTORY | 43 |
| 5.2.1 | Teplota a doba skladování..... | 43 |
| 5.2.2 | Obalový materiál | 45 |
| ZÁVĚR | | 46 |
| SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY | | 47 |
| SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK | | 51 |
| SEZNAM OBRÁZKŮ | | 52 |
| SEZNAM TABULEK | | 53 |

ÚVOD

Mléko jako takové obsahuje původní enzymy. Jedna z důležitých vlastností mléka a mléčných výrobků je i lipolytická příchut', která vyplývá z enzymatické činnosti lipáz. Mléko je velmi významným zdrojem živin pro řadu mikroorganismů. Mikrobiální kvalita mléka je rozhodujícím faktorem pro kvalitu mléka, a tím i pro následné zpracování mléčných výrobků.

Podstatou mikrobiálního kažení je produkce mikrobiálních lipáz mikroorganismy, které znehodnocují kvalitu mléčných výrobků. Dochází ke zhoršené textuře mléka a mléčných výrobků, doprovázenou nepříjemným pachem a chutí. Míra znehodnocení mléka a mléčných výrobků závisí především na již zmíněné počáteční mikroflóře mléka, podmínkách během zpracování a postpasterační kontaminaci.

Mezi mikroorganismy, které produkují velké množství termostabilních enzymů, patří zejména psychrotrofní bakterie, které jsou problematikou mlékárenského průmyslu. Kromě toho, některé druhy těchto mikroorganismů jsou považovány za oportunní patogeny. Tyto mikroorganismy jsou schopné rozmnožovat se a růst relativně při nízkých chladírenských teplotách a jsou všudypřítomné. Nejvíce náchylné k lipolytickému kažení jsou především mléčné výrobky s vysokým obsahem mléčného tuku.

Cílem této práce je zjistit, u kterých výrobních procesů mlékárenského průmyslu je možno dojít k případné kontaminaci, popsat, jakým způsobem se projevují mikrobiální vady mléčných výrobků způsobené nežádoucí mikroflórou a jak těmto negativním dopadům na mléko a mléčné výrobky lze účinně předejít.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 MLÉČNÝ TUK

Hlavními lipidovými složkami kravského mléka jsou triacylglyceroly, které tvoří asi 98 % mléčného tuku. Další 2 % mléčných lipidů zahrnují diacylglyceroly, monoacylglyceroly, cholesterol, fosfolipidy, volné mastné kyseliny, cerebrosidy a gangliosidy [1]. Ostatní složky jsou přítomny pouze ve velmi malém množství, ale mohou mít význam při určování organoleptických vlastností a nutriční hodnotě mléka. Jedná se o vitamíny rozpustné v tucích, zejména A, D, E [2]. Mimo vitamínů obsahuje mléčný tuk celou řadu dalších biologicky aktivních látek, které působí jako hormony, enzymy či důležité a nepostradatelné součásti buněčných struktur [3].

Mléčný tuk obsahuje přibližně 400 různých mastných kyselin. Téměř 70 % mastných kyselin z mléčného tuku tvoří nasycené mastné kyseliny, přibližně 25 % je mononenasycených, 2,3 % jsou polynenasycených a 2,7 % trans-mastné kyseliny [4]. Zvýšený obsah volných mastných kyselin a zvýšený obsah některých nižších mastných kyselin a dalších látek vznikajících rozkladem mléčného tuku snižuje nutriční i organoleptické vlastnosti mléčného tuku a tím i mléčných výrobků [3].

Tukové kuličky v mléce nejsou volné, tj. nejde o pouhou emulzi tuku v mléce, ale jsou obaleny membránou skládající se z komplexu fosfolipidy-bílkoviny. Tento obal, chránící tukové kuličky, se skládá z lipofilní vrstvy radiálně orientovaných fosfolipidů, přičemž jejich nepolární řetězce jsou orientovány směrem do tukové kuličky a polární-hydrofilní část molekuly je orientována směrem k vodní fázi mléka. Membrány tukových kuliček chrání tuk před splynutím ve velké útvary [5].

Po delším a nevhodném skladování mléka, při vyšších teplotách, nebo po některých zásazích (třepání, zmrazení mléka, míchání teplého mléka s vychlazeným apod.) můžeme zejména na zahřátém mléce pozorovat tzv. volný tuk, tj. tuk, u kterého byla porušena membrána mechanickým zásahem nebo působením enzymů ze syrového mléka [3, 5]. Tento volný tuk snadněji podléhá dalšímu rozkladu [5]. Velmi negativně na kvalitu mléčného tuku působí přímé světlo, proto by mléko a mléčné výrobky měly být vždy přiměřeně chráněny před jeho působením (tmavé láhve, tmavé a neprůhledné obaly, skladování na tmavém místě apod.). Podobný negativní vliv má i přímý kontakt s neušlechtilými kovy (Fe, Cu, Zn), které katalyzují rozklad mléčného tuku. Na rozkladu mléčného tuku se také podílí mikrobiální kontaminace [3].

1.1 Lipolýza mléčného tuku

Lipolytické změny jsou způsobeny volnými mastnými kyselinami uvolňovanými z mléčného tuku enzymy lipázami, v mléce běžně přítomnými. Lipázy jsou enzymy hydrolyzující esterové vazby emulgovaných tuků na mezipovrchu tuk – voda. Pod názvem lipázy je možno si představit celý komplex enzymů, z nichž nejdůležitější lipázy jsou nativní (pocházející z mléka, v němž se při tvorbě mléka podílely na syntéze triacylglycerolů) a mikrobiální (produkované různými mikroorganismy, zejména kvasinkami a plísněmi) [6].

Největší aktivita lipáz je prokázána u mleziva. Mléko starodojných krav má vysokou aktivitu lipáz a stejně tak mléko od dojníc se záněty mléčné žlázy. Lipázy mají velký význam pro trvanlivost mléka i mléčných výrobků vyráběných ze syrového mléka [7].

1.1.1 Mikrobiální lipázy

Mikrobiální lipázy jsou vesměs specifické. To znamená, že štěpí převážně vazby *sn-1* a *sn-3* a uvolňují relativně větší množství kyseliny máselné a dalších mastných kyselin s řetězcem do 10C [6].

Mnohé mikroorganismy produkují lipázy štěpící tuk. Velmi nebezpečné v tomto směru jsou psychrotrofní mikroorganismy, které tvoří velké množství lipáz [6]. Psychrotrofní bakterie nejsou konkrétním typem nebo skupinou bakterií, ale je to název pro bakterie, které jsou schopny růst při teplotě 7 °C a nižší. Tato skupina mikrobů je problémem mléčných výrobků, neboť způsobují znehodnocení, což vede k vytvoření vad chuti [8]. Překročí-li počet lipolytických mikroorganismů číslo 10^6 , vytvoří se dostatek enzymů pro zkázu mléčného tuku. Nebezpečné je, že pasterací se mikrobiální lipázy inaktivují jen částečně. Protože mikrobiální lipázy uvolňují především nízkomolekulární mastné kyseliny, dochází jejich činností k rychlému zhoršení chuti [6].

Na druhou stranu lze některé mikrobiální lipázy, díky jejich enzymatickým vlastnostem a specifitě substrátu využít pro mnohé průmyslové účely [9]. Mikrobiální lipázy byly relativně dobře prozkoumány v období, kdy se průmyslový potenciál zdokonaloval, a kdy nemohlo být vyhověno požadavku na dodávky lipáz ze živočišných zdrojů [10].

Komerční mikrobiální lipázy jsou produkované bakteriemi, plísněmi a aktinomycetami. Bakteriální lipázy byly poprvé pozorovány v roce 1901 z kmenů *Serratia marescens* a *Pseudomonas aeruginosa*. Od té doby byla studována a publikována produkce lipáz u různých bakteriálních druhů [10].

1.1.1.1 Rozdělení mikrobiálních lipáz

Bakteriální lipázy jsou produkovány procesem submerzní kultivace. Získaný enzym se nejčastěji přečistí hydrofobní interakční chromatografií doplněnou o moderní přístupy, jako je zpětný micelární a vodní dvoufázový systém [11]. Většina bakteriálních lipáz je extracelulárních, vykazující lipoproteinový charakter a některé z nich jsou intracelulární (např. kmeny bakterie *Bacillus clausii*), vykazující glykoproteinový charakter [10, 11]. Produkce extracelulárních bakteriálních lipáz je často závislá na zdroji dusíku a uhlíku, anorganické soli, přítomnosti lipidů, teplotě a dostupnosti kyslíku. Bylo zjištěno, že produkce lipolytických enzymů je ovlivňována i některými polysacharidy [11].

Velký počet lipolytických bakteriálních enzymů a několik málo lipolytických enzymů archaí bylo zařazeno do osmi skupin podle homologického uspořádání aminokyselin a fyziologických funkcí [12]. Ačkoli jsou lipázy rozděleny do těchto skupin, mají stejnou strukturu – α/β hydrolázy. Jejich hlavní činnost spočívá v katalytické trojici, obvykle tvořené aminokyselinovými zbytky Ser, His a Asp. V α/β hydroláze jsou aminokyselinové zbytky uspořádány v pořadí Ser-Asp-His. Kromě toho se lipázy shodují v pořadí Gly-Xaa-Ser-Xaa-Gly, kde X může být jakýkoli aminokyselinový zbytek [13].

- Skupina I

Ve skupině I jsou nejvíce zastoupeny pravé lipázy [14]. Zahrnují lipázy z bakterií *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* C9, *Vibrio cholerae*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas wisconsinensis*, *Proteus vulgaris*, *Burkholderia glumae*, *Chromobacterium viscosum*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas fluorescens* SIK W1, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Geobacillus stearothermophilus*, *Geobacillus thermocatenulatus*, *Geobacillus thermoleovorans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus warneri*, *Propionibacterium acnes* a *Streptomyces cinnamomeus* [9]. Tyto lipázy mají konvekční katalytické pentapeptidové uspořádání Gly-Xaa-Ser-Xaa-Gly [10].

- Skupina II

Do skupiny II patří lipázy vykazující aktivitu Gly-Asp-Ser-Leu a esteráz od *Aeromonas hydrophila*, *Streptomyces scabies*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* a *Photobacterium luminescens* [9, 10].

- Skupina III

Skupina III se skládá z extracelulárních lipáz *Streptomyces exfoliates*, *Streptomyces albus* a *Moraxella* sp [9, 10].

- Skupina IV

Do skupiny IV patří lipázy, které vykazují podobnost s hormony savců, jako je *Alicyclobacillus acidocaldarius*, *Pseudomonas* sp. B11-1, *Archaeoglobus fulgidus*, *Alcaligenes eutrophus*, *Escherichia coli* a *Moraxella* sp. [9, 10].

- Skupina V

Ve skupině V se nachází lipázy z mezofilních bakterií *Pseudomonas oleovorans*, *Haemophilus influenza*, *Psychrobacter immobilis*, *Moraxella* sp., *Sulfolobus acidocaldarius* a *Acetobacter pasteurianus* [9, 10].

- Skupina VI

Skupina VI se vyznačuje nejmenšími esterázami a dimericky aktivními enzymy [10]. Do této skupiny se řadí *Synechocystis* sp., *Spirulina platensis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rickettsia prowazekii* a *Chlamydia trachomatis* [9].

- Skupina VII

Skupina VII je charakteristická velkými esterázami, její uspořádání aminokyselin je homologní s eukaryotickou acetyl-cholin-esterasou [10]. V této skupině se nachází *Arthrobacter oxydans*, *Bacillus subtilis* a *Streptomyces coelicolor* [9].

- Skupina VIII

Lipázy skupiny VIII jsou podobné beta-laktázám [10]. Tuto schopnost vykazuje *Arthrobacter globiformis*, *Streptomyces chrysomallus* a *Pseudomonas fluorescens* SIK W1 [9].

1.1.1.2 Vlastnosti mikrobiálních lipáz

Vlastnosti bakteriálních lipáz (molekulární hmotnost, optimální pH a teplota, stabilita, specifická substrátu) jsou různorodé. Nejvíce je však pro bakteriální lipázy typické alkalické prostředí, teplota v rozmezí 30 – 60 °C a vysoká stabilita v organických rozpouštědlech [11].

Podle specifity substrátu lze bakteriální lipázy rozdělit do tří kategorií: nespecifické, regiospecifické a podle mastných kyselin [11].

Nespecifické lipázy

Nespecifické lipázy přednostně hydrolyzují estery glycerolu, zejména triacylglyceroly (TAG), diacylglyceroly (DAG), monoacylglyceroly (MAG) a fosfolipidy [11]. Příkladem této skupiny lipáz jsou producenti *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, *Corynebacterium acnes*, *Chromobacterium viscosum* a *Penicillium camembertii* [11, 15].

Regiospecifické lipázy

Regiospecifické lipázy mají schopnost rozlišovat mezi dvěma pozicemi, a to vnějšími (primární estery vazeb) a vnitřními (sekundární estery vazeb) v (TAG) řetězci. V průběhu lipolýzy TAG hydrolyzují 1,3regiospecifické lipázy polohy *sn*-1 a *sn*-3 na *sn*-2 [11]. Příkladem této skupiny lipáz je *Bacillus subtilis* 168, *Bacillus* sp. THL027, *Pseudomonas* sp. f-B-24, *Pseudomonas aeruginosa* EF2, *Pseudomonas alcaligenes* 24, *Aspergillus niger*, *Rhizopus arrhizus*, *Mucor miehei* a *Candida antarctica* A [11, 15].

Lipázy specifické pro jednotlivé mastné kyseliny

Lipázy mohou být specifické i pro jednotlivé mastné kyseliny nebo obecněji, pro skupinu mastných kyselin. Takové lipázy hydrolyzují estery glyceridu těchto mastných kyselin, bez ohledu na jejich uspořádání v glycerolu [11]. *Achromobacterium lipolyticum* je jedinou známou bakterií, která splňuje požadavky specifičnosti pro mastné kyseliny. Nicméně, lipázy bakterií rodu *Bacillus* sp., *Pseudomonas alcaligenes* EF2 a *Pseudomonas alcaligenes* 24 představují specifičnost pro TAG s dlouhými řetězci mastných kyselin [15].

Zatímco, lipázy *Bacillus subtilis* 168, *Bacillus* sp. THL027, *Pseudomonas aeruginosa* 10145, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas* sp. ATCC 21808, *Chromobacterium viscosum* a *Aeromonas hydrophila* upřednostňují raději malé nebo středně dlouhé řetězce mastných kyselin, lipáza *Staphylococcus aureus* 226 vykazuje schopnost hydrolyzovat spíše nenasycené mastné kyseliny [15]. Z plísňových lipáz se sem řadí *Geotrichum candidum* a *Penicillium roqueforti* [11].

Stereospecifita lipáz

Jinou důležitou vlastností lipáz je jejich stereospecifita, která zobrazuje dvě následující schopnosti: 1) rozpoznat jeden z enantiomerů v racemické směsi a za 2) rozpoznat chirální molekuly z achirální [11, 16]. Takové enantiomerně čisté nebo obohacené organické sloučeniny se uplatňují ve farmaceutickém, zemědělském průmyslu a při výrobě syntetických a přírodních produktů. Výtěžnost závisí do jisté míry na struktuře substrátu a reakčních

podmínkách. Do této kategorie lipáz patří *Pseudomonas* sp., zejména *Burkholderia cepacia*, který je významným katalyzátorem v organické syntéze, hraje důležitou roli při kinetickém řešení v racemických směsích sekundárních alkoholů při hydrolýze, esterifikaci a transesterifikaci [15]. Dále je to např. *Candida antarctica* B, *Humicola lanuginosa* a *Rhizomucor miehei* [11].

Podle reakce na lipidy můžeme lipázy klasifikovat do dvou hlavních skupin: na hydrolýzu a syntézu [17].

Hydrolýza lipáz

Přirozenou reakcí lipázy jako katalyzátoru, je reakce hydrolýzy na TAG. Proces hydrolýzy spočívá v produkci volných mastných kyselin, mýdla a glycerolu. Katalyzovanou reakcí lipázy dochází k vytvoření systému, který obsahuje emulzi mastných kyselin ve vodě, nebo oleje ve vodě, nebo rozpustný substrát, jehož enzymy mohou být rozpustné. Tyto mastné kyseliny nacházejí široké uplatnění v průmyslu, ale jsou k dispozici pouze v malém množství. Jedná se o studie hydrolýzy olivového oleje, palmového oleje, mléčného tuku a substrátů s krátkými řetězci, určené pro výrobu mastných kyselin [17].

Esterifikace lipáz

Esterifikace je reverze hydrolýzy, které je možné dosáhnout pouze v mikrovodním reakčním systému. Rovnováha mezi následující a reverzní reakcí je obvykle řízena obsahem vody v reakční směsi. V esterifikační reakci je žádoucí, aby došlo k posunutí termodynamické rovnováhy odstraněním vody, která se vytvořila reakcí. Lipázy potřebují určité množství vody pro aktivaci. Některé studie uvádějí, že vodní aktivita je tzv. „klimatizací“ pro jejich prostorové struktury, a tím i jejich enzymatická aktivita směřuje buď k syntéze, nebo hydrolýze. V případě přebytku vody nastane hydrolýza. Množství vody v reakčním systému musí být kontrolováno pro orientaci v reakčním prostoru a pro zkvalitnění výsledků. Optimální obsah vody závisí na reakčním systému (př. na typu lipázy, substrátu, podpoře a rozpouštění). Syntéza může být dále rozlišena na podtřídy: acidolýza, alkoholýza a trans-esterifikace. Tyto tři reakce syntézy jsou nazývány jako inter-esterifikace [17].

1.1.1.3 Využití mikrobiálních lipáz v potravinářství

Mikrobiální lipázy mají jedinečné vlastnosti, včetně specifčnosti substrátu, stereospecifity, regioselektivity a schopnosti vyvolat heterogenní reakce na rozhraní mezi ve vodě rozpustnými a ve vodě nerozpustnými systémy. Lipázami produkované estery hrají důležitou roli

v potravinářském průmyslu jako chuťové a aromatické složky [9]. Aromatické sloučeniny získané z rostlin, jsou nákladné, a proto se nahrazují aromatickými estery syntetizovány pomocí katalyzátorů. Ty zahrnují celou řadu různých alifatických a aromatických sloučenin, které jsou uvedeny na trhu jako potravinářská aditiva. Chuťové estery jsou nízkomolekulární sloučeniny syntetizované esterifikací mastných kyselin, nejlépe z mikrobiálních lipáz. Tyto sloučeniny nesou označení přírodní, ačkoli byly syntetizovány. I přesto jsou předmětem intenzivního výzkumu. Ze syntetických esterů lze uvést etyl-acetát, etyl-butyrát, etyl-metyl-butyrát, etyl-valerát a etyl-kaprylát [10].

Umístění mastných kyselin v řetězci glycerolu, délka řetězce mastné kyseliny a stupeň nenasycenosti, jsou důležité pro určení fyzikálních vlastností triacylglycerolů, s požadovanými výživovými a senzoryckými vlastnostmi [9]. Vysoká cena kakaa a kakaového másla přiměla hledat levnější alternativní zdroje. Jako nejlepší náhrada kakaového másla byl označen interesterifikovaný olej ze semen čaje. Olej z čaje je vedlejším produktem při jeho zpracování a tedy i částečnou náhradou kakaového másla, snižující náklady na cukrářské výrobky [10]. Modernizace méně žádaných a levných náhražek tuku za kakaové máslo se provádí lipázou katalyzovanou prostřednictvím transesterifikační reakce, která nahrazuje kyselinu palmitovou v palmovém oleji kyselinou stearovou [9].

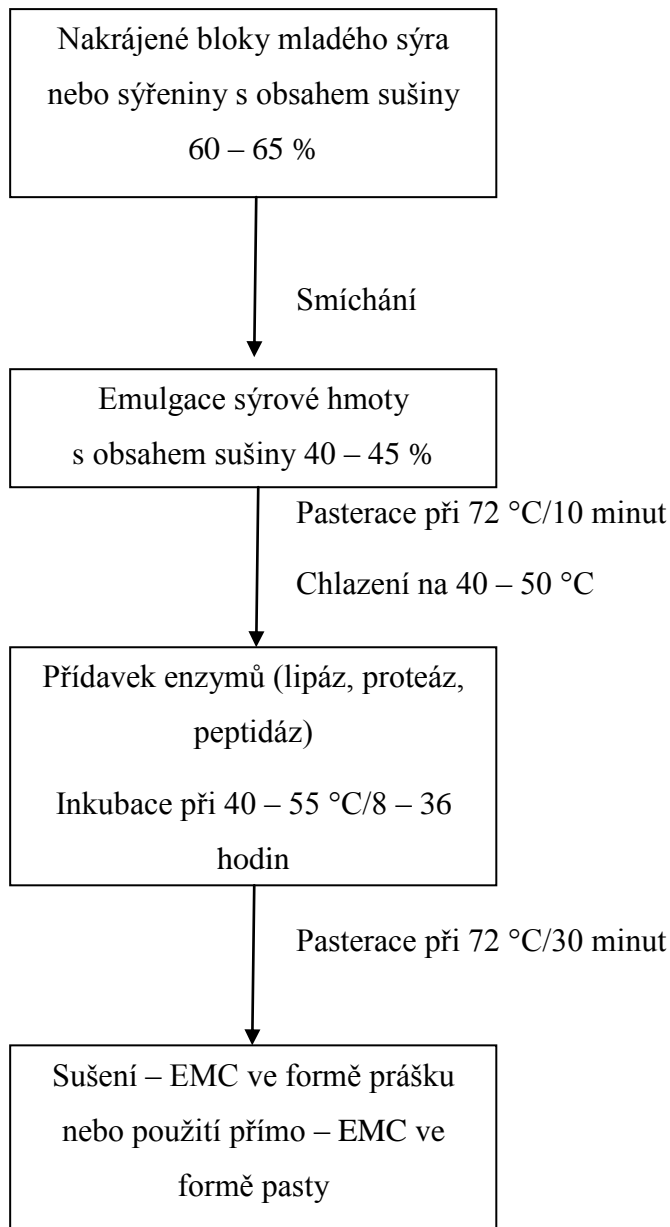
V mlékárenském a cukrářském průmyslu, se lipázy používají k hydrolýze mléčného tuku, zejména u sýrů vyžadující specifické aroma, které vzniká v důsledku různé délky uhlíkového řetězce mastných kyselin [9].

Hydrolýza mléčného tuku se připravuje z kondenzovaného mléka nebo máslového oleje pomocí lipáz, které uvolňují volné mastné kyseliny, a tím dodávají produktu sýrové aroma. Hydrolýza mléčného tuku nachází uplatnění v čokoládových polevách, v umělých chuťových přísadách, v margarínech apod. Z bakteriálních lipáz se používají lipázy bakterií *Achromobacter* a *Pseudomonas* [10].

Lipázy z rodu *Lactobacillus* hrají významnou roli při výrobě zrajících sýrů s bakteriálními kulturami. Vědci zkoumali funkci lipázy/esterázy z *Alicyclobacillus acidocaldarius* v mléce a sýru. Zjistili, že rekombinační enzym byl účinnější než původní enzym a mohl by dodat výraznější chuť nebo zlepšit zrání sýrů [10].

Enzymaticky modifikovaný sýr (EMC) je koncentrovanou složkou potravin, s příchutí sýru, která se vyrábí zpracováním sýřeniny s enzymy (Obr. 1). Používá se jako práškové sýry, do polévek, salátů, omáček a polev. EMC má intenzivnější chuť než přirozeně zrající

sýr, k němuž přispívají především krátké řetězce mastných kyselin. Esterifikací se produkuje nové estery, jako je etyl-butanoát a etyl-hexanoát, které propůjčují sýru charakteristickou chuť [10].



Obr. 1. Výrobní diagram enzymaticky modifikovaného sýra (EMC) [18].

Kromě výše jmenovaného, se lipázy používají pro vytváření chutí pro jednotlivé pekárenské výrobky a nápoje [9]. Emulgátory jsou důležitou přísadou pro chléb. Zvyšují objem a strukturu chleba a zlepšují stabilitu těsta. Tyto emulgátory jsou v upečeném bochníku chleba snadno identifikovatelné a musí být uvedeny na etiketě. Naproti tomu, enzymy během pečení chleba denaturují a vytvoří tak stejné funkce jako emulgátory, aniž by musely být uvedeny na etiketě. Lipázy *Bacillus subtilis* dovedou zcela nebo částečně nahradit přípravky zlepšující tradiční objem chleba [10].

1.1.2 Nativní lipázy

Hlavní nativní lipázy jsou lipoproteinové lipázy (LPL). Z celkového počtu přítomných LPL v mléce, je asi 80 % vázáno na kaseinové micely, 10 až 20 % je přítomno v séru a pouze 0 až 10 % je spojeno s tukovými kuličkami [19]. Nativní lipázy mléka jsou nespecifické, což znamená, že odštěpují z esterových vazeb triacylglycerolů mastné kyseliny stejnou měrou, nezávisle na jejich molekulové hmotnosti a místu jejich vazby [8].

Obecně jsou známy dva druhy lipolýzy s lipoproteinovou lipázou. Pokud je čerstvě zpracované mléko žluklé, označujeme tento stav jako spontánní lipolýzu, která je ovlivňována fází laktace, ročním obdobím, krmením a výživou. Nicméně, spontánní lipolýza není rozhodujícím faktorem pro trvanlivost mléka, avšak její výskyt v mléce je nepříjemný [20].

Na druhé straně, může indukovaná lipolýza vést k znehodnocení produktů, které nebyly tepelně ošetřeny. Klíčovým faktorem pro vyjádření enzymové aktivity je poškození membrány tukových kuliček mléka [20].

V obou případech je konečný výsledek stejný – začátek lipolýzy [20].

2 SMETANA

Smetana je tekutý mléčný výrobek, ošetřený podle zvláštních předpisů. Obsah tuku ve smetaně je nejméně 10 % hmotnostních, tuk ve formě mléčného tuku v plazmě je získaný fyzikální separací mléka. Smetana ke šlehání obsahuje minimálně 30 % tuku, vysokotučná smetana minimálně 35 %. Tekutou smetanu ošetřenou pasterací nebo vysokou pasterací lze označit jako „čerstvou“. Smetana trvanlivá je vyrobena UHT nebo sterilací [21].

2.1 Mikrobiální rizika výroby smetany

Mikrobiologie smetany úzce souvisí s mikrobiologií mléka, ale mezi nimi jsou důležité rozdíly. Smetana je více zatížena mikrobiální kontaminací než mléko. Ochranný vliv tuku na bakterie je zanedbatelný. Důležité jsou však další rozdíly:

- nižší specifické teplo smetany;
- nižší přenos tepla smetanou;
- vyšší viskozita [22].

Počet mikroorganismů tepelně neošetřené smetany je zpravidla vyšší než u syrového mléka, ze kterého byla smetana získána. Množství bakterií, které zůstane po pasteraci ve smetaně, je velmi nepatrné a kolísá v rozpětí 10^1 až 10^3 CFU/ml. Tvoří ji převážně sporotvorné tyčinky, v menší míře pak mikrokoky a bakterie mléčného kvašení [23].

Výrobní postup zpracování smetany je stejný jako u mléka [22]. Zahrnuje tyto technologické operace: nákup, chlazení a skladování syrového mléka, čištění a odstředování mléka, tepelné ošetřování (pasterace nebo sterilace), homogenizace, standardizace, chlazení, plnění, balení a chlazení [24]. Bez těchto úkonů nesmí být mléko nebo z něj vyrobené mléčné výrobky uváděny do tržní sítě. Celý postup je dán zákonem a příslušnými prováděcími předpisy. Výjimky, za velmi přísných a přesně definovaných podmínek, může udělit pouze Státní veterinární správa ČR, nebo příslušné hygienické orgány. Základní ošetření mléka se provádí podle schválených technologických postupů a na zařízeních, která jsou k tomuto účelu předem schválena. Zpracovatel je povinen o provedení základního ošetření mléka vést nařízenou evidenci. Tento postup je nezbytný pro zachování hygienické nezávadnosti mléčných výrobků a je používán prakticky ve všech vyspělých zemích [25].

2.1.1 Čištění a odstředování mléka

I když se syrové mléko čistí od mechanických nečistot při ošetřování v prvovýrobě mléka, z důvodu rizika případného znečištění při úchově, transportu a přejímání na rampě mlékárny, čistí se mléko ještě před tepelným ošetřením. K vyčištění mléka od hrubších nečistot se používají filtry zařazené do potrubí na přívodu mléka, dokonalé vyčištění mléka se provádí na odstředivkách. Nečistoty se usazují v kalovém prostoru odstředivky a odsud se ručně nebo automaticky v daných časových intervalech odstraňují [25].

Smetana se získává v průmyslovém měřítku odstředěním mléka. Oddělování smetany od mléka se nazývá odsmetaňování. Množství získané smetany je závislé na tučnosti syrového mléka, smetany a odstředěného mléka. Při odstředování je požadováno, aby do smetany přešel pokud možno veškerý tuk. Za vyhovující je považována tučnost 0,05 % [22].

2.1.2 Tepelné ošetření smetany

Veškerá smetana, určená ke konzumu nebo dalšímu zpracování musí být tepelně ošetřena, aby se zaručila její zdravotní nezávadnost, prodloužila trvanlivost a vytvořily optimální podmínky pro výrobu mléčných výrobků. Obecně rozlišujeme dva způsoby tepelného ošetření – pasteraci (ohřev do 100 °C), kdy trvanlivost smetany je omezena na několik dnů a sterilaci (ohřev nad 100 °C), kdy trvanlivost smetany je podle druhu záhřevu a způsobu plnění několik týdnů až měsíců. Druh a způsob záhřevu se volí podle účelu, ke kterému má být tepelně ošetřená smetana použita [25].

Účelem pasterace je zničení co největšího počtu mikroorganismů včetně patogenních, inaktivace enzymů (lipáz a peroxidáz) a minimalizovat chemické, fyzikální a organoleptické změny [22].

Smetana se pasteruje při teplotě 90 °C po dobu 2 – 10 s. Pro pasteraci se používají buď samostatné pastery, nebo pastery na mléko se smetanovou sekci. Skladba pastery je obdobná jako u mléka. Skládá se z regenerační sekce, kde se smetana předežhřívá a odvětrává z termosektoru a chladicí sekce, v níž se smetana dochlazuje na teplotu 7 °C [22].

Tato kombinace teploty a času zajišťuje zničení i nejtermorezistentnějších nesporelujících patogenních mikroorganismů vyskytujících se v mléce, jedná se o *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis* a *Coxiella burnetii* [26, 27]. Pokud jsou tedy v mléce devitalizovány tyto bakterie, jsou zničeny i ostatní bakterie, které mohou být případně přítomny [26].

Vysokou pasteraci přežívají endospory patogenů jako je *Clostridium botulinum* nebo bakterie způsobující kažení jako *Clostridium butyricum*, *Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium sporogenes* a *Bacillus* sp. Dále také mohou pasteraci přežít proteolytické bakterie, jako např. *Bacillus cereus* a *Bacillus subtilis*, nebo i bakterie tvořící plyny, zejména *Paenibacillus polymyxa* [26, 27].

Nízké pasterační teploty, mohou přežít kromě sporulujících, také některé termorezistentní bakterie, především bakterie mléčného kvašení – BMK (*Enterococcus*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Microbacterium*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Mycobacterium*, *Micrococcus* spp. a *Corynebacterium* spp.) [26, 27].

Jako důsledek postpasterační kontaminace, se nejčastěji objevují BMK, koliformní bakterie a proteolytické bakterie. Za příznivých podmínek v pasterované smetaně mohou produkovat vodík, oxid uhličitý, etanol, kyselinu mravenčí, kyselinu octovou a některou kyselinu mléčnou [28].

UHT je postup, při kterém jsou usmrceny veškeré formy mikroorganismů ve smetaně, dochází tedy k její sterilaci. Ošetření UHT se používá při výrobě trvanlivé smetany a zahrnuje několik technologických operací. Nejprve je smetana předeřhřáta, aby došlo k její fyzikální stabilizaci, potom dochází k ultrazáhřevu na 137 – 142 °C po dobu 1 – 2 sekund, následuje rychlé zchlazení a aseptické plnění a balení smetany. Při UHT ošetření smetany se používá buď nepřímý záhřev přes trubkový nebo deskový výměník tepla nebo přímý záhřev. Při přímém záhřevu je buď vstřikována vodní pára do smetany, nebo je vstřikována smetana do páry, kdy dochází k mžítkovému zvýšení teploty na 140 °C. Trvanlivá smetana má fyzikální, chemické a organoleptické vlastnosti smetany pasterované, ale její trvanlivost je podstatně delší, většinou 12 týdnů [26].

UHT zpracování u slabě kyselých potravin vyžaduje, aby byly devitalizovány spóry *Clostridium botulinum*. Ukázalo se však, že *Clostridium botulinum* není hlavní příčinou znehodnocení mléčných produktů [28].

Přestože je mikrobiální kažení UHT smetany velmi vzácné, lze v ní nalézt termostabilní a sporotvorné bakterie, jako je *Bacillus* sp., *Streptococcus*, *Micrococcus* a občas i některé G⁻ bakterie. Spóry bakterií rodu *Bacillus* a *Geobacillus* (*B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. coagulans*, *B. sporothermodurans* a *G. stearothermophilus*) přežívají UHT proces a mohou mít vliv na UHT výrobky [20, 28].

Bylo zjištěno, že spóry *B. cereus*, *B. licheniformis* a *B. coagulans* nejsou tak rezistentní jako spóry *B. subtilis* a *G. stearothermophilus*. *B. subtilis* (mezofilní a termofilní kmen) a termofilní *G. stearothermophilus* jsou zodpovědné za celou řadu mikrobiálních závad v jakosti smetany, včetně hořké vůně a smetanové řidnutí díky činnosti lipolytických a proteolytických enzymů. Tyto mikroorganismy také způsobují kažení produkcí organických kyselin [28].

Proces sterilace smetany spočívá v naplnění do obalů (lahví, plechovek apod.), jejich pře-dehřátí, vlastní sterilizace při teplotách 112 – 140 °C po dobu 20 – 35 minut [25, 28]. Na rozdíl od sterilizovaného mléka, předpisy pro mléčné výrobky vyžadují, aby sterilizovaná smetana byla zahřívána na teplotu nejméně 108 °C po dobu minimálně 45 minut. Ekvivalentní tepelné úpravy jsou povoleny a sterilizovaná smetana musí být ihned po tepelné úpravě zchlazena. Sterilizovaná smetana musí prokázat stejné mikrobiologické kvality jako UHT smetana [28]. Klasická sterilace v uzavřených distribučních obalech však nedoznala výrazného rozšíření vzhledem ke změnám v organoleptických vlastnostech smetany a snížení její nutriční hodnoty. Značného rozšíření došel teprve způsob již zmiňovaného UHT ošetření [25].

V zásadě platí, že uvnitř lahví nebo plechovek jsou vhodné anaerobní podmínky pro růst bakterií rodu *Clostridium*. Experimentálně bylo zjištěno, že inkubační teploty vyšší jak 63 °C, umožňují růst *Clostridium thermosaccharolyticum*. Nicméně, skladování sterilizované smetany při takové teplotě není obvyklé [28].

Bacillus licheniformis a *B. subtilis* je možno také nalézt ve sterilizované smetaně. Přítomnost *B. circulans* může mít za následek tvorbu fenolu. Pokud je sterilizovaná smetana uložena v chladu, pravděpodobnost závad způsobených růstem sporotvorných bakterií, které přežily zpracování, je velmi malá [28].

2.1.3 Další technologické kroky výroby smetany

Dalším důležitým technologickým krokem, který zbavuje smetanu cizích pachů z okolního nebo zemědělského prostředí, z krve nebo z krmiva, je odvětrávání smetany. Účelem odvětrávání je také zbavit smetanu rozpuštěného a dispergovaného vzduchu před pasterací a snížit tak riziko oxidačních změn tuku. Odvětrávání může mít také negativní účinek a to ve snížení obsahu přirozených aromatických látek [22].

Moderní odstředivky bývají doplňovány automatickou standardizací tuku. Jedná se o zařízení, které směšuje odtučněné mléko se smetanou v takovém poměru, aby bylo získáno mléko o požadované tučnosti, přebytek smetany je rovněž standardizován na požadovanou tučnost podle potřeby technologií [25].

Pro zlepšení kvality konečného výrobku, ale i pro vybrané technologie se provádí homogenizace. Cílem je zmenšení velikosti tukových kuliček, zajištění stabilnější emulze při skladování a zrání výrobku. Podle použitých podmínek rozlišujeme:

- nízká homogenizace – tlak 0,5 – 3 MPa, teplota 38 °C;
- střední homogenizace – tlak 10 MPa, teplota 38 °C;
- vysoká homogenizace – tlak 10 – 20 MPa, teplota 60 – 70 °C [24].

Homogenizace nízká a střední ovlivňuje pouze mléčný tuk, při vysoké jsou zasaženy i bílkoviny [24].

Nevratné obaly jsou bakteriologicky poměrně čisté. Vratné obaly – skleněné hladké plochy jsou snadno chemicky čistitelné. Nedostatečné čištění vede ke zbytkům nečistot nebo zbytkům výplachové vody [22].

Jako obalový materiál se používají plasty (především na bázi polyetyleny – PE) a papírové obaly (sulfátové bělené celulózy) na vnitřní straně chráněné filmem z PE, který zároveň činí obal svařitelným, vnější strana je opatřena vrstvou parafinu nebo umělé hmoty [25].

V současné době převažujícím obalem jsou kartony. Plnění tekutých výrobků do papírových obalů je výhodné, obaly jsou pevnější, udržují tvar a dají se použít pro skupinové balení, skladování a transport. Pro plnění pasterované smetany se běžně používá třívrstvá fólie a pro aseptické plnění UHT smetany jsou používány speciální vícevrstvé fólie, které jsou dezinfikovány v lázni s peroxidem vodíku [25].

2.2 Mikrobiální vady smetany

Vady smetany jsou způsobeny podobnými faktory jako u mléka. Vzhledem k technologii se však nevyskytují příliš často [22].

Ve smetaně jako finálním výrobku se nacházejí hlavně bakterie mléčného kvašení [23], které dotvářejí její organoleptické vlastnosti. Ovocná vůně je vyvolána bakterií *Pseudomonas fragi* a *Alcaligenes*, trpká vůně je způsobena růstem *Lactococcus lactis*, sladová vůně *Lactococcus lactis* var. *maltigenes* [22, 23]. Aby se zabránilo růstu laktokoků, je nezbytné

rychle vychladit mléko v zemědělském závodě a provádět důslednou sanitaci [21]. Na hořké vůni smetany se podílí *Proteus* a *Rhodothorula mucilaginosa*. Barevné změny smetany jsou připisovány bakteriím *Pseudomonas fluorescens* (zelený pigment) a *Shewanella putrefaciens* (černý pigment). Jako oportunní patogen se může v čerstvé smetaně vyskytnout *Pseudomonas aeruginosa*. Kvasinková a ovocná příchut' je způsobena zejména kvasinkami *Torula cremoris*, *Torula sphaerica* a *Candida pseudotropicalis* a také plísní *Geotrichum candidum* [23, 29].

Na změnách vůně se podílejí mikroorganismy svým metabolismem. Tyto vady mohou přecházet do smetany již ze syrového mléka nebo jsou následkem rekontaminace smetany. Vůně je označována jako ovocná, trpká, nečistá, kovová, sladová, hořká až hnilobná. Hlavní příčinou změny vůně je postpasterační kontaminace [22]. U konzumní smetany přispívá k rekontaminaci smetany potrubí, plnička, obaly aj., a když smetana není dostatečně zchlazená, zvyšuje se počet mikroorganismů [23].

Skladování smetany při chladírenských teplotách umožňuje rozmnožování psychrotrofních mikroorganismů, které činností lipáz a proteáz vyvolávají nečistou, hořkou až hnilobnou vůni. Cizí vůně je postřehnutelná za 10 – 14 dnů skladování při 4 – 7 °C. Je-li smetana uchovávána při vyšších teplotách, změna vůně se objeví během několika dní [22]. V Tab. 1 je uveden vývoj CPM (celkového počtu mikroorganismů) ve vztahu k teplotě a době skladování.

Tab. 1. Vývoj CPM ve vztahu k teplotě a době skladování [22].

| Dny skladování | Log CFU/ml | | |
|----------------|------------|------|------|
| | 4 °C | 6 °C | 8 °C |
| 0 | 3,45 | 3,45 | 3,45 |
| 10 | 3,6 | 4,9 | 6,6 |
| 13 | 4,7 | 6,9 | 7,1 |
| 17 | 5,7 | 7,6 | 7,2 |

Vady konzistence jsou způsobeny proteolytickou aktivitou a jsou charakterizovány tvorbou sraženiny bez změny pH. Původci této vady jsou zástupci rodu *Bacillus*, především *Bacillus cereus*. Tato vada se objevuje při skladování smetany při teplotách vyšších jak 8 °C [22].

V Tab. 2 – 4 jsou uvedeny podle Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 mikrobiální kritéria (KTJ – kolonie tvořící jednotku) pro jednotlivé druhy smetany.

Tab. 2. Tekutá pasterovaná smetana [30].

| Mikroorganismy | Plán odběru vzorků | | Limity | |
|---------------------------|--------------------|---|-----------|----------|
| | n | c | m | M |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | 5 | 2 | <1 KTJ/ml | 5 KTJ/ml |

Poznámka: kritérium se nevztahuje na výrobky určené k dalšímu průmyslovému zpracování; n - počet jednotek tvořících vzorek, c - počet jednotek vzorku, jejíž hodnoty leží mezi m a M

Tab. 3. Smetana vyrobená ze syrového mléka nebo z mléka, které bylo podrobena nižšímu tepelnému ošetření než pasterací [30].

| Mikroorganismy | Plán odběru vzorků | | Limity | |
|-------------------------|--------------------|---|----------|-----------|
| | n | c | m | M |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 2 | 10 KTJ/g | 100 KTJ/g |

Poznámka: *E. coli* zde slouží jako indikátor úrovně hygieny

Tab. 4. Sušená smetana [30].

| Mikroorganismy | Plán odběru vzorků | | Limity | |
|--------------------------------|--------------------|---|----------|-----------|
| | n | c | m | M |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 2 | 10 KTJ/g | |
| Koagulázopozitivní stafylokoky | 5 | 2 | 10 KTJ/g | 100 KTJ/g |

Poznámka: kritérium se nevztahuje se výrobky určené k dalšímu průmyslovému zpracování

Opatření v případě nevyhovujících výsledků:

- *Enterobacteriaceae* – kontrola účinnosti tepelného ošetření a prevence opětovné kontaminace, jakož i jakosti surovin;
- *Escherichia coli* – zlepšení hygieny výroby a výběru surovin;
- koagulázopozitivní stafylokoky – zlepšení hygieny výroby a výběru surovin, pokud jsou zjištěny hodnoty >105 KTJ/g, musí být příslušná partie vyšetřena na stafylokokové enterotoxikózy [30].

3 MÁSLA

Máslo je potravinářský výrobek, který je vyráběn výhradně ze smetany [31]. Obsahuje nejméně 80,5 % mléčného tuku, 16,5 % vody, 2 % kuchyňské soli, 1 % tvarohu a stopy laktózy [32]. Mléčné startovací kultury, barviva a neutralizační činidla mohou být použita během výroby. Obvykle však není dovoleno do másla přidávat jiné konzervační přípravky, než je sůl nebo antioxidanty [33]. Másla se vyrábějí v několika tržních druzích o různém složení:

Másla čerstvá: pro potřeby trhu se vyrábějí s různým obsahem tuku, vod, obsah volných mastných kyselin (H^+) je 10 až 20 $mmol.kg^{-1}$. Čerstvým máslem je máslo do 20 dnů od data výroby [22].

Másla speciální: kde část mléčného tuku je nahrazena jiným tukem, eventuelně s přísadami vitamínů, nebo s obsahem NaCl (1 až 2 %), případně jinak upravená. Trvanlivost je jako u másla čerstvého [22, 33].

Másla skladovaná: vyrábějí se ve více tržních druzích s požadavky jako na máslo čerstvá, která jsou však určena pro skladování, zpravidla při $-18^{\circ}C$. Během skladování těchto másel se zvyšuje obsah volných mastných kyselin až k 25 $mmol.kg^{-1}$. Při expedici se máslo rozmrazuje při teplotě kolem $20^{\circ}C$, zpravidla po 2 až 4 dny dle velikosti balení, na teplotu $2^{\circ}C$. Činnost a růst mikroorganismů se při zmrazování zvyšuje úměrně s časem a teplotou. Trvanlivost se zkracuje [22].

Máslo stolní: jsou máslo dlouhodobě skladovaná, nejdéle 24 měsíců od data výroby při teplotách $-18^{\circ}C$ a nižších [22].

3.1 Mikrobiální rizika výroby másla

Počáteční mikroflóra produktu je dána mikrobiologickou jakostí surovin [33]. Základní surovinou pro výrobu másla je čerstvá smetana, získaná odstředěním, o optimální tučnosti 36 – 42 % [24, 34]. Vliv ošetření smetany před pasterací se projevuje v mikrobiálním narušení smetany. To se projeví zhoršením smyslových vlastností másla. Vlastní pasterace se projevuje tak, že máslo vyrobené ze smetan vysoko pasterovaných jsou trvanlivější [23].

Výroba másla se skládá z následujících operací: získávání smetany odstředováním, úprava smetany (tepelné ošetření, fyzikální, příp. biologické zrání), zmáslňování smetany a úprava másla [24]. V průběhu výrobního procesu se skladba mikroorganismů částečně mění.

K původním mikroorganismům, které přežily pasteraci, přistupují mikroorganismy z chladičů a zracích tanků [22].

3.1.1 Pasterace, odvětrávání a chlazení smetany na výrobu másla

Smetana se před zpracováním másla pasteruje při teplotě 95 – 110 °C po dobu 2 – 10 s [23]. Pro pasteraci se používají vyšší teploty, jednak proto, že smetana obsahuje více bakterií než mléko a dále pro zvýšený obsah tuku ve smetaně, který snižuje přestup tepla z ohřívacího média a tím i pasterační efekt [24]. Poté se odvětrává a chladí při teplotě 4 – 5 °C [35].

Pasterací je zničena většina vegetativních buněk a BMK, ale spory bakterií a některé termostabilní mikroorganismy jako jsou streptokoky a *Microbacterium lacticum* mohou přežít v malém množství [34, 36]. Také psychrotrofní pseudomonády se mohou vyskytovat po pasteraci smetany [36].

3.1.2 Zrání smetany na výrobu másla

Proces chlazení a fermentace se nazývá zrání smetany [24]. V podstatě se praktikují dva typy zrání smetany: máslo ze sladké smetany (fyzikální zrání + NaCl) a máslo ze zakysané smetany (biologické zrání + zákysové kultury) [23, 37]. Fyzikální zrání smetany probíhá při teplotě nepříznivé pro rozvoj mikroorganismů. Při výrobě másla ze sladké smetany se proto složení a množství mikroorganismů před stloukáním mění jen nepatrně. Při výrobě másla z kyselé nebo polokyselé smetany dochází k podstatnější změně. Rozvoj nežádoucích mikroorganismů, které se ve smetaně obyčejně vyskytují, je při biologickém zrání brzděn kyselinou mléčnou a jinými metabolity činností smetanové kultury [22].

Fyzikální zrání smetany ovlivňuje konzistenci másla. Smetana, která projde termosektorem má vysokou teplotu a TAG jsou v tukových kuličkách v tekutém stavu. Rychlým zchlazením smetany na 7 – 8 °C dochází k tvoření malých krystalů. Vychlazená smetana se přečerpá do uzrávačů, kde se při nízké teplotě udržuje další dvě hodiny. To je dostatečná doba, aby vykrytalizovalo 50 % TAG. Po této době se smetana ohřeje na 19 – 20 °C, po 3,5 hod. se smetana zchladí na 16 °C a při této teplotě zraje přes noc. Zahřívání se provádí z mezistěny uzrávače. Při zahřátí smetany dojde k rekrystalizaci a tvorbě velkých krystalů, s relativně malým povrchem. Ve směsi je dostatek volných, krystalů nevázaných podílů. Tento proces má vliv na roztíratelnost másla [23].

Podstatou biologického zrání smetany je mléčné kysání, při kterém vznikají kromě kyseliny mléčné i jiné produkty, jako je acetoin a diacetyl [23, 37]. Při biologickém zrání do pH 5,2 se vhodnou regulací teploty dosahuje současně i zrání fyzikální. Máslo získává specifické vlastnosti v chuti, arómatu a větší údržnost [23].

Správné kysání pasterované smetany se zajišťuje inokulací vhodných kultur. Technicky se provádí přidavkem tzv. smetanového zákysu [23]. Ten je obvykle připraven z pasterizované zakysané smetany za pomoci BMK po dobu 24 – 48 hodin při teplotě 8 – 19 °C před zmáslněním.

1. Mikroorganismy zodpovědné za vysokou kyselost

Lactococcus lactis a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* produkují velké množství kyseliny mléčné z laktosy mléka. Sloučeniny tvořené kyselinou mléčnou významně ovlivňují činnost mikroorganismů. Výsledkem je produkt, který má výraznější chuť a aroma. Bakterie mléčného kvašení produkují okolo 7 – 1,2 % kyseliny mléčné [35].

2. Mikroorganismy zodpovědné za vůni a barvu másla

Mikroorganismy zodpovědné za vůni a barvu másla, se většinou skládají ze směsi *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* a *Leuconostoc citreum*. Aroma a vůně je závislá na koncentraci kyseliny mléčné a kyseliny citrónové [35].

Proces biologického zrání smetany je automatizován. Kyselost i teplota se sledují vhodnými čidly. Biologické zrání smetany a automatizace jeho průběhu jsou standardizačními faktory pro výrobu másla vyrovnané jakosti [23].

3.1.3 Způsob výroby másla

Máslo se získává zmáslňováním vhodně upravené smetany diskontinuálním způsobem (máslnice) nebo kontinuálními metodami (zmáslňovače), které převažují [24]. V dnešní době se máslo vyrábí spíše kontinuálně (moderně) než diskontinuálně (tradičně) [33].

Výroba másla, tzv. stloukáním smetany se v malé míře provádí v máslnicích. Prakticky vymizel typ dřevěných sudových máslnic. K jejich náhradě došlo právě proto, že se poznala souvislost mnoha vad másla s rekontaminacemi u dřevěných sudů, jejichž čištění i dezinfekce je pro poréznost materiálu nedokonalé. Dřevěné máslnice byly nahrazeny kovovými, sudového, později krychlového i dvoukuželového tvaru [23].

Při stloukání másla přechází velká část mikroorganismů smetany do podmáslí. Při výrobě másla je také velmi důležitá i mikrobiální kvalita vody, protože voda se používá přímo na promývání másla. Přítomnost většího počtu koliformních mikroorganismů nebo jiných nežádoucích mikroorganismů může nepříznivě ovlivnit nezávadnost másla [22].

Objasnění teorií zmáselňování mléčného tuku vedlo k vývoji a k realizaci moderních zmáselňovačů. Zmáselňovače využívají při výrobě másla 3 systémy: zpěňovací (flotační) způsob, koncentrační (odstředovací) způsob a emulgační způsob [23, 24].

3.1.4 Úprava smetany barvením

K zvýraznění žlutavého zabarvení másla se smetana přibarvuje přírodním barvivem z Bixaorelana. Barvivo do másla je červeno-žluté až oranžové barvy, čiré bez sedimentu. Připravuje se rozpuštěním v jakostním světlém oleji. Je bez vůně a chuti. Přísada do smetany je 10 až 20 ml na 100 l, v létě asi jedna polovina. Přísada musí být ve smetaně správně promíchána, aby máslo nebylo skvrnitě [23].

3.1.5 Přeměna smetany na máslo

Máselné zrno vzniká ze smetany při mechanickém otřásání, je-li tuk z části krystalický a z části tekutý. Měřítkem pro stloukací schopnost smetany je čas potřebný pro vytvoření máselných zrn a minimalizace tuku v podmáslí [23].

3.1.6 Balení másla

Pro rozvoj mikroorganismů v másle je potřeba vzdušného kyslíku. Za přístupu vzduchu se rozvíjejí hlavně plísně. Přítomnost vzduchu v másle je potřebná zvláště pro počáteční rozvoj aerobních mikroorganismů ve vnitřku hmoty másla. Je potřeba mít na zřeteli, že po spotřebování tohoto kyslíku růst mikroorganismů se sice zastaví, ale jen na přechodnou dobu, než se mikroorganismy částečně adaptují na jiné způsoby využívání kyslíku [22].

3.1.7 Skladování másla

Aby se zabránilo kontaminaci plísněmi, jsou másla skladována v atmosféře CO₂ a v uzavřených nádobách. Podobné výsledky vykazuje plynný dusík [29]. Trvanlivost másla závisí na kapkách plazmy. Čím více kapek v másle je sterilních, tím je máslo trvanlivější. Sterilních kapek je tím více, čím méně mikroorganismů je v 1 g a čím je plazma rozptýlena [22].

Máslo může být po dlouhou dobu skladováno při nízké teplotě, a to po dobu 6 měsíců při teplotě $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo i rok při teplotě $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Spotřebitelská skladovatelnost je při teplotě do $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 6 až 12 týdnů. Pro růst mikroorganismů je máslo méně vhodným prostředím:

- máslo obsahuje méně laktózy; která je pro mikroby důležitým zdrojem k jejich růstu.
- máslo obsahuje méně vlhkosti; v případě, že dojde ke snížení aktivity vody, je pro mikroby nevyhovující.
- solené máslo; sůl zamezuje růstu mikrobů, působí tedy jako konzervační prostředek.
- voda v másle je typ fáze voda – olej; takže i v případě kontaminace se nemohou mikroby pohybovat v tukovém rozhraní, čímž se minimalizuje kažení.
- máslo ze zakysané smetany; může kontrolovat růst bakterií, které jsou citlivé na kyseliny [29, 38]. V másle ze sladké smetany nepotlačuje nízký obsah kyseliny mléčné růst mikroorganismů. Při uchování másla ze sladké smetany stoupne celkový počet mikroorganismů často více než při uchování másla ze zakysané smetany. V másle z čerstvé smetany (při nízké kyselosti) a vhodných teplotních podmínkách se mikroorganismy rozmnožují až od určitého maxima, v závislosti na obsahu netuků a kyselosti [23].

3.2 Mikrobiální vady másla

Po výrobě a hlavně při uskladnění nastávají v másle změny, jejichž příčinou jsou změny chemické nebo aktivita přítomných mikroorganismů. Podle stupně rozvoje těchto změn se jedná o vady v chuti či arómatu nebo o kažení. Působení vlivů je do jisté míry dáno teplotou, při teplotách nad $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ většinou převažují změny podmíněné mikroorganismy [21]. Přirozená chuť a vůně másla by měla být čerstvá, čistá, známá jako oříšková [29]. Kažení másla začíná buď ve vodní fázi, nebo v tukové fázi [21].

Přestože moderní výrobní technologie výskyt bakteriálního kažení másla podstatně snížily, stále se tímto typem kažení lze setkat. Vegetativní buňky a jejich enzymy jsou v másle lokalizovány hlavně do vodní fáze, kde je dostatek živin pro růst mikroorganismů. V másle s přídavkem kulturní mikroflóry je růst kontaminující mikroflóry omezen vyšším obsahem kyseliny mléčné ve výrobku. Bakteriální kažení se zpravidla objevuje 7 – 10 den skladování a je provázeno výskytem skvrn na povrchu másla [21].

Kvasinkovou a hořkou příchuť vyvolávají *Torulopsis cremoris*, *Torulopsis sphaerica*, *Cryptococcus laurentii*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida lipolytica*, *Rhodotorula diffluens* [22, 29, 32]. Kovová příchuť se připisuje i mléčné kultuře, když jsou pro mikroorganismy nepříznivé vývojové podmínky [22].

V průběhu skladování másla jsou nejčastěji vady másla, které vyvolaly mikroorganismy projevující se žluklou chutí másla, na které se zúčastňují *Oospora lactis*, *Cladosporium butyri*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi*, *Aeromonas punctata*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Alcaligenes*, plísně rodu *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Clostridium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Geotrichum*, *Monilinia*. Vůni a chuť másla po sýru vyvolává *Shewanella putrefaciens*, *Flavobacterium maloloris* a *Pseudomonas mephitica*. Tato vůně může přecházet až na zápach připomínající potíci se nohy (tvorba volné kyseliny máselné a kyseliny izovalerové). Rybí příchuť způsobuje činnost *Aeromonas hydrophila*, sladovou příchuť *Lactococcus lactis*. Mikroorganismy se zúčastňují i barevných změn másla, zejména *Carnimonas nigrificans* a *Sarcina* [22, 29, 39].

Máslo vyráběné z pasterované smetany neposkytuje vzhledem ke svým fyzikálně-chemickým vlastnostem příznivé prostředí pro růst a přežívání patogenních mikroorganismů. Přesto jsou v souvislosti s konzumací másla popisovány nákazy způsobené *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* a kampylobaktery. Příčinnou výskytu těchto patogenů v másle je kombinace nedostatečné hygieny při výrobě másla a vyšších skladovacích teplot výrobků. *L. monocytogenes* se může pomalu množit i v másle skladovaném při chladírenských teplotách a v mraženém másle přežívá několik měsíců. Bylo prokázáno, že *Campylobacter jejuni* přežívá v másle při 5 °C 13 dní [21].

V Tab. 5 jsou uvedeny podle Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 mikrobiální kritéria pro máslo.

Tab. 5. Máslo vyrobené ze syrového mléka nebo z mléka, které bylo podrobena nižšímu tepelnému ošetření než pasterací [30].

| Mikroorganismy | Plán odběru vzorků | | Limity | |
|-------------------------|--------------------|---|----------|-----------|
| | n | c | m | M |
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 2 | 10 KTJ/g | 100 KTJ/g |

Poznámka: *E. coli* zde slouží jako indikátor úrovně výživy

4 MRAŽENÉ SMETANOVÉ KRÉMY

Mražené smetanové krémy (MSK) jsou zmražené směsi, které obsahují mléčný tuk nad 10 %, mléčnou tukuprostou sušinu, cukr, látky chuťové, aromatické, emulgátory a stabilizátory. Změny poměru jednotlivých složek a doplňujících látek vedou k široké sortimentní rozmanitosti těchto výrobků [23].

4.1 Mikrobiální rizika výroby MSK

4.1.1 Mikrobiologická kvalita surovin MSK

Zdrojem mléčného tuku jsou především smetana a máslo, mohou však být přidávány i rostlinné tuky [39]. Mléčný tuk hraje významnou roli v MSK. Ovlivňuje vůni, chuť a strukturu a podílí se na stabilitě struktury. V době zmrazování vytvářejí tukové kuličky ochrannou vrstvu na povrchu vzduchových bublinek a tím zabraňují jejich splynutí. Tukové kuličky se v MSK částečně shlukují a to je velmi důležité pro udržení tvaru a suchosti extruze [23].

Mléčnou tukuprostou sušinu poskytuje smetana nebo odstředěné mléko buď v původním stavu, nebo zahuštěné, slazené i neslazené, popř. dobře rozpustné sušené mléko. Množství mléčné sušiny se upravuje podle obsahu tuku ve směsi [39]. Mléko, smetana, mléčné koncentráty a sušené mléko nebývají většinou příčinnou kontaminace MSK, protože jsou tepelně ošetřeny [23]. V sušeném mléce se může vyskytnout ve větším množství *Bacillus cereus* a vzácně *Salmonella* sp., nebo také může sušené mléko sloužit jako zdroj pro *Listeria monocytogenes*, která má schopnost přežít rozprašovací a sušící proces [23, 37].

Máslo vyráběné z vysoce pasterované smetany, má dobrou mikrobiální jakost. Ojediněle může obsahovat koliformní flóru. Z pseudomonád je nežádoucí *Pseudomonas fragi*, který může vyvolat nepříjemnou chuť másla [23].

Sacharidy zajišťují sladkou chuť [23]. Z cukrů je nejčastěji používána sacharosa buď v pevné formě, nebo 70 % roztok, nekalorická sladidla, fruktóza. Obsah sacharosy se pohybuje v rozmezí 10 až 18 %. Část sacharózy může být nahrazena glukózou nebo sladkým syrovátkovým sirupem s hydrolyzovanou laktózou, případně umělými sladidly. Sacharidy mají vliv na konzistenci, zášleh, teplotu mražení a tání směsi [39]. Chrání vodní fázi MSK před zmrazováním celého podílu i při velmi nízkých teplotách, což zlepšuje konzistenci výrobků. Cukry, granulované nebo sušené, bývají většinou sterilní a jediné mikroorganismy, které se mohou objevit, jsou kvasinky. Rovněž různé sirupy mohou obsahovat kva-

sinky [23]. Osmofilní druhy jako *Zygosaccharomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Torula* jsou schopny se zde rozmnožovat. Na povrchu sirupů mohou růst plísně [23, 40].

Rostlinné tuky jsou vyráběny z tepelně ošetřených surovin a mají velmi nízký obsah vody. Proto obsahují minimální počet mikroorganismů [23].

Stabilizátory mají schopnost vázat značné množství vody, brání tvorbě velkých krystalů a tím vzniku hrubé struktury při skladování. Jejich přídavek zlepšuje stabilitu zášlehu. Jsou používány proteinové stabilizátory, nejčastěji želatina nebo koncentráty mléčných bílkovin a dále polysacharidové stabilizátory, mezi které patří algináty, karagenany, škroby, metylcelulóza, rostlinné gummy, slizy apod [39].

Emulgátory napomáhají tvorbě emulze dvou nemísitelných fází (voda – tuk), zlepšují šlehatelnost, zjemňují strukturu a dávají tuhý a suchý výrobek při výstupu z výrobníku. Potravinářské emulgátory obsahují především mono- nebo mono- a diacylglyceroly mastných kyselin [41]. Emulgátory a stabilizátory nepředstavují mikrobiální riziko pro MSK s výjimkou želatiny, která může obsahovat enterokoky nebo jiné mikroorganismy, zvláště není-li skladována v suchu [23].

Z přísad, přidávaných do směsi, mohou čerstvé a mražené ovoce obsahovat kvasinky (*Brettanomyces*, *Kloeckera*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torulopsis*, *Zygosaccharomyces*), ořechy plísně (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*) a kokosové ořechy mohou být kontaminovány bakterií *Salmonella* sp [22, 40, 41].

Barviva mohou být kontaminována pracovníky při nevhodném zacházení s nimi, stejně tak aromatické látky, které se přidávají až po tepelném ošetření [23].

4.1.2 Mikrobiologická kvalita výrobního procesu MSK

Směs pro MSK je tepelně ošetřený produkt a jeho kvalita závisí na dodržení všech teplotních režimů. To vyžaduje monitorování celého výrobního procesu a kontrolu všech teplotních parametrů [23].

Bylo prokázáno, že směs na výrobu MSK lépe chrání mikroorganismy před účinky tepla než mléko. To zdůrazňuje význam dodržení teploty a doby tepelného ošetření [23].

4.1.3 Pasterace zmrzlinové směsi

Pro získání mraženého výrobku s vhodnými organoleptickými vlastnostmi, objemem a strukturou je nutno sestavit vhodnou směs podle receptury. Potřebné suroviny se naváží

nebo odměří, některé složky se mohou přidávat v suchém stavu, některé je potřeba nechat nabobtnat (především želatina) nebo speciálně upravit (rozpuštění modifikovaných škrobů v horké vodě nebo mléce). Ostatní složky se přidávají do tekuté fáze předeřhát asi na 40 °C. Po dokonalém promíchání je prováděno tepelné ošetření. Používá se jak dlouhodobá pasterace na kotlových pasterech (63 až 68 °C po dobu 30 minut), tak i pasterace na deskových pasterech při teplotě 83 až 85 °C po dobu 15 až 30 sekund nebo i mžítkového UHT záhřevu na teploty až 150 °C [39].

Chladiče a potrubí z pasteračního zařízení, kondenzátory a míchadla používaná k míchání zmrzliny jsou nejčastějšími zdroji znečištění koliformními bakteriemi. Také nevhodně uzavřené nádoby na zmrzlinu mohou být zdrojem patogenů [29].

4.1.4 Homogenizace zmrzlinové směsi

Pasterovaná směs se ochladí na teplotu 60 až 70 °C, filtruje a homogenizuje [39]. Homogenizační proces má malý účinek na mikroorganismy. Bakteriální buňky jsou sice rozrušeny, nicméně je důležité sledovat jejich maximální celkový počet. Homogenizátor musí být udržován v čistém a hygienicky nezávadném stavu, neboť může snadno dojít k postpasterační kontaminaci zmrzlinové směsi koliformními bakteriemi nebo jinou skupinou bakterií [29].

4.1.5 Zrání a chlazení zmrzlinové směsi

Po homogenizaci se směs ochladí na teploty 2 až 4 °C a při této teplotě se udržuje po dobu 4 až 24 hodin [39]. Malý nárůst celkového počtu mikroorganismů může být důsledkem kontaminace pocházející z chladicího boxu. Náhlé snížení chladicí teploty má jen malý vliv na bakterie ve zmrzlinové směsi [29].

Dochází k fyzikálnímu zrání, při kterém dojde ke krystalizaci mléčného tuku a zvýšení viskozity, zlepšující šlehatelnost výrobku. Dlouhodobé skladování zmrzlinové směsi může vést k rozvoji psychrotrofních bakterií [39].

4.1.6 Zmražení zmrzlinové směsi

Před zmrazováním se do směsi přidávají aromatické látky, ovocné šťávy, dřeně, ořechy, mandle, nugát apod. Směs se zmrazuje ve speciálních mrazicích strojích (freezer) při teplotě -35 až -40 °C za současného šlehání k dosažení vhodné konzistence a objemového přírůstku – nášlehu. Nášleh se obvykle pohybuje v rozmezí 70 – 140 % [39]. Nášlehaná směs

(označována jako mix), vycházející z výrobníku (o teplotě -3 až -5 °C) je již natolik pevná, že je ji možno tvarovat buď volně, nebo do forem, kelímků a jiných obalů. Výrobky jsou po formování polotuhé a nedovolují další přepravu ani manipulaci. Proto se po naplnění do obalu, resp. forem, zmrazují buď přímo v tvarovacích automatech, nebo v mrazících tunelech, jen výjimečně v mrazárnách při teplotě -18 až -28 °C, a při této teplotě se dále skladují. Zmrazení musí být rychlé, aby se nevytvořily velké krystaly ledu, které by vytvořily hrubou strukturu výrobku [25].

Celkový počet bakterií se může zvýšit kontaminací ze zařízení a rozpadem bakteriálních buněk během výroby. Jen malý počet mikroorganismů je usmrcen mrazem v důsledku mechanického poškození krystaly ledu (př. *Salmonella typhi* – přežití po dobu 28 měsíců při teplotě až -20 °C, *S. paratyphi* a *Brucella* – přežití po dobu 4 let při teplotě až -23 °C, *Mycobacterium tuberculosis* – přežití po dobu více než 30 měsíců) [29].

4.1.7 Balení a skladování zmrzlinové směsi

Při výrobě MSK ve tvaru kostek je mix dávkován do tvořítek chlazených solankou, kde je rychle zamrazován. Při dostatečně tuhé konzistenci se do něj automaticky zasouvají držátka a pokračuje další zmrazování. Na konci své rotační dráhy se tvořítka krátkodobě ohřejí, zmrazené kostky se tak uvolní a uchopením za držátko vyjmou z tvořítek. Kostky se případně dále ponoří celé nebo z části do vytemperované čokolády nebo jiné polevy. Poleva na povrchu kostky utvoří souvislou vrstvu a rychle ztuhne. Hotové kostky se dále automaticky balí do papíru opatřeného termoplastovým nátěrem a teplem se uzavírají, skládají do transportních kartonů a ukládají v mrazárně. Máčení do polevy je možno dále doplnit sypáním ořechové drtě apod. Při výrobě MSK do kornoutů, kelímků, vaniček apod. se mix plní přímo do těchto obalů [25].

Balení, lití a tvarování zmrzliny musí být pečlivě provedeno, aby se zabránilo kontaminaci zmrzliny. Malé formy na odlévání zmrzliny jsou častým a závažným zdrojem kontaminace, z důvodu jejich opětovného použití, bez přiměřeného čištění a sanitace. Ruce a pracovní oděv pracovníka by měly být neustále čisté [29].

Skladování zmrzlinové směsi se provádí se při teplotě -18 až -29 °C. Jedná se o postupný pokles celkového počtu bakterií během skladování. Zmrzlá voda neumožňuje rozvíjení metabolismu mikrobů [29].

4.1.8 Prodej zmrzliny

Významným zdrojem znečištění jsou lžice a lopatky na nabírání zmrzliny, ve kterých bylo zjištěno vysoký počet mikroorganismů. Největším rizikem je ponořená lžice ve vodě. Před použitím je vhodné lžici ještě opláchnout pod tekoucí vodou. Dále jsou rizikem otevřená víka papírových krabic, na kterých mohou ulpívat nečistoty z ovzduší a prach, zahrnující rody *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Sarcina*, *Bacillus* a *Achromobacter* [29].

V závodech na výrobu zmrzliny byly odebrány vzorky na přítomnost mikroorganismů, jak z výrobní linky, tak i ze životního prostředí. Nejvíce mikroorganismů bylo přítomno na dopravním balícím pásu. Tyto bakterie byly identifikovány jako G⁻ bakterie, patřící do čeledi *Enterobacteriaceae*, zejména *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Shigella*, *Escherichia*, *Edwardsiella*. Kmeny bakterií *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Moraxella*, *Pseudomonas* nebo *Alcaligenes* byly také izolovány. Odebrané vzorky ze zmrzlin ukázaly přítomnost na kmeny G⁺ bakterií, včetně *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Listeria* a BMK, jako je *Leuconostoc* nebo *Pediococcus* spp [42].

Výsledky této studie však poukázala na hlavní problém v šíření patogenů *Listeria* a *Shigella* spp. Mnoho výzkumů prokázalo, že některé kmeny *Listeria monocytogenes* mohou přežít na kontaminovaných zařízeních a zmrzlinách několik měsíců až dokonce let. Z tohoto důvodu je nutná minimální kontaminace produktu a omezení nadměrného používání chemických prostředků pro čištění a dezinfekci zařízení [42].

V Tab. 6 jsou uvedeny podle Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 mikrobiální kritéria pro zmrzliny a mražené mléčné dezerty.

Tab. 6. Zmzlina a mražené mléčné dezerty[30].

| Mikroorganismy | Plán odběru vzorků | | Limity | |
|---------------------------|--------------------|---|----------|-----------|
| | n | c | m | M |
| <i>Enterobacteriaceae</i> | 5 | 2 | 10 KTJ/g | 100 KTJ/g |

Poznámka: pouze zmrzliny obsahující mléčné složky

5 METODY KONZERVACE U MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

K zachování emulze typu tuk ve vodě je zapotřebí komplexní rovnováhy mezi vnitřními a vnějšími faktory. Vnitřní faktory se týkají fyzikální struktury a složení vodné fáze, vnější faktory zahrnují teplotu a dobu skladování [41].

5.1 Vnitřní faktory

5.1.1 Kompartmentalizace vodné fáze

V máslových pomazánkách s kontinuální vodní fází je voda rozptýlena do malých kapének vody v kontinuální tukové fázi. Při jejich nevhodném technologickém zpracování však mohou být přítomny velké kapky vody, které by byly dobrým zdrojem živin pro bakterie. Kompartmentalizace vody je tedy důležitá pro mikrobiologickou stabilitu. Výskyt kontaminujících bakterií v kapénkách vody v dostatečně malé velikosti, aniž by se zdvojnásobil počet kontaminujících mikroorganismů nebo kvasinek, je fyzicky nemožný. To může být důležité z hlediska prevence proti růstu aerobních sporotvorných bakterií v másle, které přežily pasteraci. Růst mikroorganismů může být tedy inhibován nebo alespoň omezen, neboť zdroj živin pro kapky vody bude limitován. Pokud jsou všechny kapénky vody dostatečně velké k tomu, aby obsahovaly kontaminující mikroorganismy, jejich úroveň by neměla přesáhnout 10^2 CFU/cm³ [41].

Fyzikální stav na povrchu mléčných výrobků s kontinuální tukovou fází se může značně lišit, vzhledem k jejich velkému množství. Kromě toho, mikroorganismy mohou pocházet z jiných zdrojů (postpasterační kontaminace) než jsou kapénky vody. Pro tyto mikroorganismy je kompartmentalizace vody také důležitá, ale jiným způsobem. Vzhledem ke kontinuální povaze tuků, bude jejich vlhkost na povrchu omezena do takové míry, která neumožňuje růst mikroorganismů, pokud dojde ke kondenzaci tuků na povrchu. Vytvořit mikrobiální stabilitu emulze z typu voda v oleji na olej ve vodě, jde jen tehdy, pokud je fyzikálně stabilní [41].

5.1.2 Využití nových technologií

Kromě tradičních metod, jako je tepelné ošetření, mechanické odstředování, sušení a zmrazení, jsou potravinářským průmyslem k dispozici nové technologie, které nejen zvyšují účinnost technologického zpracování výrobku, ale také jeho trvanlivost, mikrobiologickou bezpečnost a funkční vlastnosti (Tab. 3) [43].

Tab. 7. Přehled nových technologií při výrobě mléčných výrobků [48].

| Technologie | Vliv na mléko | Možné mlékárenské aplikace |
|--|---|--|
| Vysokotlaké ošetření | Inaktivace mikrobů a enzymů, změny funkčnosti bílkovin | Ošetření funkčních produktů, předběžné ošetření při výrobě mražených krémů, sýrů a jogurtů |
| Vysokotlaká homogenizace | Emulgace, inaktivace mikrobů a enzymů | Ošetření tekutého mléka, předběžné ošetření při výrobě sýrů a jogurtů |
| Pulzní elektrické pole | Mikrobiální inaktivace, změny velikosti micel a syřidlové koagulace | Ošetření tekutého mléka, předběžné ošetření při výrobě sýrů |
| Ultrazvuk | Inaktivace bakterií a enzymů | Ošetření tekutého mléka a jogurtů |
| Světelné pulzy o vysoké intenzitě | Mikrobiální inaktivace | |
| Oscilační magnetické pole | | |

Některé postupy jsou v laboratorní a jiné v průmyslové fázi, některé jsou patentovány. Nejvíce pozornosti je věnováno vysokotlakým technologiím. Tyto technologie sice už byly popsány před 100 lety, ale teprve v 90. letech minulého století se začalo s jejich komerčním využitím v Japonsku, a sice pro šťávy, maso, hotové pokrmy a mořské živočichy. Ve sféře mlékárenských produktů je tato technologie teprve na začátku. Specifická je vysoká citlivost bílkovin a enzymů. Např. bylo zjištěno, že při určitých podmínkách aplikovaných na obohacené sójové mléko došlo, kromě zamýšlené inaktivace mikroorganismů i ke zvýšenému zachování protilátek (IgG). Při aplikaci PEF na směs šťávy a mléka se zase zvýší stabilita vitaminů rozpustných ve vodě a peptidových ACE-inhibitorů [44].

5.1.3 pH

Hodnota pH v mléčných výrobcích je zřídka tak nízká, aby inhibovala růst mikroorganismů. Nicméně, ani nízká hodnota pH není dostačujícím prostředkem k zamezení růstu kvasinek a plísní. V některých mléčných výrobcích je hodnota pH kritická, zvláště v kombinaci s některými konzervačními aditivami [41].

Většina států nepovoluje přidavek žádných konzervantů s cílem prodloužit trvanlivost u mléčných výrobků. Někde jsou výjimky – např. kyselina sorbová, kyselina benzoová, kyselina boritá či borát sodný. Zvláště máslo ze zakysané smetany je velmi citlivé na oxidaci. Proto je v některých zemích neutralizováno přidavkem alkalických solí (oxid vápenatý,

uhličitan sodný nebo hydroxid sodný). V ČR je možné přidávat pouze kyselinu citrónovou ve fázi, kdy máme máselné zrno a hněteme. Kyselina se přidává do másla ze sladké smetany [39].

Nedisociované formy kyselin jsou účinné zejména proti plísním, kvasinkám a některým sporotvorným bakteriím. Účinek kyselin a alkalických solí do jisté míry souvisí také s jinými faktory, jako je např. procentuální zastoupení tuku v mléčných výrobcích, na vodní disperzi, na složení vodné fáze, teplotě a době skladování [41].

5.1.4 Roztok NaCl

Kontrolu bakteriálního růstu v másle efektivně zajišťuje sůl (NaCl) [28]. Její účinnost spočívá ve snižování aktivity vody [45]. Sůl musí být rovnoměrně rozptýlena, aby došlo ke vzniku mnoha kapének vody s určitou její koncentrací, která je inhibitorem pro mnohé mikroorganismy [29]. Např. koncentrace soli ve výši 2 % bude mít za následek vznik 11 % solného roztoku v celé emulzi. [38].

Intolerantní bakterie mohou být inhibovány již množstvím 10 g/kg. Mléčné bakterie snáší koncentraci NaCl až 60 – 150g/kg, sporulující bakterie 160 g/kg [45]. 8 % solný roztok může zpomalit nebo inhibovat růst plísní na povrchu másla, a tím snížit pravděpodobnost kažení, a to i v případě, kdy některé formy plísní mohou růst i v přítomnosti 8 % koncentraci soli. K růstu kvasinek může dojít i v extrémních hodnotách koncentrace soli a kyselin. Z tohoto hlediska je velmi obtížné kontrolovat samotné složení vodné fáze másla [41].

5.1.5 Lantibiotika

V průběhu fermentace mléčných výrobků produkují bakterie mléčného kvašení kromě kyseliny mléčné i antimikrobiální sloučeniny bakteriociny a diacetyl [41]. Bakteriociny produkované mléčnými bakteriemi (lantibiotika) jsou bílkovinné látky vykazující antimikrobiální aktivitu vůči významným potravním patogenům a mikroflóře způsobující kažení. Proto mohou kmeny bakterií, které je produkují, nebo přímo purifikované bakteriociny, nacházet uplatnění v systému konzervace potravin. Jako vhodnou alternativou se nabízí biologický proces – využití konkurujících bakterií, které navíc produkují antimikrobiální látky. Tyto bakteriociny (kyselina mléčná, diacetyl, peroxid vodíku, antimikrobiální polypeptidy) jsou produkovány řadou grampozitivních i gramnegativních, ale bakterie mléčného kvašení se zdají být obzvláště vhodné vzhledem ke své nezávadnosti prověřené historicky dlouhodobým používáním při výrobě fermentovaných potravin [46].

5.1.6 Extrakty z bylin

Dalším trendem na trhu, co se týče kvality potravin, je snížit co nejméně používání syntetických látek. V důsledku toho, se hledají přírodní látky, rostlinného původu, které by nahradily syntetické přísady [47]. Jednou z takových možností je např. extrakt z rozmarýnu, oregano, tymián, saturejka) [47, 48]. Tyto byliny se běžně používá jako koření při zpracování potravin a v poslední době zejména pro její vysokou antioxidační aktivitu i jako antimikrobiální činidlo. Jsou bohatým zdrojem fenolických sloučenin s vysokou antimikrobiální aktivitou, jak proti G^+ bakteriím, tak i proti G^- bakteriím [47]. Reakce mezi těkavými oleji a proteiny je limitujícím faktorem v antimikrobiální aktivitě proti bakteriím *B. cereus* a *S. enteritidis*. Podobné antimikrobiální účinky proti bakterii *L. monocytogenes* vykazuje olej z hřebíčku. Tyto výzkumy poukazují na možnost použít tyto rostlinné silice v mléčných nápojích. V některých případech bylo zjištěno, že přídavek extraktu z česneku naopak inaktivoval bakterie *Salmonella* spp., *E. coli* a *L. monocytogenes* při teplotě v rozmezí 21 – 37 °C nebo přídavek vanilkového oleje do jogurtu poukázal na aktivaci růstu bakterie *L. monocytogenes* [48].

Ačkoliv byly antimikrobiální vlastnosti a komponenty esenciálních olejů přezkoumány již dříve, mechanismus jejich účinku nebyl podrobně popsán. Vzhledem k velkému počtu skupin chemických sloučenin obsažených v základních olejích, je pravděpodobné, že jejich antimikrobiální vlastnosti nelze přisuzovat pouze jednomu konkrétnímu mechanismu, ale je nutné se zaměřit na buňku jako takovou [47].

5.2 Vnější faktory

5.2.1 Teplota a doba skladování

Nejdůležitějšími vnějšími faktory jsou teplota a doba skladování (Obr. 2). Teplota potřebná v průběhu uzavřeného skladování k zajištění správné mikrobiologické stability, se určí podle počtu mikroorganismů přítomných ve výrobcích, vlivu vnitřních faktorů na tyto mikroorganismy a vlivu teploty na fyzickou stabilitu výrobku. Je také potřeba kontrola růstu mikroorganismů v průběhu skladování při nízké teplotě (< 7 °C), např. jako další bezpečnostní opatření, nebo k zabránění růstu sporotvorných plísní na povrchu výrobku. Kromě toho, chladiřenské skladování je důležité pro udržení správné fyzikální struktury. Během užití spotřebitelem, výrobek vyžaduje jako jiné výrobky chlazení a může být tak snadno kontaminován různými mikroorganismy. Ačkoliv je chlazení rozhodujícím faktorem, mik-

robiologická stabilita závisí i na fyzikální struktuře a složení vodní disperze mléčného výrobku, např. kontinuální vodní disperze pomazánkového másla bude vždy vyžadovat chlazení. Skladování pomazánkového másla nemusí být omezeno jeho dobou trvanlivosti, neboť mikrobiologická stabilita může být dostatečně zajištěna jinými faktory. Mohou však existovat výjimky. V případě, že skladování bude omezeno dobou trvanlivosti, bude skladování záviset na složení výrobku a objemu prodávajícího balení [41].



Obr. 2: Výskyt plísně uvnitř zahuštěné slazené smetany Condé [49].

Mléčné výrobky mohou být také z důvodu udržení delší trvanlivosti zmrazeny. Zmrazení smetany ve velkých mrazicích tancích výrazně zvyšuje její trvanlivost, ale může také vést k nepřijatelnému oddělování tuku a sušiny při rozmrazování. Smetana zpracovaná tímto způsobem, je vhodná k výrobě krémových polévek, předisponovaná mléka, másla nebo zmrzliny, kde pasterace a homogenizace obnoví původní tukovou emulzi nebo stloukáním se bude i nadále oddělovat tuk (máslo). Mražená smetana podle předepsané kvality může být připravena z čerstvé smetany, s nízkou koncentrací kyseliny, s požadovanou chutí a obsahem tuku 40 – 60 %. K výrobním krokům zpracování smetany patří přidání cukru ve výši 10 % před pasterací, vyžaduje-li to výrobek, pasterace při teplotě 88 °C po dobu 5 minut a zmrazení smetany v nerezových nebo plastových nádobách na teplotu -23 °C nebo nižší. Smetana určená pro další zpracování může být uložena po dobu 6 – 10 měsíců při

teplotách $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ při správném skladování. Přídavek cukru do smetany značně zpomaluje splynutí tuků, především v důsledku sníženého bodu mrazu u rozpuštěného cukru. Do smetany se obvykle přidává 5 – 20 % hmot. Mražená sladká smetana se rozpouští jednodušeji, a tudíž se zpracovává snadněji než neslazená smetana. Stejného výsledku lze dosáhnout tím, že zvýší obsah sušiny v mléce nebo rychlým zmražením prostřednictvím použití nízkých teplot, tenkých vrstev nebo malých nádob. Rychlé zmražení neničí tukovou emulzi v takovém rozsahu jako pomalejší zmrazování, a to i v případě dlouhodobého mrazírenského skladování [50].

Zmražení u másla nemá žádný viditelný účinek na charakteristiku a kvalitu másla. Obsah vody v másle je 20 %, která je rozložena ve formě malých kapének v celém výrobku. Bod tuhnutí vodní disperze se určí především přidáním soli a podle stupně zbytkové laktózy a rozpuštěné soli v mléce po praní másla. Během zmražení másla bylo podle časového a teplotního ukazatele zjištěno, že funkce obou ukazatelů vykazuje vysoký stupeň podchlazení a krystalizace po nukleaci kapének vody, což dokazuje zvýšení teploty po nukleaci. 25 kg kostka másla se nechá 50 hodin zmrazit v jádře a cca do 100 hodin dojde ke zmrazení veškeré vody při teplotě $-23\text{ }^{\circ}\text{C}$. Teplota skladování je $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu několika měsíců, nebo $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu jednoho roku nebo i více jsou obvykle využívány v průběhu skladování másla, aby se minimalizovalo zhoršení chuti. Zmražená másla nebo výrobky z nich jsou kvalitnější než másla chlazená. Máslo je známé tím, že pohlcuje z prostředí, ve kterém je uloženo, nežádoucí pachy. Proto by mělo být máslo řádně zabaleno, aby se zabránilo pronikání vzduchu a nežádoucím pachům [50].

5.2.2 Obalový materiál

Obalový materiál může mít značný význam. Pergamen je často používaným obalem pro másla a margaríny. Pokud pergamen pohlcuje vodu, vytváří tím vhodné prostředí pro růst celulolytických plísní. K orosení neboli zvlhnutí pergamenu dochází v případě, kdy máslo je přepravováno ze studeného a vlhkého skladu do teplého prostředí a naopak, nebo také bezprostředně po výrobě másla během krystalizace tukové fáze. Použitím pergamenu impregnovaného pomocí sorbanu draselného může eliminovat vznik tohoto rizika. Obal, který na vnitřní straně neobsahuje pergamen, např. pergamen potažený polyetylenem, lépe kontrolu kažení másla plísněmi. Navíc má tu výhodu, že plísně na vnější straně nemohou přijít do kontaktu s výrobkem [41].

ZÁVĚR

Mikrobiální kvalita smetany, másla a mražených smetanových krémů souvisí do značné míry se způsobem technologického zpracování a dodržováním hygienických podmínek při jejich výrobě a skladování.

Zavedení pasterace a sterilace přispělo k zajištění bezpečnosti před nežádoucími mikroorganismy, a to i přesto, že některé mikroorganismy mohou přežít vysokou pasteraci a růst při chladírenských teplotách. Je třeba brát do úvahy, že i výrobky ošetřené pasterací, mohou být následně kontaminovány. Většinou důvodem přítomnosti nežádoucích mikroorganismů v mléce nebo mléčných výrobcích může být právě buď to nesprávná hygienická praxe, nebo selhání při technologickém ošetření. Postpasterační kontaminaci mléka a mléčných výrobků lze předejít zabráněním křížové kontaminace, tzn. zabráněním styku čistých surovin s nečistými, a dále je také nutné včas rozpoznat místo vzniku kontaminace na výrobním zařízení, které se musí ihned podrobit sanitaci.

Hygienická kvalita mléka a mléčných výrobků se v posledních letech výrazně zlepšila. Již zmíněné některé technologie využívají k prevenci před mikrobiálním kažením použití i přídatných látek, které inhibují růst mikroorganismů, a tím prodlouží trvanlivost výrobku.

Na druhou stranu některé lipázy bakterií a plísní představují významnou skupinu enzymů, důležitou pro biotechnologii. Mikrobiální lipázy, jako takové mají velký potenciál, vzhledem k jejich všestrannému použití v různých průmyslových odvětvích. Nacházejí uplatnění jako potravinářské přísady, jemné čistící chemikálie, mycí a čistící prostředky, čističe odpadních vod, v kosmetickém průmyslu, ve farmacii a dalších jiných odvětvích.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ROBINSON, K. R. *Dairy microbiology handbook: the microbiology of milk and milk products*. New York: Wiley Interscience, 2002. ISBN 0-471-38596-4.
- [2] VARNAM, A. H., J. P. SUTHERLAND. *Milk and milk products: technology, chemistry and microbiology*. New York: Springer, 2001. ISBN 0-834-21955-7.
- [3] PAVELKA, Antonín. *Mléčné výrobky pro vaše zdraví*. Praha: Littera, 1996. ISBN 80-85763-09-5.
- [4] MANSSON, H. L. Fatty acids in bovine milk. *Food and Nutrition Research*. 2008, č. 1, s. 1-3. ISSN 1654-6628.
- [5] GAJDŮŠEK, Stanislav. *Laktologie*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. ISBN 80-71576-57-3.
- [6] FORMAN, L., E. MATOUŠKOVÁ a M. VODIČKOVÁ. *Máslařství: nové technologické postupy*. Praha: SNTL, 1988.
- [7] GAJDŮŠEK, Stanislav a Vladimír KLÍČNÍK. *Mlékařství*. Brno: Vysoká škola zemědělská, 1993. ISBN 80-71570-73-7.
- [8] CORNELL UNIVERSITY. *Milk fat* [online]. New York, 2011 [cit. 19. 5. 2012]. Dostupné z: <http://www.milkfacts.info.htm/>
- [9] SALLEH, A. B., N. Z. R. RAHMAN and M. BASRI. *New lipases and proteases*. New York: Nova Publishers, 2006. ISBN 1-600-21068-6.
- [10] SANGEETHA, R., I. ARULPAND and A. GEETHA. Bacterial lipases as potential industrial biocatalysts: an overview. *Research Journal of Microbiology*. 2011, č. 6, s. 1-24. ISSN 1816-4935.
- [11] GUPTA, R., N. GUPTA and P. RATHI. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2004, č. 1, s. 763-781. ISSN 1432-0614.
- [12] GHOSH, P. K, R. K. SAXENA, R. GUPTA, R. P. YADAV and S. DAVIDSON. Microbial lipases: production and applications. *Science Progress*. 1996, č. 2, s. 119-157. ISSN 0036-8504.
- [13] DE BRUIJN, F. J. *Handbook of molecular microbial ecology II.: metagenomics in different habitats*. New Jersey: John Wiley and Sons, 2011. ISBN 0-470-64719-1.

- [14] MESSAOUDI, A., H. BELGUTH, I. GRAM and J. B. HAMIDA. Classification of EC 3.1.1.3 bacterial true lipases using phylogenetic analysis. *African Journal of Biotechnology*. 2010, č. 48, s. 8243-4247. ISSN 1684-5315.
- [15] GARDNER, Kuo. *Lipid technology*. New York: CRC Press, 2002. ISBN 0-824-74418-7.
- [16] CHRISTOPHE, A., S. DE VRIESE. *Fat digestion and absorption*. USA: The American Oil Chemists Society, 2000. ISBN 1-893-99712-X.
- [17] PANESAR, P. S., S. S. MARWAHA and H. K CHOPRA. *Enzymes in food processing: fundamentals and potential applications*. New Delphi: I. K. International Pvt Ltd, 2010. ISBN 9-380-02633-1.
- [18] WHITEHURTS, R. J., M. V. OORT. *Enzymes in food technology*. Cambridge: John Wiley and Sons, 2009. ISBN 1-444-309-943.
- [19] TAMINE, A. Y. *Dairy fats and related products*. Oxford: John Wiley and Sons, 2009. ISBN 1-405-15090-4.
- [20] SMIT, Gerrit. *Dairy processing: improving quality*. Cambridge: Woodhead Publishing, 2003. ISBN 1-855-73676-4.
- [21] JANŠTOVÁ, B., L. VORLOVÁ, P. NAVRÁTILOVÁ, M. KRÁLOVÁ, L. NECIDOVÁ a E. MAŘICOVÁ. *Technologie mléka a mléčných výrobků*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2012. ISBN 978-80-7305-637-7.
- [22] LUKÁŠOVÁ, Jindra. *Hygiena a technologie mléčných výrobků*. Brno: Vysoká škola zemědělská, 2001. ISBN 80-730541-59.
- [23] CEMPÍRKOVÁ, R., J. LUKÁŠOVÁ a Š. HEJLOVÁ. *Mikrobiologie potravin*. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 1997. ISBN 80-70415-47.
- [24] HRABĚ, J., O. ROP a I. HOZA. *Technologie potravin živočišného původu*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2006. ISBN 80-731837-22.
- [25] GAJDŮŠEK, Stanislav. *Mlékařství II*. Brno: Vysoká škola zemědělská, 2000. ISBN 80-715734-26.
- [26] VLKOVÁ, E., V. RADA a J. KILLER. *Potravinářská Mikrobiologie*. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2009. ISBN 978-80-213-1988-2.
- [27] JAY, J. M., M. J. LOESSNER and D. A. GOLDEN. *Modern food microbiology*. New York: Springer, 2005. ISBN 0-387-23180-3.

- [28] EARLY, Ralph. *The technology of dairy products*. Padstow: Springer, 1998. ISBN 0-751-40344-X.
- [29] REDDY, V. P. and S. REDDY. *Microbiology of dairy products* [online sborník]. Tirupati: College of Dairy Technology, 2006 [cit. 20. 11. 2012]. Dostupné z: <http://www.naipsvvucdt.com/>.
- [30] Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Úřední věstník Evropské unie 2005. Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/>
- [31] CLARK, S., COSTELLO, M., BODYFELT, F. W., DRAKE, M. *The sensory evaluation of dairy products*. New York: Springer, 2008. ISBN 0-387-77406-8.
- [32] RAJVAIDYA, N., MARKANDEY, D. K. *Industrial applications of microbiology*. New Delhi: APH Publishing, 2006. ISBN 8-131-3001-3.
- [33] DOWNES, F. P., ITO, K. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington DC: American Public Health Association, 2001. ISBN 0-875-53175-X.
- [34] ADAMS, M. R., MOSS, M. O. *Food microbiology*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2008. ISBN 0-854-04284-9.
- [35] BUNCIC, S. *Integrated food safety and veterinary public health*. Cambridge: CABI, 2006. ISBN 0-851-99908-5.
- [36] CHANDAN, R. C., KILARA, A. *Dairy ingredients for food processing*. Iowa: John Wiley and Sons, 2011. ISBN 0-813-81746-3.
- [37] FERNANDES, Rhea. *Microbiology handbook: dairy products*. Cambridge: Leatherhead Publishing, 2009. ISBN 1-905-22462-1.
- [38] O'CONNOR, C. B. *Rural dairy technology*. Ethiopia: ILRI (aka ILCA and ILRAD), 1995. ISBN 9-291-46000-1.
- [39] ŠUSTOVÁ, K. *Mlékárenská technologie* [online skripta]. Praha: Karlova Univerzita, 2011 [cit. 20. 11. 2012]. Dostupné z: <http://www.primat.cz/cuni-prf/>
- [40] JENNYLYND, J. *Microbial hazard identification in fresh fruit and vegetables*. New Jersey: John Wiley and Sons, 2006. ISBN 0-471-67076-6.
- [41] LUND, B. M., BAIRD-PARKER, T. C., GOULD, G. W. *The microbiological safety and quality of food*. Maryland: Springer, 2000. ISBN 0-834-21323-0.

- [42] GUNDUZ, G. T. and G. TUNCEL. Biofilm formation in an ice cream plant. *Antonie van Leewenhoek*. 2006, č. 89, s. 329-330. ISSN 1572-9699.
- [43] ASHOKKUMAR, M., R. BHASKARACHACHARYA, S. KENTISH, J. LEE, M. PALMER and B. ZISU. The ultrasonic processing of dairy products – An overview. *Dairy Science and Technology*. 2009, č. 90, s. 148. ISSN 1958-5594.
- [44] SUKOVÁ, I. Použití nových technologií při výrobě mléčných funkčních potravin. *Australian Journal of Dairy Technology*. 2009, č. 2. s. 12 – 15. ISSN 0004-9433.
- [45] STRATIL, P. *Aditivní látky* [online skripta]. Brno: Mendelova univerzita, 2011 [cit. 20. 11. 2012]. Dostupné z: <http://www.share.centrax.cz/>
- [46] SUKOVÁ, I. Konzervace pomocí bakteriocinů produkovaných mléčnými bakteriemi. *Food Reviews International*. 2002, č. 1/3. s. 191. ISSN 1525-6103.
- [47] ROŽMAN, T. and B. JERŠEK. Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. *Acta Agriculturae Slovenica*. 2009, č. 1. s. 52-53, 57. ISSN 1854-1941.
- [48] BHAT, R., A. K. ALIAS and G. PALIYATH. *Progress in Food Preservation*. Iowa: John Wiley and Sons, 2012. ISBN 0-470-65585-2.
- [49] Státní zemědělská a potravinářská inspekce. *Potraviný na pranýři* [online]. SZPI, 2012 [cit. 31. 3. 2013]. Dostupné z: <http://www.potravinynapranryri.cz/>
- [50] SUN, D. W. *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*. Boca Raton: CRC Press, 2012. ISBN 1-439-83604-3.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

- CPM Celkový počet mikroorganismů
- CFU Počet živých mikroorganismů (colony – forming unit)
- PH Přípustná hodnota počtu mikroorganismů na 1g nebo 1ml výrobku
- IgG Imunoglobulinové funkce

SEZNAM OBRÁZKŮ

- Obr. 1. Výrobní diagram enzymaticky modifikovaného sýra..... 19
- Obr. 2. Výskyt plísně uvnitř zahuštěné slazené smetany Condé..... 44

SEZNAM TABULEK

| | |
|---|----|
| Tab. 1. Vývoj CPM ve vztahu k teplotě a době skladování..... | 26 |
| Tab. 2. Tekutá pasterovaná smetana..... | 27 |
| Tab. 3. Smetana vyrobená ze syrového mléka..... | 27 |
| Tab. 4. Sušená smetana..... | 28 |
| Tab. 5. Máslo vyrobené ze syrového mléka..... | 34 |
| Tab. 6. Zmrzliny a mražené mléčné dezerty..... | 39 |
| Tab. 7. Přehled nových technologií při výrobě mléčných výrobků..... | 41 |

