

Vliv přídavku biologicky aktivních látek na jakost modelového systému přírodního sýra

Bc. Helena Slaninová

Diplomová práce



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Helena Slaninová**
Osobní číslo: **T11132**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin – specializace Technologie mléka a mléčných výrobků prezenční**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Vliv přídavku biologicky aktivních látek na jakost modelového systému přírodního sýra**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Popis technologie výroby sýrů holandského typu.
2. Stručný popis zracích procesů přírodních sýrů.
3. Stručná charakterizace lnu setého a jeho použití v potravinářském průmyslu.

II. Praktická část

1. Optimalizace výroby přírodních sýrů holandského typu v podmínkách technologické laboratoře.
2. Výroba přírodních sýrů s přídavkem různých startérových kultur.
3. Výroba přírodních sýrů s přídavkem lněné moučky za použití vybrané startérové kultury.
4. Vyhodnocení výsledků, diskuze s literaturou a vyvození závěrů.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] FOX, P.F., McSWEENEY, P.L.H., COGAN, T.M. GUINEE, T.P. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Volume 1 General Aspects. 3rd edition. London: Elsevier Academia Press. 2004. ISBN0-1226-3652-X.

[2] FOX, P. F., GUINEE, T.P., COGAN, T.M., McSWEENEY, P.L.H. Fundamentals of cheese science. Gaithersburg: 2000. 638 p. ISBN 0-83-42-1260-9.

[3] POKORNY, J., YANISHLIEVA, N., GORDON, M. Antioxidants in food: Practical applications. Cambridge: Woohed Publishing Ltd. 2001. ISBN 1 85573 463 X.

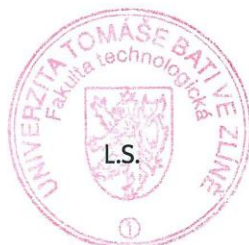
Vedoucí diplomové práce: **Ing. Vendula Pachlová, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **16. ledna 2013**

Termín odevzdání diplomové práce: **2. května 2013**

Ve Zlíně dne 4. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
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 užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 24. 4. 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

Práce se zabývala vlivem přídavku biologicky aktivních látek na jakost modelového systému přírodního sýra. Cíle práce lze rozdělit na tři fáze: optimalizace výroby přírodních sýrů holandského typu v podmínkách technologické laboratoře, výroba přírodních sýrů s přídavkem různých startérových kultur za účelem výběru vhodné kultury pro aplikaci lněné moučky do zrajícího sýra a v neposlední řadě výroba přírodních sýrů s přídavkem lněné moučky za použití vybrané startérové kultury. Selektovány byly kultury zejména na základě obsahu sušiny, FAA, hodnotách pH, texturních vlastnostech a senzoričné analýzy. Analýzou obsahů FAA se potvrdil systém změn v průběhu zrání, který nabýval rostoucí tendence celkového obsahu FAA v závislosti na době zrání bez ohledu na použítou kulturu. V průběhu skladovacího experimentu se obsahy FAA zvyšovaly v rámci všech kultur, což odpovídá významné proteolytické aktivitě exopeptidáz, které jsou součástí enzymatického aparátu bakterií mléčného kvašení. Na základě nejintenzivnějších biochemických změn pozorovaných prostřednictvím celkového obsahu FAA lze doporučit tři kultury pro další experimentální výroby sýrů. Sýry s lněnou moučkou vykazovaly vyšší obsah vlhkosti. Proteolýza vyrobených sýrů dosahovala nižších hodnot, nežli sýry bez tohoto přídavku.

Klíčová slova: sýr, zrání, obsah volných aminokyselin

ABSTRACT

This work examined the influence of the addition of biologically active substances on the quality of the model system of natural cheese. The objectives of the work can be divided into three phases: optimization of natural Dutch-type cheese in terms of technological laboratories, production of natural cheese with the addition of different starter cultures for the purpose of selecting a suitable culture for the application of linseed flour into cheese and ultimately production of natural cheese with addition of linseed flour. Cultures were selected on the basis of contents of salt, dry matter, FAA, value of pH, textural properties and sensory analysis. The contents of FAA were changed during cheese ripening. During storage of model cheese samples, the contents of the FAA increased with all cultures. It corresponds to a significant proteolytic activity of exopeptidases which are part of the enzyme system of lactic acid bacteria. Based on the most intense biochemical changes observed by the total FAA, three cultures can be recommended for further experimental cheese production. Cheese with flax flour showed higher moisture content. However flax flour negatively affected proteolysis of cheese in comparison with cheese without addition of flour.

Keywords: cheese, ripening, the content of free amino acids

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

Touto cestou bych velice ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce Ing. Vendule Pachelové, Ph.D., za cenné rady a připomínky. A také bych chtěla poděkovat Ing. Ludmile Zálešákové za pomoc při práci v laboratoři.

OBSAH

| | |
|--|-----------|
| ÚVOD | 11 |
| I TEORETICKÁ ČÁST | 12 |
| 1 SÝRY S NÍZKODOHŘÍVANOU SÝŘENINOU | 13 |
| 1.1 TECHNOLOGIE VÝROBY PŘÍRODNÍCH SÝRŮ S NÍZKODOHŘÍVANOU SÝŘENINOU | 13 |
| 1.2 KULTURY PRO VÝROBU SÝRŮ S NÍZKODOHŘÍVANOU SÝŘENINOU | 18 |
| 1.2.1 Mezofilní bakteriální kultury | 19 |
| 1.2.1.1 Rod <i>Lactococcus</i> | 20 |
| 1.2.1.2 Rod <i>Leuconostoc</i> | 20 |
| 1.2.1.3 Rod <i>Lactobacillus</i> | 20 |
| 1.3 NON-STARTEROVÉ BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ..... | 22 |
| 2 LEN SETÝ (<i>LINUM USITATISSIMUM L.</i>) | 23 |
| 2.1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ LNĚNÉHO SEMÍNKA | 24 |
| 2.2 VÝZNAM LNU SETÉHO VE VÝŽIVĚ ČLOVĚKA | 27 |
| 2.3 MOŽNOSTI VYUŽITÍ LNU SETÉHO VE VÝŽIVĚ ČLOVĚKA | 28 |
| 3 CHARAKTERISTIKA BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK NA BÁZI ANTIOXIDANTŮ A JEJICH VLIV NA ZDRAVÍ ČLOVĚKA | 30 |
| 3.1 ANTIOXIDANTY Z ŘADY VITAMINŮ | 31 |
| 3.2 ANTIOXIDANTY Z ŘADY KAROTENOIDŮ | 31 |
| 3.3 ANTIOXIDANTY Z ŘADY FENOLICKÝCH SLOUČENIN | 32 |
| 3.4 SUROVINY S ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITOU S MOŽNOSTÍ APLIKACE DO PŘÍRODNÍCH SÝRŮ | 32 |
| II PRAKTICKÁ ČÁST | 34 |
| 4 CÍL PRÁCE | 35 |
| 5 METODIKA PRÁCE | 36 |
| 5.1 MATERIÁL, SUROVINY A POMŮCKY POUŽITÉ PRO VÝROBU | 36 |
| 5.1.1 Standardizovaný postup výroby sýrů holandského typu | 40 |
| 5.2 SELEKCE OPTIMÁLNÍ STARTÉROVÉ KULTURY | 41 |
| 5.3 VÝROBA SÝRŮ S PŘÍDAVKEM LNĚNÉ MOUČKY..... | 42 |
| 5.4 ANALÝZA SÝRŮ S NÍZKODOHŘÍVANOU SÝŘENINOU | 43 |
| 5.4.1 Chemická analýza..... | 43 |
| 5.4.2 Analýza texturních vlastností | 43 |
| 5.4.3 Stanovení obsahu volných aminokyselin | 44 |
| 5.4.4 Senzorická analýza | 45 |
| 6 VÝSLEDKY A DISKUZE | 46 |

| | | |
|-------|---|-----------|
| 6.1 | VÝSLEDKY A DISKUZE FÁZE 1..... | 46 |
| 6.1 | VÝSLEDKY A DISKUZE FÁZE 2..... | 46 |
| 6.1.1 | Chemická analýza..... | 46 |
| 6.1.2 | Analýza texturních vlastností | 49 |
| 6.1.3 | Stanovení obsahu volných aminokyselin | 50 |
| 6.1.4 | Senzorická analýza | 52 |
| 6.2 | VÝSLEDKY A DISKUZE FÁZE 3..... | 52 |
| 6.2.1 | Chemická analýza..... | 52 |
| 6.2.2 | Analýza texturních vlastností | 54 |
| 6.2.3 | Stanovení obsahu volných aminokyselin | 55 |
| 6.2.4 | Senzorická analýza | 56 |
| | ZÁVĚR | 57 |
| | SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY | 59 |
| | SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK | 62 |
| | SEZNAM OBRÁZKŮ | 63 |
| | SEZNAM GRAFŮ | 64 |
| | SEZNAM PŘÍLOH..... | 65 |

ÚVOD

Mléko je komplexní biologickou tekutinou vylučovanou samicemi savců, primárně pro své narozené mládě. Jedná se o sekret mléčné žlázy obsahující stabilní, koncentrovaný zdroj lipidů, bílkovin, minerálů a sacharidů, čímž je mléko naprosto plnohodnotným zdrojem nutričních látek a energie pro mládě. Díky svému nezaměnitelnému složení, se tak mléko stalo cenným artiklem, ale pro svou složitost zpracování zároveň problematickou surovinou. Výrobou sýrů se daří zhodnotit mléko jako surovinu a dosahovat produktů vysoké kvality a zároveň širokospektrální složky stravy člověka.

Teoretická část diplomové práce pojednává o technologii výroby sýrů holandského typu. Dále je charakterizován len setý a jeho použití v potravinářském průmyslu, který byl přidáván do vyráběných vzorků sýrů. V poslední kapitole je nastíněna charakteristika biologicky aktivních látek na bázi antioxidantů a jejich vliv na zdraví člověka.

Praktická část popisuje praxi optimalizace výroby přírodních sýrů holandského typu v podmínkách technologické laboratoře. Po standardizaci výroby těchto sýrů byl sledován vliv různých kultur na systém modelových vzorků sýrů. Po vyselektování nejvhodnější kultury následovala výroba přírodních sýrů s přídavkem bioaktivních látek v podobě lněné moučky, obsahující řadu cenných sloučenin, díky kterým jsou hledány možnosti jejího dalšího využití.

Závěrečná část práce pojednává o vyhodnocení získaných poznatků, diskuzi s literaturou a vyvození závěrů.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 SÝRY S NÍZKODOHŘÍVANOU SÝŘENINOU

Sýry patří díky svému složení k nejhodnotnějším potravinám. Obsahují téměř všechny základní látky potřebné pro výživu člověka. Původ sýra je datován do 6000 až 7000 let před naším letopočtem. Celosvětově se odhaduje počet druhů sýrů na 500. Obvykle mohou být pojmenovány po městě, nebo komunitě odkud daný sýr pochází. Sýry lze dělit podle podmínek zrání a dále také dle sensorických známek, které vykazují. Čímž vzniká významný počet různých možností kombinací. Z tohoto důvodu by úspěšná klasifikace byla obtížná, či dokonce nemožná. Existuje pravděpodobně 18 základních druhů přírodních sýrů, které se výrazně liší ve způsobu výroby, což má za následek charakteristické vlastnosti každého sýra [1, 2, 3, 5].

Dle legislativy lze za sýr označit mléčný výrobek vyrobený vysrážením mléčné bílkoviny z mléka působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel, prokysáním a oddělením podílu syrovátky [9].

1.1 Technologie výroby přírodních sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou

Bakteriální mikroflóra syrového mléka se může značně lišit v závislosti na způsobu získávání, uchování či manipulaci s mlékem. Syrové mléko může obsahovat patogenní mikroorganismy jako například *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella abortus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhi*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens* a *Bacillus cereus*. Z tohoto důvodu je důležité tepelné ošetření mléka před samotnou výrobou sýrů. Šetrná pasterace bývá nejčastěji využívaným tepelným ošetřením, při výrobě polotvrdých a tvrdých sýrů [3, 5, 11]. Dle komoditní vyhlášky Ministerstva zemědělství je pasterační rozuměn záhřev při 71,7 °C po dobu 15 sekund, popřípadě jiná kombinace teploty a času, která ovšem dosáhne daných účinků (zejména co se týče inaktivace alkalické fosfatázy) [9]. Pasterací dochází ke změnám v poměru koloidní a rozpustné formy vápníku a následnému zhoršení syřitelnosti mléka. Z tohoto důvodu je do mléka přidáván chlorid vápenatý, sloužící k obnovení syřitelnosti. Bývá přidáván v množství 20 g chloridu na 100 l mléka. Vyšší dávka by mohla způsobovat hořknutí sýrů [4, 5]. Správně zvoleným tepelným ošetřením lze dosáhnout výrobku vyšší kvality, jednotnosti produkce a vyšších výnosů. Sýry s nízkodohřívanou sýřeninou obsahují v tukuprosté hmotě sýra 55–61,9 % vody a jsou kla-

sifikovány jako polotvrdé sýry [9]. Na druhou stranu některé typy sýrů jako např. švýcarské, Roqueford a Gruyere mohou být vyrobeny z nepasterovaného mléka. Měla by být ovšem splněna podmínka délky zrání a to nejméně 60 dní při vhodné teplotě skladování pro zajištění bezpečnosti potravin. Takto zvolené parametry jsou z důvodu zajištění bezpečnosti potraviny (sýra) proti pomnožení patogenních mikroorganismů [3].

Pro dosažení deklarované sušiny, tuku, případně tuku v sušině je nezbytné provést standardizaci obsahu tuku v mléce v závislosti na obsahu kaseinu. Homogenizace tuku snižuje jeho ztráty do syrovátky, avšak běžně se nepoužívá (zejména v případě sýrů s vysokou sušinou). Po homogenizaci dosahuje finální sýřenina měkčí konzistence v důsledku zadržení většího objemu syrovátky. Docházelo by také k oxidaci odkrytých tukových kuliček. Naopak tohoto bývá využíváno u sýrů kde je žádoucí lipolýza (sýry s plísni v těstě).

Přidavkem čistých mlékařských kultur do mléka dochází ke snížení pH a zvýšení kyselosti mléka, dochází k pozitivnímu ovlivnění doby a průběhu sýření, kvality sýřeniny i zrání sýrů. Mezi primární kultury zajišťující zrání sýrů patří především bakterie rodu *Lactococcus*, *Lactobacillus*, a *Streptococcus* [1, 4, 6, 8,10].

K samotnému srážení mléka dochází díky působení syřidlového enzymu. Jeho účinek spočívá v působení proteolytických enzymů na kasein. V primární fázi dochází k enzymatickému štěpení κ -kaseinu stabilizujícího kaseinové micely. Hlavním požadavkem je vymezená substrátová specifita tohoto enzymu. Původně bylo užíváno výhradně chymozinových syřidel, které byly získány extrakcí z telecích slezů mléko sajících telat. Z důvodu omezeného zdroje chymozinu se v dnešní době využívá i jiných typů proteináz živočišného, případně mikrobiálního původu. Použití rostlinných enzymů ke srážení mléka je velmi omezené, protože rostlinné proteázy jsou silně proteolytické a mohou způsobovat redukováné výnosy a hořkou příchut' [5, 6, 13].

Působením syřidla probíhá limitovaná proteolýza, při které dochází k rozštěpení peptidové vazby mezi 105. a 106. aminokyselinou v κ -kaseinu. Zbytek κ -kaseinu mezi 1. až 105. aminokyselinou se nazývá para- κ -kasein, který je hydrofobní a afinitní s ostatními kaseinovými frakcemi. Zbytek mezi 106. až 169. aminokyselinou je označen jako κ -kaseinmakropeptid, který je hydrofilní a přechází do syrovátky.

V sekundární fázi dochází ke srážení micel destabilizovaných v primární fázi. Rozštěpený κ -kasein není schopen plnit funkci ochranného koloidu a ostatní frakce kaseinů mohou být vysráženy působením vápenatých iontů. Při koagulaci spojuje vápník jednotlivé frakce extramicelárně, nejprve jsou řazeny do řetězců, následně přechází do trojrozměrné sítě. [6, 7, 12].

Mezi faktory ovlivňující primární a sekundární fázi sýření mléka můžeme zahrnout:

- homogenizaci mléka urychlující sýření, avšak vzniklá sýřenina obsahuje více syrovátky a je měkčí konzistence,
- vyšší obsah tuku zpomalující rychlost sýření, jakož i rychlost syneréze,
- snížení pH v rozmezí 6,8–6,0, které zrychluje koagulaci a zvyšuje pevnost gelu,
- vyšší dávky syřidla, které zrychlují koagulaci a pevnost gelu,
- vyšší koncentraci Ca^{2+} iontů, které urychlí sekundární fázi srážení a zrychlí synerézi,
- pokles teploty sýření zpomalující dobu sýření,
- pasteraci mléka, která prodlužuje dobu sýření. Vysoká pasterace při 85 °C zvyšuje vaznost bílkoviny syrovátky za současné vyšší schopnosti hydratace, čímž se zvyšuje výtěžnost sýřeniny. Vzniká však měkčí sýřenina [7].

Terciární fáze se uplatňuje při proteolytickém zrání sýrů, kdy mohou vznikat hořké peptidy a docházet ke změnám konzistence. V prvních 50 minutách syřidlo specificky štěpí peptidovou vazbu κ -kaseinu mezi 105. a 106. aminokyselinou, při delším působení však štěpí i další peptidové vazby nejen ve vzniklém para- κ -kaseinu, ale i ve frakcích α - a β -kaseinů. Rychlost této fáze závisí na koncentraci syřidla, jeho substrátové specifitě a proteolytické aktivitě. Zvýšením koncentrace NaCl lze terciální fázi zpomalit, nebo enzymy zcela inaktivovat teplotami nad 55 °C [4, 7].

Zpracování sýřeniny zahrnuje řadu operací, u nichž je zásadní důraz kladen na dodržování časového harmonogramu. Charakter polotvrdých a tvrdých sýrů je ovlivněn důsledným zpracováním sýřeniny, které zahrnuje sýření, krájení, odpouštění syrovátky, míchání, přidavek prací vody, dosoušení a vypouštění. Odstranění vázané a kapilární syrovátky se nazývá syneréze, při níž dochází k dehydrataci kaseinu. K synerézi dochází již v průběhu sekundární fáze. Účinek syneréze podporují snížení pH, zpracování na menší zrno, míchání zrna, zvýšení dohřívací teploty a zvýšení počtu obrácení sýra (používané

zejména v případě měkkých sýrů). Po prokrojení sýřeniny následuje pomalé míchání s postupnou zvyšující se intenzitou. Míchání je významné pro podporu syneréze a zpevnění stěny zrna. Zrno nesmí klesnout ke dnu, slepovalo by se. Vzniklé shluky by mohly být zárodkem pro vznik syrovátkových hnízd. Následným krokem je dohřívání, při kterém se vyloučí další podíl kapilární vody. U nízkodohříváných sýrů se dosahuje teplot 36–42 °C. Tato fáze trvá řádově desítky minut [4, 8].

Vytužené zrno musí být co nejrychleji formováno, aby nedocházelo k osychání zrna. Zrno se vypouští v proudu syrovátky do lisovací vany. K formování dochází ve speciálních perforovaných tvořítkách, která bývají nejčastěji plastová. Sýřenina se do tvořítka nalévá spolu se syrovátkou. Konečný tvar a sušinu některé typy sýrů získávají vlastní hmotností (zejména měkké sýry). K dalšímu odstranění syrovátky se používá lisování, při kterém nesmí být použito příliš vysokých počátečních tlaků. Vznikala by silná kůra, která by bránila dalšímu odtoku syrovátky. Tvrdé a polotvrdé sýry se lisují postupně zvyšujícím se tlakem 0,005-0,04 MPa po dobu 60 minut. Teplota místnosti při formování musí být udržována při kysací teplotě, protože současně dochází k mléčnému kysání. Při lisování dochází k tvarování sýra a zvyšování obsahu sušiny. U eidamského sýra dosahuje obvykle finální výrobek 58 % sušiny a 45 % tuku v sušině (v závislosti na standardizaci tuku) [4, 8].

Solení sýrů je nezbytné pro dodání slané chuti, zpevnění povrchu sýra, regulaci obsahu vody, konzistenci a mikroflóru, průběh kysání a zrání. Zvýšení osmotického tlaku v prostoru mezi zrny a působením na bílkoviny se zvyšuje množství uvolňované syrovátky. K solení sýrů dochází nejčastěji v České republice v solné lázni o koncentraci 16–23 % NaCl a teplotě 10–15 °C, doba solení je závislá na velikosti a tvaru sýra. Prostřednictvím difúze dochází k prostupu NaCl do sýra, naopak ze sýra do solné lázně difunduje část syrovátky spolu s rozpustnými solemi a laktózou. V průběhu solení tedy dochází k dalšímu navýšení obsahu sušiny v sýru v důsledku difúze NaCl do sýřeniny, což má také vliv na texturní vlastnosti sýra. Sýry vkládané do solné lázně by měly být dobře prokysané na pH kolem 5,4. Sýry s vysokým pH absorbují méně solí, byly by příliš měkké. Naopak tuhé a křehké konzistence dosahují sýry s nízkým pH. Po vysolení se sýry ponechají oschnout. Následně se balí do obalů, ve kterých probíhá zrání, případně se bez obalů dopravují do zracích sklepů [4, 8, 13].

Zráním sýrů lze označit veškeré mikrobiální a biochemické procesy probíhající v sýrech. Biochemické procesy jsou ovlivněny působením mikrobiálních, nativních a syřidlových enzymů. K výrazným změnám dochází ve vzhledu, chuti, vůni a konzistenci sýra. Největším změnám podléhá laktóza, mléčné bílkoviny a tuk. Mění se také zastoupení solí. Zrací procesy lze rozdělit do tří navzájem se prolínajících fází.

V průběhu formování sýrů dochází k rozkladu laktózy bakteriemi mléčného kysání za vzniku kyseliny mléčné, který je nejintenzivnější během odkapávání a lisování. Při nedostatečném dokysání v průběhu lisování se sýry ukládají po vyjmutí z tvořitek na police do vytemperované místnosti k dokysání. Během 24 hodin je nutno dosáhnout požadované kyselosti sýra a to pH 5,2. V prvních dnech zrání dochází k úplnému vymizení laktózy. Výslednou kyselost sýra dále ovlivňuje přeměna anorganických solí vlivem kyseliny mléčné. Vytvořená kyselina mléčná uvolňuje mléčnan vápenatý z kaseinu. V konečné fázi vzniká monokalciumpkaseinát, který ve vodě a solném roztoku bobtná. Vápenatá sůl kaseinu ovlivňuje slepování sýřeniny a vznik homogenní struktury sýrů. [4, 8, 14, 15].

Vzniklá kyselina mléčná může být dále odbourávána mikrobiologickým rozkladem na kyselinu propionovou, případně octovou, CO₂ a vodu, za současného snížení kyselosti sýra.

Na proteolýze bílkovin se podílejí syřidlo, mikrobiální proteolytické enzymy a plasmin. Nejprve je parakasein štěpen syřidlem, což podstatně urychluje působení mikrobiálních enzymů, pocházejících z použitých čistých mlékařských kultur a také proteáz nativního mléka. Vysokomolekulární peptidy mléka jsou hydrolyzovány na peptidy o nižší molekulové hmotnosti a další proteolýzou vznikají ještě kratší peptidy, dipeptidy a volné aminokyseliny. Volné aminokyseliny mohou být dále využity jako prekurzory pro vznik senzoryicky aktivních látek, které se podílejí na chuti a vůni sýrů. Rozkladem bílkovin vznikají mimo jiné těkavé mastné kyseliny, podílející se také na chuti sýra. Dále mohou být volné aminokyseliny degradovány na amoniak, sirovodík, vodu a další. Významnou měrou se na chuti sýra podílí rozsah zrání a hloubka zrání. Rozsah zrání je definován podílem ve vodě rozpustných dusíkatých látek albumos a peptonů v celkovém dusíku. Značného rozsahu dosahuje u měkkých sýrů. Hloubka zrání vypovídá o množství aminokyselin a produktů jejich rozkladu k celkovému dusíku. V případě tvrdých sýrů a polotvrdých sýrů je hloubka zrání významnější. V případě sýrů holandského typu je žádoucí, aby mléčný tuk během zrání podléhal co nejmenším změnám, pro případ vzniku nežádoucí žluklé chuti. Fyzická

přítomnost tuku v sýru je však důležitá pro rozvoj chuti, slouží totiž jako rozpouštědlo pro látky lipofilní povahy [4, 8, 16, 18, 19].

Zráním sýrů je významně ovlivněna konzistence sýrů, tvořící jeden ze základních jakostních parametrů. Množství kyseliny mléčné má vliv na bobtnání parakaseinu. Parakasein tvoří s optimálním množstvím kyseliny mléčné laktát, ten je rozpustný v 5 % roztoku chloridu sodného při pH 5,2. Ionty Na^+ vytěsní v parakaseinu vápenatém ionty Ca^{2+} , vysolený sýr tak zvláčňuje svou konzistenci a bobtná. Jestliže je kyselina mléčná v přebytku, reakce nenastává a tvoří se nerozpustný bilaktát, vápník je vytěsněn kyselinou a výsledná konzistence je tuhá [8].

Sýry zrající v celé hmotě se po solení balí do zracích fólií nebo se ošetřují ochranným plastovým nátěrem, v menší míře je jejich povrch při zrání ošetřován solným roztokem nebo lněným olejem. Zrací fólie a nátěry zajišťují bariéru nepropustnou pro kyslík a vodu, propustnou pro CO_2 . Díky těmto zracím fóliím a nátěrům je téměř vyloučena činnost povrchové mikroflóry a snižují se ztráty vlhkosti, dříve obvyklé v rozsahu 5–10 % na minimum [8].

1.2 Kultury pro výrobu sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou

Zákysové kultury jsou definované mikroorganismy, používané ve vhodné formě jako očkovací dávka v množství nejméně 10^6 buněk/g s cílem zahájení procesu fermentace, která má zlepšit vzhled, chuť, vůni a trvanlivost, případně zajistit další požadované funkční vlastnosti produktu.

Čisté mlékařské kultury používané pro výrobu sýrů se dělí na kultury primární, obsahující bakterie mléčného kysání a používají se především pro produkci kyseliny mléčné z laktózy v počáteční fázi výroby sýrů a na mikrofóru sekundární, která je z hlediska taxonomického i funkčního velmi variabilní a může zahrnovat propionové bakterie, koryneformní bakterie, mikrokoky, stafylokoky, kvasinky a plísně [8, 10, 17].

U bakteriálních kultur jsou požadovány následující aktivity v různé intenzitě:

- fermentace sacharidů, vedoucí ke snížení pH, čímž se podpoří činnost enzymů syřidla, dojde k ovlivnění chuti, vůně a konzistence působením na kasein. Snížením pH se také potlačí růst nežádoucích mikroorganismů,

- hydrolyza bílkovin a katabolismus aminokyselin, ovlivňujících konzistenci, chuť a vůni sýrů,
- produkce plynných a sensoricky významných sloučenin z různých substrátů (laktóza, citronany, bílkoviny, lipidy),
- syntéza sloučenin ovlivňujících texturu,
- produkce antimikrobiálně působících sloučenin (organické kyseliny, peroxid vodíku, oxid uhličitý, biacetyl, reuterin, bakteriociny a další),
- produkce biologicky aktivních látek (peptidů s imunostimulační nebo antihypertenzní aktivitou) [8].

Základem kultury sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou je mezofilní kultura. Obsahuje základní mezofilní kulturu s kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*. Pro urychlení zrání sýrů se používají i laktobacily *Lactobacillus casei* nebo *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, které mají významnou proteolytickou aktivitu, urychlují tak zrání těchto sýrů [10, 20].

1.2.1 Mezofilní bakteriální kultury

Hlavními zástupci mezofilní bakteriální kultury jsou koky rodů *Lactococcus* a *Leuconostoc*. V kulturách obvykle dominují kyselinotvorné koky *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, které při homofermentativním rozkladu laktózy produkují L(+) izomer kyseliny mléčné, který je fyziologicky výhodnější. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* je z uvedené dvojice mikroorganismů citlivější k působení vnějších a vnitřních faktorů např. teplot (neroste při 45 °C) nebo koncentrace NaCl (neroste při 4 % NaCl), a při opakovaném přeočkování se jeho podíl v mezofilních kulturách snižuje.

Druhou složku mezofilních kultur tvoří aromatvorné koky, nazývané také citrát uti-
lizující koky. Kromě produkce kyseliny mléčné z laktózy se vyznačují rozkladem citrátů
v mléce, z nichž produkují oxid uhličitý a směs čtyřuhlíkatých sloučenin, z nichž biacetyl
je nositelem typického aromatu. Aromatvorné koky jsou zastoupeny *Lactococcus lactis*
subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, který se vyznačuje homofermentací laktózy, při níž tvoří
L(+) izomer kyseliny mléčné a heterofermentativními druhy *Leuconostoc mesenteroides*

subsp. *cremoris* a *Leuconostoc lactis*, které z laktózy tvoří D(-) izomer kyseliny mléčné, oxid uhličitý a etanol nebo acetát.

Mezofilní kultury se dělí podle podílu aromatických mikroorganismů na nearomatické, obsahující pouze kyselinotvorné koky (typ O) a aromatické, obsahující vedle kyselinotvorných koků buď *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* (typ D) nebo druhy rodu *Leuconostoc* (typ L), nebo oba (typ DL) [8].

1.2.1.1 Rod *Lactococcus*

Jedná se o grampozitivní fakultativně anaerobní koky vejčitého tvaru. Jsou homofermentativní, fermentují glukózu, laktózu a maltózu na kyselinu mléčnou. Kmeny *L. lactis* subsp. *lactis* produkují nizin, který je v potravinářství využíván pro inhibici G+ bakterií. *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* (dříve *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis*) fermentuje citran za přítomnosti využitelného sacharidu (laktózy) k tvorbě acetoinu, CO₂, kyseliny mléčné a octové, a diacetyl. Tato vlastnost je velice nestála, regulovaná plazmidem. Roste v rozmezí teplot 10 až 40 °C, optimální teplota růstu je 30 °C. *L. lactis* subsp. *lactis* roste dobře při 4% NaCl, naproti *L. lactis* subsp. *cremoris* roste při 2% NaCl, při 4 % NaCl již neroste [10].

1.2.1.2 Rod *Leuconostoc*

Jedná se o grampozitivní koky v párech a řetězcích, fakultativně anaerobní, heterofermentativní. Fermentují glukózu za tvorby D(-) kyseliny mléčné (stejně jako *Lactococcus*), L(+) kyseliny mléčné, CO₂, etanolu. Některé kmeny tvoří místo etanolu kyselinu octovou. Fermentuje citrát v přítomnosti laktózy na acetoin a diacetyl. Optimální teplota růstu se pohybuje v rozpětí 20 až 30 °C [10].

1.2.1.3 Rod *Lactobacillus*

Jsou grampozitivní, fakultativně anaerobní nebo mikroaerofilní nepohyblivé tyčinky. Hlavním produktem metabolismu sacharidů je kyselina mléčná, ale také kyselina octová, etanol a CO₂. Některé kmeny vykazují proteolytickou a lipolytickou aktivitu. Upřednostňují mezofilní a mírně termofilní teploty s horní hranicí asi 40 °C. Vyžadují substrát s

dostatečným obsahem zkvasitelných sacharidů, štěpných produktů bílkovin, nukleových kyselin a vitamínů skupiny B. V potravinách tvoří charakteristické těkavé látky jako acetaldehyd, diacetyl, kyselinu octovou, aminokyseliny a sirovodík. Jsou acidotolerantní až acidofilní, fermentací snižují pH prostředí až na 4,0. Laktobacily rostou v mléce pomaleji než laktokoky, po delší době však laktobacily přerůstají laktokoky díky vyšší toleranci vůči kyselému prostředí [10].

Laktobacily lze rozdělit do tříd:

I. třída – obligátně homofermentativní laktobacily

Fermentují glukózu a další hexózy na kyselinu mléčnou, jsou termofilní, optimální teplota růstu 30–45 °C, optimální pH 5,5–6, 2. Vyskytují se v mléce, mléčných produktech, dále také ve fermentovaných rostlinných materiálech, dutině ústní a intestinálním traktu člověka a zvířat, v masných produktech, pekárenském zákvasu, jablečném moštu a víně. Čisté kyselé kultury se používají pro jogurty, acidofilní mléko, tvaroh a sýr (s nízkodohřivanou sýřeninou).

Do této třídy řadíme:

L. delbrueckii subsp. *delbrueckii*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. farciminis*, *L. yamanashiensis*.

II. třída fakultativně heterofermentativní laktobacily

Fermentují hexózu na kyselinu mléčnou, při jejím nedostatku produkují kyselinu octovou, etanol a kyselinu mravenčí. Jsou mikroaerofilní a mezofilní s optimální teplotou růstu 28–32 °C. Vyskytují se v mléce, sýrech, mléčných a masných produktech, dále také v pekařských výrobcích, kvašeném zelí, dutině ústní a intestinálním traktu.

Do této třídy řadíme:

L. casei subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. casei* subsp. *rhamnosus*, *L. casei* subsp. *tolerans*, *L. plantarum*, *L. bavaricus* (nověji *L. sake*), *L. alimentarius*, *L. sake*.

III. třída obligátně heterofermentativní laktobacily

Fermentují hexózy na kyselinu mléčnou, octovou, etanol a CO₂. Optimální teplota růstu 28–32 °C. Jejich výskyt je v mléce, mléčných produktech, masných výrobcích, fer-

mentované zelenině a ovoci, pekárenském zákvasu, dutina ústní, intestinální trakt. Podílejí se na kažení potravin.

Do této třídy patří:

L. buchneri, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. bifementas*, *L. kefir*, *L. fruktivorans*, *L. candleri*, *L. reneri*, *L. sanfrancisco*, *L.confusus* (nověji *Weisella confusa*), *L. halotolerans* (nověji *Weisella halotolerans*), *L. viridescens* (nověji *Weisella viridescens*), *L. divergens* (nověji *Carnobacterium divergens*) [10].

1.3 Non-starterové bakterie mléčného kvašení

Tato mikroflóra nezákysového původu, zaujímá významnou funkci při zrání sýrů. Významně přispívá k organoleptickým vlastnostem sýrů. Do sýrů se dostává jako přírodní kontaminace z mléka a z prostředí výroben při výrobě sýrů. Rostou v průběhu zrání a k produkci kyseliny mléčné významně nepřispívají. Výrazný dopad mají na rozvoj chuti v průběhu zrání a to díky svému silnému proteolytickému aparátu. Vhodnou selekcí mohou být používány jako vybrané kmeny ve formě sekundárních nebo přídavných kultur, které jsou aplikovány cíleně za účelem zvýšení organoleptické kvality, bezpečnosti, případně ke zvýraznění zdravotních benefitů sýrů. Přestože se jedná o kontaminující mikroflóru, nemusí striktně způsobovat kažení mléčných výrobků, ale naopak mohou významně zlepšit organoleptické vlastnosti sýrů. Hlavními non-startery jsou převážně laktobacily, leukonostoky, pediokoky a enterokoky. [1, 8, 10].

2 LEN SETÝ (*LINUM USITATISSIMUM L.*)

Len setý je 60–120 cm jednoletá plodina botanicky řazena do čeledi Inovitých (*Linaceae*) s vysokou fenotypovou rozmanitostí dle konkrétních agroekologických podmínek. Lesklá, tmavohnědá semena mají dlouhý oválný tvar délky 4 mm. Podíl oleje v semeni se zvyšuje od 10. do 35. dne po odkvětu. Celou rostlinu lze vidět na obrázku 1. Len vyžaduje střední teploty 18–21 °C, v teplejších oblastech jako Indie roste v zimním období, protože příliš vysoké teploty vedou k chorobám těchto rostlin. Pochází z jihozápadní Asie a severní Afriky. Ve starověkém Egyptě sloužil především jako olejnina a přadná rostlina, kolem roku 2300 před naším letopočtem sloužil pro výrobu vláken. V Evropě po roce 1890 byl postupně vytlačován dovozem bavlny [21, 26]. Největšími producenty lnu jsou Kanada, následuje Čína, Spojené státy a Indie. Ze zemí Evropské unie jsou největšími pěstiteli lnu setého Francie, Velká Británie, Belgie, Německo, Španělsko a Švédsko [23, 26, 29].

Ve světě i v ČR se pěstují tři typy lnu a to přadný, olejný a olejnopřadný. Liší se dle poskytovaného hlavního a vedlejšího produktu. Semeno je využíváno jako vedlejší produkt spíše k technickým účelům. V ČR je len setý olejný, na rozdíl od tradičně pěstovaného lnu setého přadného, relativně novou plodinou. K jeho rozvoji v pěstování došlo až po roce 1990. Pěstitelské plochy lnu setého olejného v ČR kolísají v závislosti na poptávce a rentabilitě pěstování. Největší rozvoj osevních ploch nastal v letech 2005 (7335 ha) a 2006 (7869 ha) [29].



Obrázek 1.: *Len setý* (*Linum usitatissimum* L.) [22].

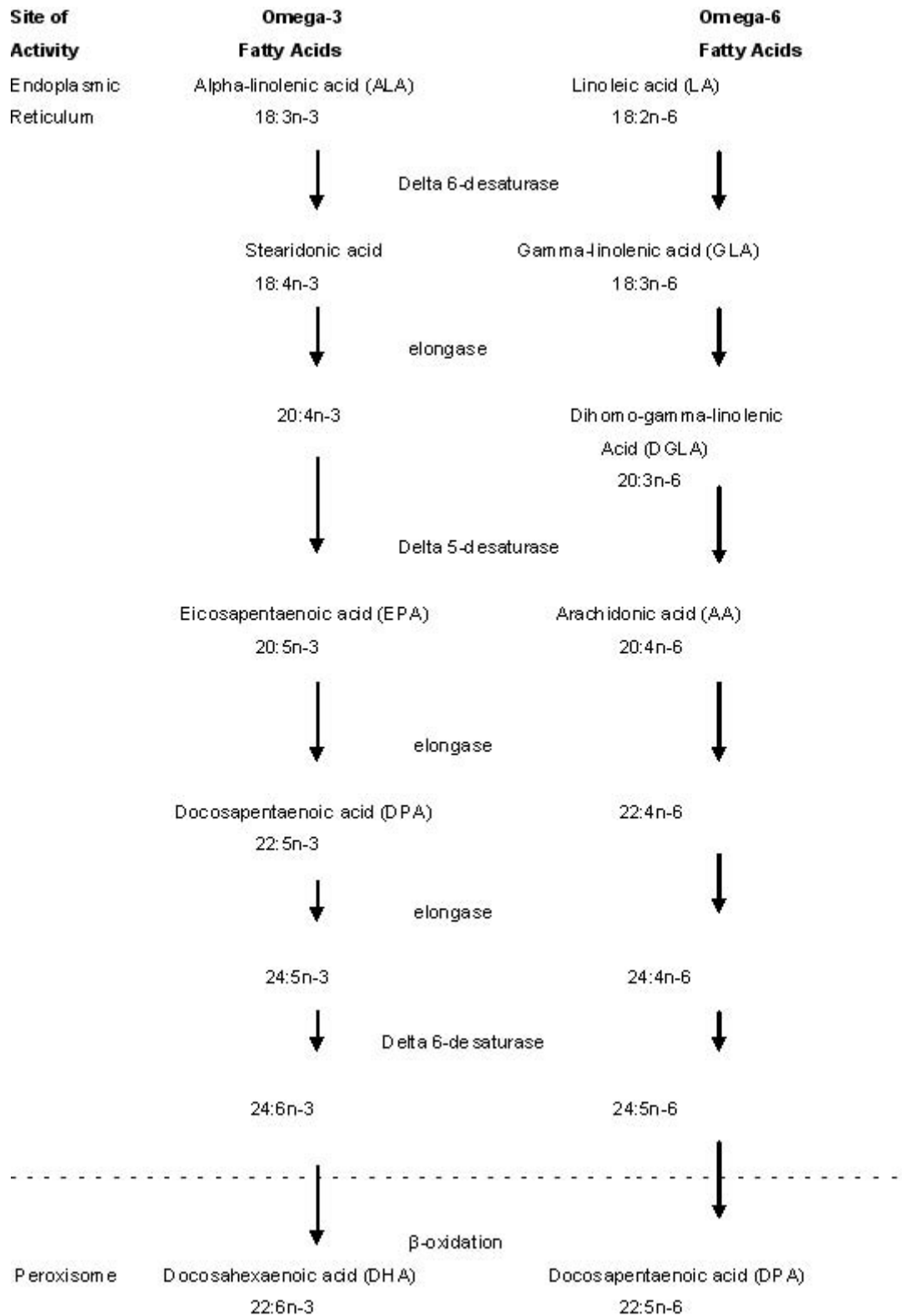
2.1 Chemické složení lněného semínka

Lněné semínko obsahuje 40 % lipidů, 28 % vlákniny, 21 % bílkovin, 4 % popelovin a další složky jako fenolické kyseliny a lignany. Lněné semínko obsahuje mezi 29–45 % oleje v závislosti na kultivaru, umístění a klimatických podmínkách. Hlavní nutriční výhodou lněného oleje je vysoká úroveň obsahu α -linolenové mastné kyseliny. Asi 20 % z lněného semínka tvoří slizy, které se skládají z polysacharidů jako kyselý ramnózy a galaktózy a dále z neutrálního arabinoxylanu xylózy. Lněné semínko obsahuje 1–2 % fenolických

sloučenin, z kterých lignan secoisolariciresinol diglukosid (SDG) je hlavní složkou. SDG je přítomen v semeni jako směs oligomerů s hydroxymethylglutarovou kyselinou. SDG lignan má antioxidační účinky a estrogení efekt, díky tomu napomáhá při kardiovaskulárních onemocněních, diabetu a menopauze [23, 26, 27, 28, 33].

Len byl historicky ceněn pro svůj jedinečný obsah mastných kyselin. Je bohatý na polynenasycené mastné kyseliny, zejména kyselinu α -linolenovou (esenciální omega-3 mastná kyselina) a kyselinu linolovou (esenciální omega-6 mastná kyselina). Obsah α -linolenové kyseliny je 50–60 % z celkového obsahu mastných kyselin. Dále jsou obsaženy kyselina palmitová, stearová a olejová [23, 25, 27, 28].

Mastná kyselina α -linolenová se vyskytuje v rostlinách, zvířatech, planktonu a mořských rybách, ale rostlinné oleje jsou nejbohatším zdrojem. Kyselina α -linolenová je základem pro mastné kyseliny eikosapentaenovou a dokosahexanovou, které hrají důležitou roli při růstu, rozvoji, rozmnožování, zachování buněčné struktury, metabolismu cholesterolu, genetické regulaci a udržuje zdravou kůži. Metabolismus mastných kyselin je znázorněn na obrázku 2. Esenciální kyselina α -linolenová se u lidí indikuje jako doplněk stravy při tukové degeneraci v případech trombózy a aterosklerózy a vstupuje do procesů eliminace zásob nasycených mastných kyselin a cholesterolu z tkání. Tím klesá pravděpodobnost vzniku sraženin. Bývá spojována s prevencí kardiovaskulárních onemocnění, některých druhů rakoviny, revmatoidní artritidy a autoimunitních onemocnění. Kyselina α -linolenová a linolová jsou součástí buněčných membrán a jsou nezbytné pro jejich funkci, jakož i pro řádné fungování mozku a nervového systému. Kyselina α -linolenová je nejběžněji užívanou omega-3 mastnou kyselinou v typické západní stravě [23, 24, 29].



Obrázek 2: Metabolické dráhy omega-3 a omega-6 mastné kyseliny [23].

Lněný olej dále obsahuje rostlinné monoacylglyceroly v podobě sterolů, přibližně 700 mg/100g. Hlavními steroly jsou sitosterol, cykloartenol, kampesterol, 24-methylen cykloartanol, 5-avenasterol a stigmasterol. Ostatní steroly včetně cholesterolu jsou obsaže-

ny minoritně. Hlavním tokoferolem ve lněném oleji je γ -tokoferol. Dále jsou obsaženy karotenoidy jako β -karoten, lutein a violaxanthin. Olej lněného semínka obsahuje také chlorofyl 5–58 mg/kg [23, 27].

Kvalitní, lehce stravitelné proteiny lnu jsou zastoupeny 21 % z celé hmoty. Majoritními jsou svým zastoupením esenciální aminokyseliny lysin, leucin, izoleucin, valin, metionin, fenylalanin a kolem 22 % bezdusíkatých extrahovatelných látek [29, 33].

Celkový obsah vlákniny v semenech tvoří asi 28 %. Vláknina lněného semínka je tvořena z nestravitelných sacharidů jako celulózy a stravitelných sacharidů slizů. Tyto slizy jsou typu polysacharidu, který se stane viskózní po smíchání s vodou nebo jinými rozpouštědly. Slizy lnu se skládají ze tří odlišných typů arabinoxylanů, které v roztoku tvoří velké agregáty přispívající k jeho gelovým vlastnostem [23, 29, 33].

2.2 Význam lnu setého ve výživě člověka

Len setý svým chemickým složením může příznivě ovlivnit průběh kardiovaskulárních onemocnění, která zahrnují všechny nemoci cév a oběhového systému, jako je ischemická choroba srdeční, infarkt myokardu a cévní mozková příhoda. Kyselina α -linolenová, lignany a vláknina lněného semínka mají pozitivní efekt na hladinu lipidů v krvi, krevní tlak a endoteliální funkce. Fytoestrogen SDG vykazuje silné antioxidační účinky. Střevní mikroflórou je metabolizován na lignany enterolakton a enterodiol. Tyto lignany mají navíc silnější antioxidační účinky než SDG a působí proti hypercholesterolemické ateroskleróze a s ní spojeným mozkovým příhodám a také proti infarktu myokardu [23, 29, 33].

Pravidelným zařazením lněného semínka do stravy může také příznivě působit při onemocnění cukrovkou. Rozpustná vláknina, proteiny, SDG a kyselina α -linolenová mohou ovlivňovat sekreci inzulínu a udržování plazmové homeostáze glukózy. Lněné semínko snižuje obsah glukózy v krvi u zdravých mladých dospělých a hypercholesterolemický index u žen procházejících menopauzou [23, 29].

Fytoestrogeny obsažené ve lněném semínku, jako například lignany, mohou sloužit jako slabé estrogény vazbou na estrogení receptor buněčných membrán. Po menopauze, konkurují lidským estrogenům vazbou na tyto receptory, čímž mohou zmírnit projevy menopauzy. Lignany mají protirakovinné a antivirové efekty, aktivují genovou expresi a mohou chránit proti nemocem odvozených od abnormální hladiny estrogenu, jako je osteo-

poróza a riziko rakoviny prsu. Stejně tak mohou zmírňovat projevy rakoviny prostaty u mužů [23, 29].

2.3 Možnosti využití lnu setého ve výživě člověka

Nejběžnějším využitím lnu setého je v pekařství kde slouží len nejen jako posypka, ale také jako přídavek do různých výrobků. Semeno lnu se používá celé nebo mírně drcené zejména při výrobě lněného chleba a rohlíků. Odtučněnou lněnou mouku lze používat do pečiva jako doplněk, který v množství 5 % zlepšuje vláčnost a trvanlivost pečiva a zároveň zvyšuje jeho nutriční hodnotu. Z dietetického hlediska je velice významný obsah slizových látek, které působí pozitivně v procesu trávení. Použití semene díky obsahu slizů chrání žaludek před látkami způsobujícími poškození sliznice nebo vyvolávajícími vředy. Ve farmácii se lněný olej používá ve formě kapslí jako laxativum a analgetikum v prevenci proti kardiovaskulárním chorobám. Za studena lisovaný olej je používán na výrobu léčiv a kosmetických přípravků jako jsou masti, krémy, zásypy či šampóny. Využit lze i vedlejší produkty ze zpracování lněného semínka pro výrobu oleje, tyto pokrutiny obsahují stále značné množství cenných nutričních látek. Mají tedy potenciál pro další využití při výrobě potravin [29].

Pro možné využití je nezbytná kvalitní a jakostní surovina. Na kvantitativních a kvalitativních změnách se významně podílí průběh růstu, chemická ošetření během vegetace, průběh a termín sklizně, skladování a zpracování sklizeného semene. Základním parametrem pro výrobu olejného lnu je dosažení vysokých parametrů výnosu semene a obsahu oleje za současného nízkého obsahu cizorodých látek. Olejný len na rozdíl od lnu přadného, se sklízí v plné zralosti, kdy má semeno plně vyzrálé. Má nejvyšší hmotnost i obsah tuku a stává se tak jakostnějším produktem pro další využití. Požadavky na jakost semen přadných a olejních lnů jsou uvedeny v normě ČSN 46 2300-5 Olejnatá semena, část 5: Semeno lnu, která stanovuje maximální vlhkost semene do 9 % a maximální podíl nečistot do 2 %. Obsažené nečistoty snižují kvalitativně i kvantitativně hodnotu semen, proto je důležité po sklizni jejich okamžité provzdušnění a při vlhkosti nad 12 % i dosušení. Obsah tuku při vlhkosti 9 % by měl dosahovat hodnoty 36 %. Při zpracování lněného semene jsou důležitými parametry smyslová hodnocení (barva) a chemické analýzy (obsah volných mastných kyselin, těkavých látek, peroxidové číslo a obsah fosforu) [29].

Z mikrobiologického hlediska je sledováno, zda není překročen limit nejvyšších mezních hodnot mikroorganismů, zda neobsahuje jejich toxické produkty a mikrobiální metabolity způsobující alimentární onemocnění a vykazuje-li nežádoucí změny typické pro mikrobiální činnost. Pro jedlé oleje nejsou stanoveny specifické mikrobiologické požadavky, neboť pro své složení, technologii použitou k jejich výrobě, své vlastnosti (pH, obsah antimikrobiálních látek apod.) nebo pro nutnost dostatečného tepelného záhřevu při kulinární úpravě před konzumací nepředstavují za daných mikrobiologických podmínek rizika pro zdraví [29].

Požadovaná kvalita semene lnu stejně jako jeho produktů pro výživu je dána nejen typem finální potraviny, ale zahrnuje i působení celého procesu prostředí na produkci. Během vegetačního období mohou být rostlinné materiály kontaminovány houbami, z nichž mnohé jsou producenty mykotoxinů. Producentem trichothecenových toxinů a zearalenonu u lnu je houba rodu *Fusarium*. Houba rodu *Alternaria* se vyskytuje na dozrávajících a zralých rostlinách lnu. Tato houba produkuje toxické metabolity. Přesto pro len, lněné pokrutiny a olej není u nás stanoven žádný limit mykotoxinů [29].

Dalším významným kritériem kvality lnu je obsah těžkých kovů v semeni. Sledovány jsou především obsahy kadmia, olova a rtuti. Na základě dlouholetých pokusů bylo zjištěno, že semena lnu mohou akumulovat těžké kovy a v závislosti na zvyšující se koncentraci polutantu v zemině stoupá i celková koncentrace kovu v produktu [29].

3 CHARAKTERISTIKA BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK NA BÁZI ANTIOXIDANTŮ A JEJICH VLIV NA ZDRAVÍ ČLOVĚKA

Vláknina a antioxidanty jsou dva uznané dietní faktory v prevenci mnoha chronických onemocnění. Vláknina má zásadní roli v zažívacím traktu a zdá se být významně spojena s nižším rizikem vzniku ischemické choroby srdeční, cévní mozkové příhody, hypertenze, diabetes a obezity. Antioxidanty chrání před oxidačním poškozením DNA, bílkovin a lipidů a mají významný vliv na regulaci genové exprese. Vitamíny C, E, a polyfenoly (flavonoidy, fenolové kyseliny, stilbeny, a taniny), a karotenoidy (karoteny a xantofyly) jsou hlavní skupiny antioxidantů. V trávicím traktu působí vláknina jako nosič pro některé antioxidanty, které takto transportují do tlustého střeva, kde mohou být metabolizovány působením bakteriálních enzymů.

Na tomto základě, lze antioxidanty rozdělit do dvou skupin: (1) antioxidanty vstřebatelné v tenkém střevě (vitamíny, polyfenoly o nízké molekulové hmotnosti, a karotenoidy) a (2) antioxidanty nevstřebatelné v tenkém střevě nebo antioxidanty propojené s vlákninou. Jedná se především o polyfenolické sloučeniny (polymerní polyfenoly a nízkomolekulární polyfenoly) spolu s menšími množstvími karotenoidů.

Většina studií antioxidantů odkazují na skupinu 1, vzhledem k tomu, skupina 2 je obvykle ignorována, pravděpodobně proto, že se domnívali, že jsou menší a fyziologicky relevantní složky potravin. Nicméně, nedávné nálezy ukázaly, že skupina 2 představuje hlavní část přítomných antioxidantů v potravinách a stravě. Pravděpodobně transport těchto antioxidantů je zásadní fyziologická funkce vlákniny [32].

Současný výzkum ukazuje, že většina ovoce, zeleniny, ořechů, olejnin, obilovin a koření obsahují bioaktivní sloučeniny, které obsahují přírodní antioxidanty s potenciálem pro minimalizaci oxidace. Příjem dostatečného množství antioxidantů je nutný z důvodu zabránění volným radikálům indukovat oxidativní stres, poškozující proteiny a DNA, membránové lipidy, inaktivující enzymy a indukující genové mutace, které mohou vést ke vzniku rakoviny. Mezi hlavní skupiny antioxidantů patří vitamíny, karotenoidy, fenolické sloučeniny a glukosinoláty. Množství těchto látek se v potravině může značně lišit v několika souvisejících faktorech: podmínky pěstování, manipulace a skladování. Za určitých okolností může být během zpracování vyvolán dramatický nárůst aktivních forem kyslíku, které jsou vedlejšími produkty rostlinného metabolismu. Může být podstatně zvýšen v důsledku neodborné manipulace, což vede k různým biochemickým a fyziologickým poškozením, které mohou ovlivnit nejen antioxidační potenciál suroviny/potraviny, ale i jejich fyzikální a senzorické vlastnosti [25, 30].

3.1 Antioxidanty z řady vitaminů

Vitamin C, včetně kyseliny askorbové a kyseliny dehydroaskorbové a jeho oxidační produkty, mají mnoho biologických aktivit v lidském těle. Experimentální studie ukázaly, že vitamin C hraje důležitou roli pro lidské zdraví, včetně účinků na imunitní systém a riziko Alzheimerovy choroby. Vitamin C může bránit poškození DNA volnými radikály a snižuje hladinu LDL lipoproteinů. Vitamin C je jedním z nejdůležitějších antioxidantů ovoce a zeleniny. Ovoce a zelenina dodává více než 85 % vitamínu C v lidské stravě. Z ovocných zástupců jsou dobrým zdrojem vitamínu C černý rybíz ($125,2 \pm 151,1$ mg/100 g), jahody (29 ± 48 mg/100 g) a citrusové plody (30 ± 50 mg/100 mg). Zelenina obecně obsahuje různá množství vitamínu C. Mezi významné zdroje jsou zahrnuty: tykev (185 mg/100 g), paprika (120 mg/100 g), brambory (30 mg/100 g), hrách (25 mg/100 g), rajčata (20 ± 25 mg/100 g) a špenát (51 mg/100 g) [30].

Dalším zástupcem antioxidantů z řady vitaminů je Vitamin E, který je rozpustný v tucích. Je přítomen v buněčných membránách, kde zachycuje peroxylové volné radikály. Biologická aktivita vitamínu E spočívá v blokaci rozvoje aterosklerózy. Kromě tuků, olejů a obilovin, představuje nemalý zdroj vitamínu E v naší stravě, zelenina. Mezi zeleninou jsou nejlepší zdroje tokoferolů a tokotrienolů, kapusta (2,12 mg/100 g) a brokolice (0,82 mg/100 mg). Kromě toho vysoké množství vitamínu E bylo stanoveno ve špenátu (2,03 mg/100 g), chřestu (1,13 mg/100 g), a rajčatech (0,54 mg/100 ml). Obecně lze říci, že ovoce není významným zdrojem vitamínu E, s výjimkou avokáda, jehož obsah se pohybuje v rozsahu 2,1 - 3,2 mg/100 g [30].

3.2 Antioxidanty z řady karotenoidů

Karotenoidy (karoteny a xantofyly) jsou žluté, oranžové a červené pigmenty přítomné v ovoci a zelenině. Pro lidské zdraví jejich význam spočívá ve funkci provitaminu A, antioxidantech, vystupují jako regulátory buněčné diferenciaci a proliferace, stimulují buněčnou komunikaci a imunitní funkce. Existuje silná korelace mezi příjmem karotenoidů a zlepšením imunitního systému a snížením výskytu některých degenerativních chorob, jako je rakovina a kardiovaskulární onemocnění. Lykopen je zodpovědný za červenou barvu několika druhů ovoce a zeleniny, včetně rajčat, červených hroznů, melounu a růžového grapefruitu. Lykopen představuje 60 ± 80 % z karotenoidů přítomných v rajčatech [30].

3.3 Antioxidanty z řady fenolických sloučenin

Fenolické sloučeniny jsou velká třída přírodních látek, které lze nalézt v mnoha jedlých rostlinných produktech, které mají silnou antioxidační aktivitu, patří zde třísloviny, flavonoidy a antokyany. Jsou schopny odstraňovat reaktivní formy kyslíku. O fenolických látkách ve lnu bylo poukázáno výše. Obsah fenolických sloučenin v ovoci a zelenině, je vyjádřen jako kyselina galová (GAE). Zejména vysoký podíl fenolických sloučenin obsahují borůvky (5250 mg GAE/100 g), ostružiny (3610 mg GAE/100 g), černý rybíz (3181 mg GAE/100 g), jahody (3172 ± 4434 mg GAE/100 g).

Mezi další antioxidanty můžeme zařadit také glukosinoláty (sirné glukosidy) [30].

3.4 Suroviny s antioxidační aktivitou s možností aplikace do přírodních sýrů

S ohledem na celosvětovou spotřebu sýrů (20 mil. tun [34]) by bylo velice výhodné zakomponovat suroviny bohaté na antioxidační látky do matrice sýra. Získala by se tímto způsobem funkční potravina s přidanou hodnotou, mající mimo jiné příznivý účinek na zdraví konzumenta.

- Olejiny: antioxidanty společné pro olejiny, jsou tokoferoly a tokotrienoly.

Lněné semínko: obsahuje komponenty, jako fenolické sloučeniny a taniny může tak poskytnout významný zdroj antioxidantů. Začlenění lněného semínka do pekařských a jiných výrobků může poskytnout významný zdravotní přínos, který byl popsán v kapitolách 2.2 a 2.3.

Podzemnice olejná: vyznačuje se vysokým obsahem fenolických sloučenin, které jsou významnými přírodními antioxidanty. Celkový obsah fenolických sloučenin činí $1,67 \text{ mg.ml}^{-1}$. Poskytuje ochranu (93-95%) proti oxidaci linolové kyseliny. Přídavek arašídové slupky v množství $1,2 \text{ mg.ml}^{-1}$ má za následek 89% inhibici radikálové aktivity. Použití arašídových surovin a mouky pro potravinářské využití značně přispívá k oxidační stabilitě. Arašídový olej obsahuje mezi 350 a 650 ppm tokoferolů [31].

- Ořechy: Antioxidanty z ořechů jsou obecně lokalizovány v osemeni.

Makadamiové ořechy: olej z makadamiových ořechů obsahuje 49mg.g-1 fenolických sloučenin.

Lískové ořechy: obsahují významné množství stabilních tokoferolů (210 ppm).

Pekanové a kešu ořechy: využití zdrojů přírodních antioxidantů z pekanových a kešu ořechů je problematické. Díky přítomnosti enzymů, které způsobují, že fenolické sloučeniny neposkytují dostatečnou ochranu a neměly by být používány jako zdroj antioxidantů [31].

- Byliny, koření a čaje: patří mezi jedny z nejdůležitějších přírodních zdrojů antioxidantů z hlediska bezpečnosti. Člověk je používá nejen k ochucení potravin, ale také pro antiseptické a léčebné vlastnosti. Rozmarýn, hřebíček, oregano a šalvěj jsou nejúčinnější antioxidanty z řady koření.

Rozmarýn: je jedním z nejúčinnějších koření široce používaným při zpracování potravin.

Čajovník: využít lze také čaj, nápoj pocházející druhu rostliny, *Camellia sinensis*, široce kultivovaný po celém světě v tropických a subtropických oblastech. Existují tři hlavní formy vyráběných čajů: zelený čaj (nefermentovaný), oolong čaj (částečně fermentovaný), a černý čaj (fermentovaný). Antioxidační aktivita vodných extraktů z nich izolovaných se snižuje v pořadí částečně fermentované čaje > nefermentovaný čaj > fermentovaný čaj. Existuje možnost využití použitých čajových lístků, které jsou často považovány za odpad, obsahují totiž antioxidanty, které mohou být účelně extrahovány a přidávány do potravin.

Je třeba zdůraznit, že použití koření a bylin, jako antioxidanty, je slibnou alternativou k použití syntetických antioxidantů. Dnes jde především o výtažky z listů rozmarýnu a šalvěje [31].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cíle práce lze stručně charakterizovat jako:

- optimalizaci výroby přírodních sýrů holandského typu v podmínkách technologické laboratoře,
- výrobu přírodních sýrů s přídavkem různých startérových kultur za účelem výběru vhodné kultury pro aplikaci lněné moučky do zrajícího sýra,
- výrobu přírodních sýrů s přídavkem lněné moučky za použití vybrané startérové kultury.

5 METODIKA PRÁCE

Modelové vzorky přírodního sýra byly vyráběny v období od 12. 10. 2011 do ledna 2013. Experimentální část lze rozdělit do 3 fází:

- Pro výrobu sýrů bylo nutné nejprve optimalizovat výrobu sýrů holandského typu v podmínkách technologické laboratoře. Tato optimalizace probíhala v období od 12. 10. 2011 do 10. 1. 2012 a zahrnovala 5 výrob. Cílem tohoto bodu byla standardizace výroby modelových vzorků sýrů.
- V další části byly vyráběny sýry pomocí optimalizovaného postupu za použití sedmi odlišných komerčních kultur. Druhá fáze experimentální části diplomové práce byla provedena v období od 21. 3. 2012 do 23. 8. 2012.
- Poslední částí experimentu byla výroba sýrů s přídavkem lněné moučky pro navýšení obsahu biologicky aktivních látek, které se přirozeně ve lněné moučce vyskytují. Byly vyrobeny šarže sýrů, které se lišily způsobem použití či množstvím přídavku lněné moučky. Poslední část experimentu byla uskutečněna od 15. 10. 2012 do ledna 2013.

5.1 Materiál, suroviny a pomůcky použité pro výrobu

Pro výrobu sýrů byly použity následující suroviny:

- Mléko: Mléko čerstvé 1,5 % tuku, Mléko čerstvé selské 3,5 % tuku, Olma a.s., Česká Republika.
- Chlorid vápenatý 36 % roztok, Milcom a.s., Česká Republika.
- Syřidlo Fromase 750 TL, Bio Pro s.r.o., Francie.
- Syřidlo laktochym, Milcom a.s., Česká Republika.
- Delvolid DiP, BioPro, Francie.
- Nátěrová hmota, BioPro, Francie.
- Potravinářský vosk žlutý, BioPro, Francie.
- Potravinářská sůl bez jódu.

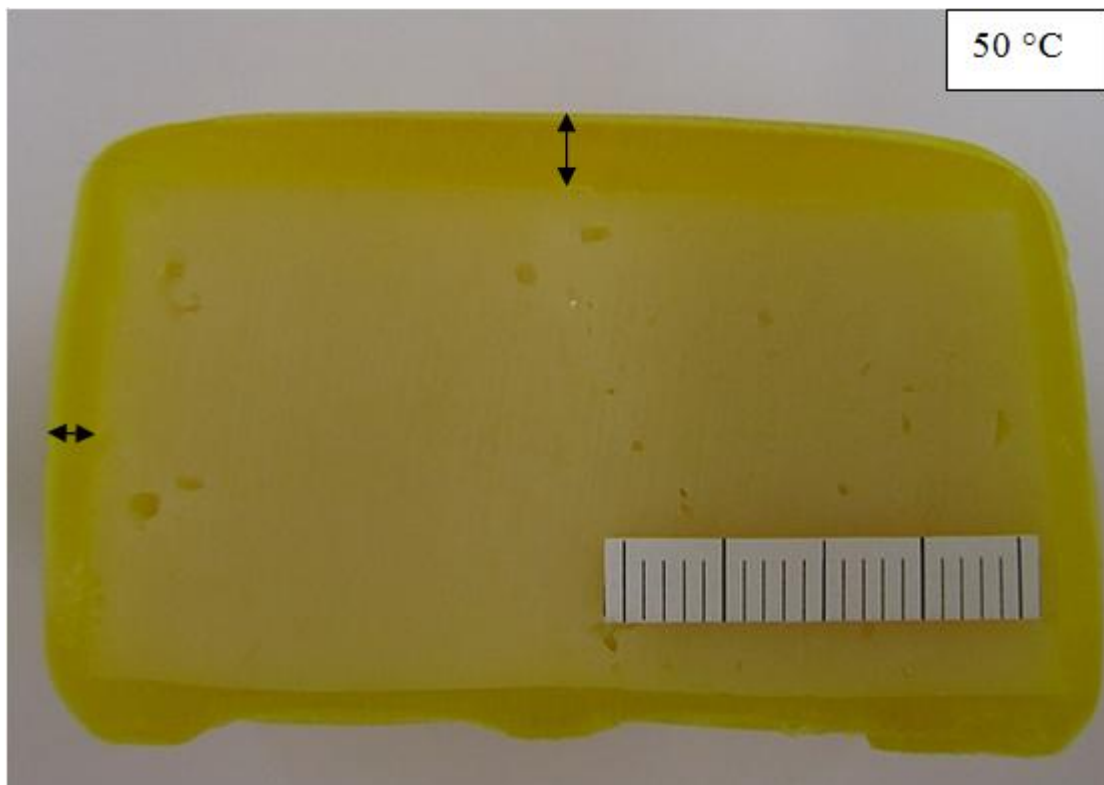
Seznam přístrojů pro výrobu sýrů

- Rotor, IKA[®] RW 14 basic, Čína.
- Zrací komora Candy model 50, Itálie.

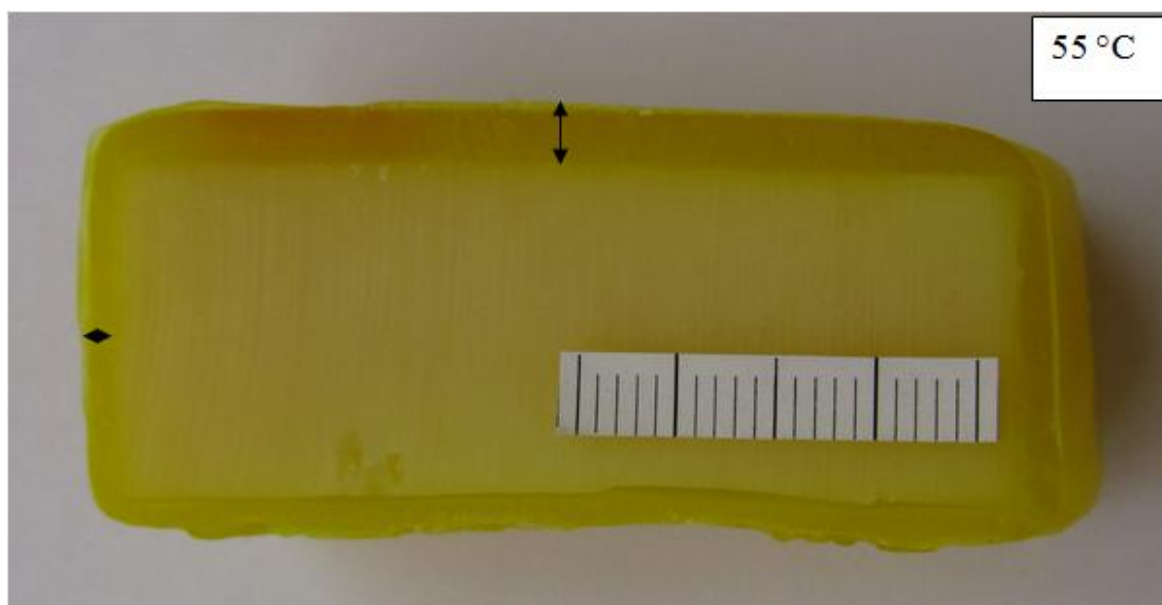
Při prvním experimentu optimalizace výroby bylo použito 2,5 l mléka (Olma a.s., Česká Republika), které bylo ohřáno na 32 °C. K inokulaci bylo použito 0,5 g smetanové kultury (Milcom a.s., Česká Republika). Současně s kulturou byl přidán také chlorid vápenatý (Milcom a.s., Česká Republika) v množství 1 ml. Jako syřidlo byl použit laktochym (Milcom a.s., Česká Republika) v množství 1,5 ml. Sýření probíhalo po dobu 30 minut při teplotě 30 °C. Sýřenina byla pokrájena, dohřívána, následně bylo zrno slito do forem a nastalo lisování 10kg závažím po dobu 1 hodiny. Vyrobené sýry, byly druhý den nasoleny v 20 % roztoku soli bez jódu po dobu 30 minut.

Při druhé experimentální výrobě byla již stanovena teplota sýření na 33–34 °C po dobu 35 minut z důvodu nedostatečně pevné sýřeniny v předchozí výrobě. Využívání trvalo 30 minut při teplotě 38 °C. Po slévání sýrového zrna nastalo lisování. Lisování sýrů probíhalo pomocí 10kg závaží po dobu 1 hodiny. Druhý den byly sýry nasoleny a zaveskované při teplotě vosku 65 °C (BioPro, Francie). Vhodná teplota vosku byla také optimalizována, kdy byla experimentálně zkoušena při určitých teplotách síla vosku (teploty 50 °C, 55 °C, 60 °C a 65 °C). Na obrázcích 3 až 6 je možné vidět sílu ulpělého vosku. Jako nejvhodnější byla zvolena tloušťka vrstvy vosku při 65 °C a to z důvodu stále dostatečné ochrany sýra před možnou vnější kontaminací či poškozením, ale za současné nejmenší spotřeby materiálu.

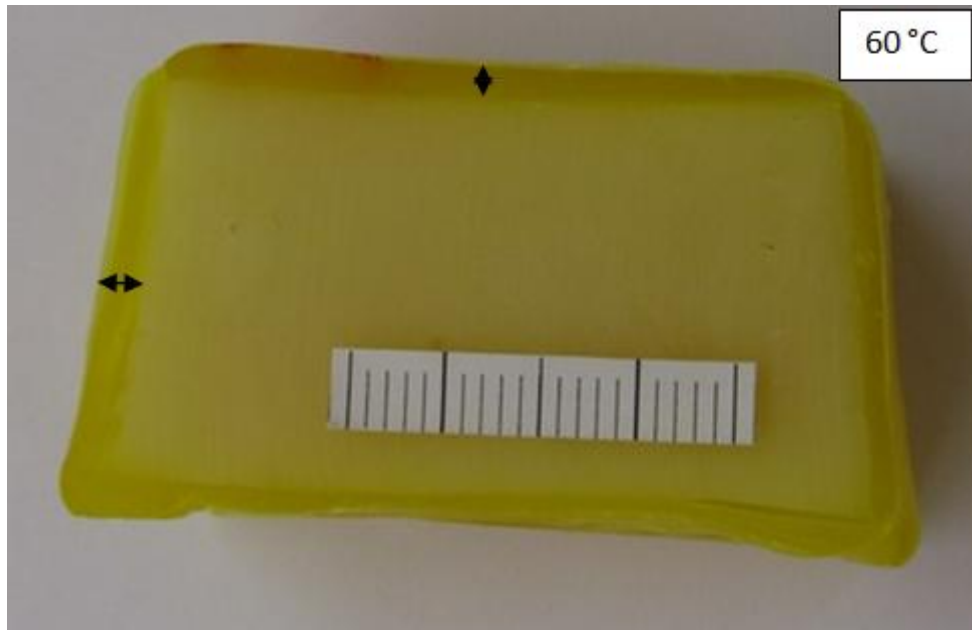
Jako ochranný obal byl také testován sýrařský nátěr (BioPro, Francie). Toto povrchové ošetření se však z důvodu velké časové náročnosti příliš neosvědčilo. Výsledná vrstva byla příliš tenká a také dlouho zasychala. Navíc bylo nutné nátěr několikrát opakovat. Z časových důvodů a náročnosti na provedení byl pro standardní výrobu vzorků sýrů zvolen voskový obal.



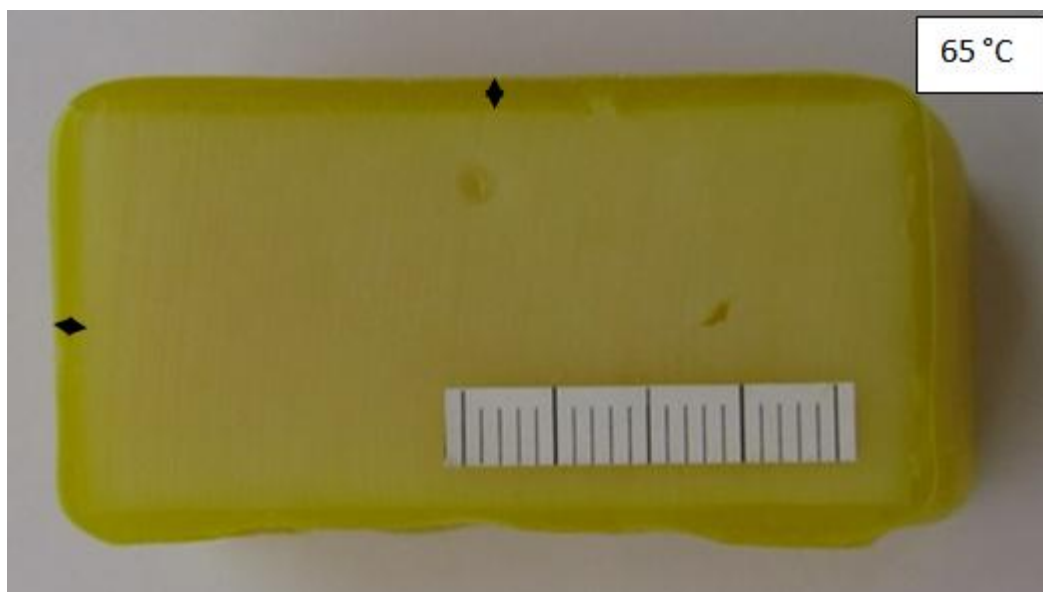
Obrázek 3.: *Tloušťka vrstvy vosku při 50 °C.*



Obrázek 4.: *Tloušťka vrstvy vosku při 55 °C.*



Obrázek 5.: *Tloušťka vrstvy vosku při 60 °C.*



Obrázek 6.: *Tloušťka vrstvy vosku při 65 °C.*

U třetí experimentální výroby byl vybrán nejvhodnější typ a poměr mléka a to v poměru 1:1 selské mléko vysokopasterizované s obsahem tuku min. 3,5 % a mléko čerstvé polotučné vysokopasterizované s obsahem tuku 1,5 % (Olma a.s., Česká Republika). Při této výrobě byla zvolena jako optimální teplota sýření 32 °C (Syřidlo Fromase 750 TL, Bio Pro s.r.o., Francie). Sýření bylo prodlouženo na 40 minut. Po rozkrojení byla sýřenina ponechána 10 minut zatáhnout pro zpevnění vytvořených vazeb sýřeniny. Následně bylo zrnو ručně mícháno po dobu 20 minut. Po uplynutí této doby byla odebrána polovina syrovátky

a přidána na původní objem horká voda o teplotě 80 °C tak, aby teplota vzrostla na 41 °C. Dosoušení syrového zrna při teplotě 41 °C trvalo 60 minut. Z důvodu zadržování stále velkého množství syrovátky v hmotě sýra. Zrno bylo sléváno v proudu syrovátky do větších formiček a dvakrát obráceno po 10 minutách pro lepší spojení sýřeniny. Po uplynulých 30 minutách byla sýřenina přemístěna do malých formiček, ve kterých byly sýry lisovány po dobu 90 minut zátěží v součtu 30 kg pro dosažení vyšší sušiny (po 30 minutách přídavek 10kg závaží až do požadované zátěže). Sýry byly ponechány k prokysání při 16 °C ve zrací komoře do následujícího dne. Tento den byly sýry taktéž nasoleny a voskovány voskem o teplotě 65 °C.

Čtvrtá experimentální výroba probíhala obdobným způsobem pro ověření porovnatelnosti výrob a při páté výrobě byl navíc povrch prokysaných a vysolených sýrů ošetřen přípravkem Delvocid (BioPro, Francie) zabraňující sekundární plísňové kontaminaci. Účinnou látkou tohoto přípravku byl natamycin.

V průběhu optimalizace bylo sledováno mimo jiné pH sýrů prokysávajících do druhého dne skladovaných za různých teplotních režimů a to z důvodu neoptimálnějšího prokysání. Polovina vzorků byla uložena do lednice při teplotě 9 °C a zbylá polovina vzorků byla uložena do inkubátoru o teplotě 16 °C. Optimálnějšího prokysání bylo dosaženo v inkubátoru, kde byly následně všechny další výroby uchovávány.

Díky výše popsané optimalizaci výroby byl stanoven tento postup výroby sýrů holandského typu uveden v kapitole 5.2.1.

5.1.1 Standardizovaný postup výroby sýrů holandského typu

Na každou výrobu bylo použito 8 l mléka o tučnosti 1,5 % tuku a 3,5 % tuku v poměru 1:1 (Mléko čerstvé 1,5 % tuku, Mléko čerstvé selské 3,5 % tuku, Olma a.s., Česká Republika), které bylo zahřáto na 32 °C a inokulováno příslušnou kulturou, dále byly přidány 4 ml chloridu vápenatého (Chlorid vápenatý 36 % roztok, Milcom a.s., Česká Republika). Pro mírné okyselení aktivitou ČMK se mléko ponechalo za občasného míchání po dobu 30 minut prokysávat při teplotě 32 °C. Poté bylo přidáno syřidlo (Syřidlo Fromase 750 TL, Bio Pro s.r.o., Francie) v množství 0,6 ml zředěné desetinásobkem vody. Doba sýření byla 40 minut. Výsledná sýřenina byla pokrájena a ponechána 10 minut v klidu. Poté bylo aplikováno ruční míchání po dobu 20 minut (z počátku velmi pomalu pro zamezení tvorby sýrařského prachu). Po mírném vytužení sýrařského zrna následovalo dohřívání

přídavkem vody o teplotě 80 °C a to tak, aby výsledná teplota systému byla 41 °C. Sýrařské zrno bylo mícháno po dobu 60 minut při dosažené teplotě (41 °C). Po uplynulé době byla sýřenina spolu se sýrařským zrnem slévána do velkých forem vyložených sýrařskou plachetkou. Sýřenina se nechala spojit po dobu 30 minut (každých 10 minut došlo k otočení sýřeniny pro rovnoměrný odchod syrovátky). Sýřenina z každé formy byla nakrájena na tři rovnoměrné díly, kterými byly naplněny menší formy (opět vyložené plachetkou) pro dosažení konečného formování. Sýřenina byla lisována po dobu 1 hodiny a 30 minut, počáteční zátěž 10 kg, poté každých 30 minut přídavek dalších 10 kg (celková zátěž 30 kg). Vylisované sýry se nechaly prokysat v inkubátoru do druhého dne při teplotě 16 °C. Druhý den následovalo solení po dobu 30 minut v solném roztoku o koncentraci 20 %. Na vysolené sýry byl aplikován delvocid (Delvocid DiP, BioPro, Francie) pro zamezení růstu plísní. Takto připravené sýry byly voskovány ponořením do vosku o teplotě 65 °C.

5.2 Selektce optimální startérové kultury

Tento experiment spadal do druhé fáze praktické části. Jeho úkolem bylo vyrobit další šarže sýrů a jejich následným zráním vyselektovat senzorycky nejvhodnější sýr a s příslušnou kulturou pro aplikaci lněné moučky.

Jednotlivé šarže byly vyráběny již standardizovaným způsobem výroby sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou (viz. kapitola 5.2.1) z důvodu minimalizace vlivu vnějšími podmínkami na zrání sýrů.

Použité zákysové kultury:

1. smetanová zákysová kultura, Laktoflora[®] (mezofilní kultura, Milcom a.s., Česká Republika), lyofilizovaná, mléko pro výrobu sýra inokulováno v množství 80 ml provozního zákyosu připraveného předešlý den přídavkem 0,03 g kultury;
2. kultura Delvo LL-50B DSL (pro přímou inokulaci, DSM Food Specialities, Nizozemsko), lyofilizovaná, mléko pro výrobu sýra inokulováno v množství 80 ml provozního zákyosu připraveného předešlý den přídavkem 0,03 g kultury;
3. kultura Flora Danica (mezofilní kultura, CHr Hansen, Dánsko), zmrazená (-18 °C), inokulace přímo do mléka v množství 0,0305 g;

4. kultura CHN-19 (mezofilní kultura, CHr Hansen, Dánsko), zmrazená (-18°C), mléko pro výrobu sýra inokulováno v množství 80 ml provozního zákysu připraveného předešlý den přídatkem 0,03 g kultury;
5. kultura Delvo Tec DX-33D DSL (DSM Food Specialities, Nizozemsko), lyofilizovaná, mléko pro výrobu sýra inokulováno v množství 40 ml provozního zákysu připraveného předešlý den přídatkem 0,014 g kultury;
6. kultura C502 (mezofilní kultura, CHr Hansen, Dánsko), hlubokozmrazená, inokulace přímo do mléka v množství 0,072 g;
7. kultura C352 (mezofilní kultura, CHr Hansen, Dánsko), hlubokozmrazená, inokulace přímo do mléka v množství 0,072 g.

Vzorky sýrů zrály ve zracích komorách po dobu tří měsíců. Analýzy byly provedeny v 1., 14., 21., 56. a 84. dnu od výroby. Analyzovány byly tyto parametry: hodnoty pH, obsahy sušiny, NaCl a volných aminokyselin (FAA) a pevnost sýra (pomocí TPA). Vyrobené sýry byly také v jednotlivých odběrových dnech sensoricky hodnoceny. Dotazník pro sensorické hodnocení sýrů je součástí příloh (P I).

5.3 Výroba sýrů s přídatkem lněné moučky

Po úspěšném vyselektování nejvhodnější kultury pro výrobu sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou, následovala závěrečná část experimentu. Tato fáze spočívala v přídatku lněné moučky do sýrů a to jak v způsobu samotného přídatku, tak v optimálním množství, které by bylo nejvhodnější pro konzumenta co do chuti a vzhledu sýrů:

1. přímý přídatek lněné moučky v množství 80 g do mléka před samotným sýřením;
2. v druhé výrobě posypem do sýřeniny a zapracováním přidáno 8 g lněné moučky. Množství přídatku bylo zvoleno z důvodu výtěžnosti sýra z původního objemu mléka (1 : 10) pro srovnatelnost obou způsobů aplikace lněné moučky;
3. ve třetí výrobě byla lněná moučka aplikována přímo do mléka v množství 24 g. Z důvodu rovnoměrné distribuce lněné moučky v celé hmotě sýra bylo od aplikace do sýřeniny upuštěno;
4. čtvrtá výroba s přídatkem lněné moučky 32 g;

5. pátá výroba byla stanovena jako kontrola pro čtvrtou výrobu, nebyla přidána žádná lněná moučka do mléka, obě výroby (čtvrtá i pátá) byly vyrobeny ve stejný den.

Vzorky vyrobených sýrů zrály ve zrači komoře po dobu dvou měsíců. Analýzy byly provedeny v 1., 30. a 60. dnu od výroby. Analyzovány byly tyto parametry: hodnoty pH, obsahy sušiny, NaCl a volných aminokyselin (FAA) a pevnost sýra (pomocí TPA).

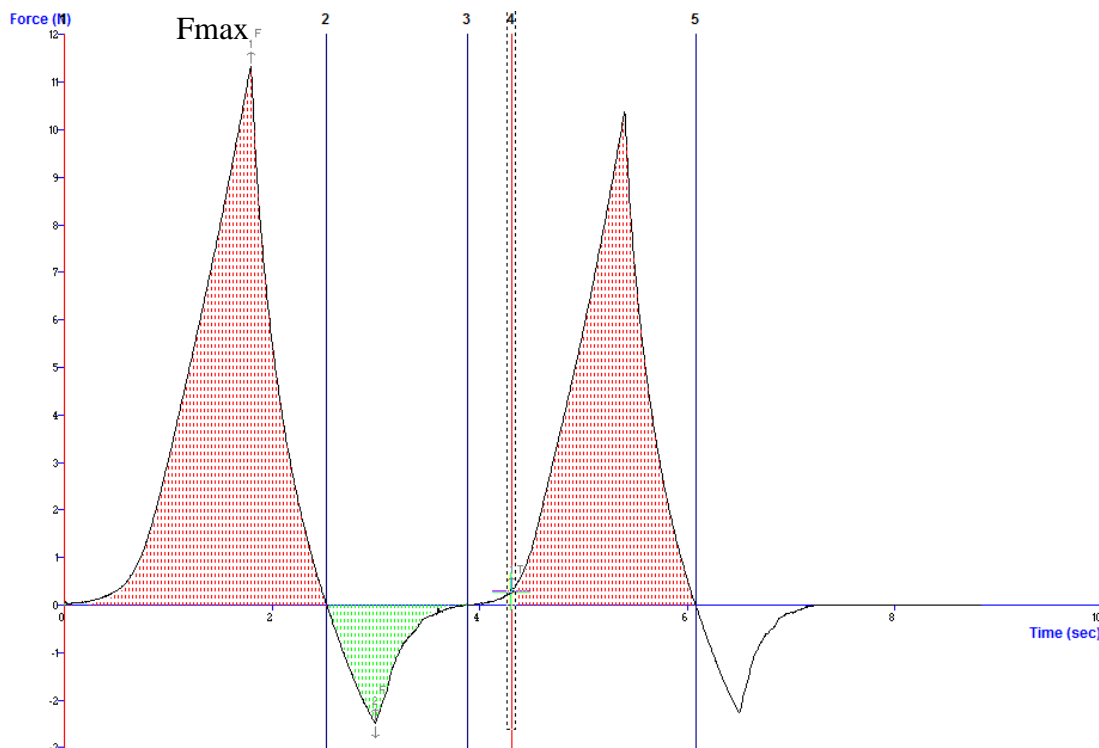
5.4 Analýza sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou

5.4.1 Chemická analýza

Základní chemická analýza zahrnovala stanovení obsahů sušiny dle normy (ČSN EN ISO 5534) [35] a NaCl (Mohrovou metodou) [36], dále byly stanoveny hodnoty pH pomocí vpichového pH-metru (pH Spear for food testing, Eutech instruments).

5.4.2 Analýza texturních vlastností

Pomocí texturního analyzátoru TA.XT Plus (Stable Micro Systems, Velká Británie) byla provedena texturní analýza. Ze středu vzorků sýra byl vykrojen válcový vzorek o průměru 40 mm a výšce 15 mm, tento vzorek byl vložen mezi desky analyzátoru textury (průměr sondy 50 mm). Byly provedeny dvě po sobě následující komprese vzorku o 20 % původní výšky s rychlostí $1\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$. Hodnota tvrdosti (N) byla získána jako maximální síla naměřená během kompresního testu a vyhodnocena programem Exponent Lite. Příklad grafického znázornění zátěžové křivky je zobrazen na obrázku 7, přičemž maximální síla F_{max} (N) je považována za ukazatel tvrdosti.



Obrázek 7.: Zátěžová křivka popisující závislost síly, kterou vynakládá penetrující sonda při průniku materiálem za definovaných podmínek, na čase měření.

5.4.3 Stanovení obsahu volných aminokyselin

Před analýzou byly vzorky sýrů lyofilizovány (viz. seznam přístrojů) a skladovány při mrazirenské teplotě (-18 °C). Lyofilizované vzorky byly extrahovány pomocí litnocitronanového pufru a dále zpracovány dle Buňková et al. (2009) [37]. Obsah volných aminokyselin byl analyzován pomocí iontově výměnné kapalinové chromatografie s fotometrickou detekcí. K postkolonové derivatizaci byl využit ninhydrin. V příloze (P II) je tabulka elučního programu, znázorňujícího průběh stanovení pomocí analyzátoru.

Materiál pro stanovení FAA

Chemikálie potřebné pro přípravu litnocitronanového pufru:

- Kyselina citronová, p.a. LACHNER.
- Citronan litný, p.a. ZMBD Chemik s.r.o.
- Chlorid litný, p.a. ZMBD Chemik s.r.o.
- Hydroxid litný, p.a. ZMBD Chemik s.r.o.

Chemikálie potřebné pro příprava ninhydrinu :

- Ninhydrin, pro AAA400, ZMBD Chemik s.r.o.
- Methylcellosolv pro AAA400, ZMBD Chemik s.r.o.
- Hydrintantin pro AAA400, ZMBD Chemik s.r.o.
- Acetátový pufr pro AAA400, ZMBD Chemik s.r.o.

Seznam přístrojů

Lyofylizace

- Analytické váhy A&D GH-200 EC.
- Hlubokomrazicí box MDF-U3286S, SANYO, prodejce Schoeller instruments, ČR, Praha.
- Lyofilizátor ALPHA 1-4 LSC, CHRIST, prodejce LABICOM s.r.o., ČR, Olomouc.

Stanovení obsahu FAA

- Analytické váhy A&D GH-200 EC.
- Laboratorní třepačka LT2.
- Odstředivka EBA 21, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen.
- Odstředivka MIKRO 200R, MIKRO 200 R, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen.
- Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400, Ingos, Praha.

5.4.4 Senzorická analýza

Vyrobené sýry byly v jednotlivých odběrových dnech sensoricky hodnoceny. Dotazník na sensorické hodnocení sýrů je součástí příloh (P I).

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Výsledky a diskuze fáze 1

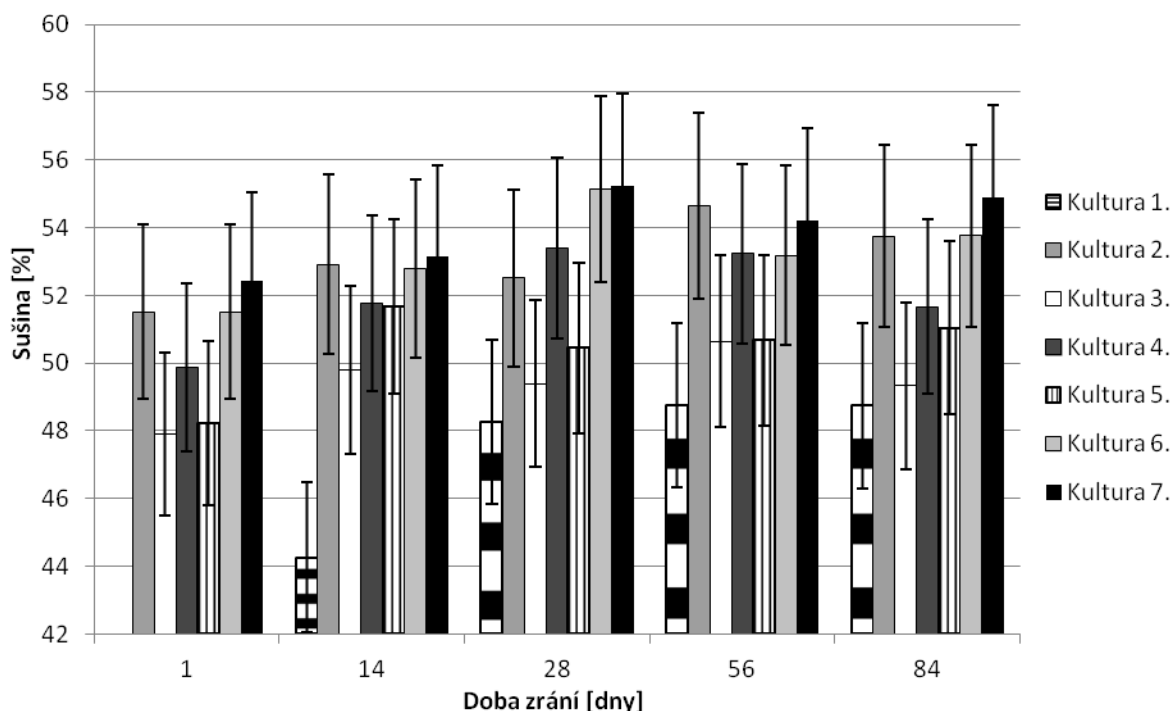
Pomocí optimalizace výroby byl stanoven postup výroby sýrů holandského typu, který je blíže specifikován v kapitole 5.2.1.

V průběhu optimalizace bylo sledováno mimo jiné pH sýrů prokysávajících do druhého dne skladovaných za různých teplotních režimů a to z důvodu získání nejoptimálnějšího prokysání. Polovina vzorků byla uložena do lednice při teplotě 9 °C a zbylá polovina vzorků byla uložena do inkubátoru o teplotě 16 °C. Optimálnějšího prokysání bylo dosaženo v inkubátoru, kde sýry dosahovaly nižšího pH a lépe prokysaly, díky optimální teplotě pro BMK. V inkubátoru dosahovaly sýry při teplotě 16 °C $\text{pH } 5,02 \pm 0,02$, zatím co v lednici při teplotě 9 °C dosahovaly $\text{pH } 5,13 \pm 0,01$. Následně všechny další výroby byly proto uchovávány v inkubátoru.

6.1 Výsledky a diskuze fáze 2

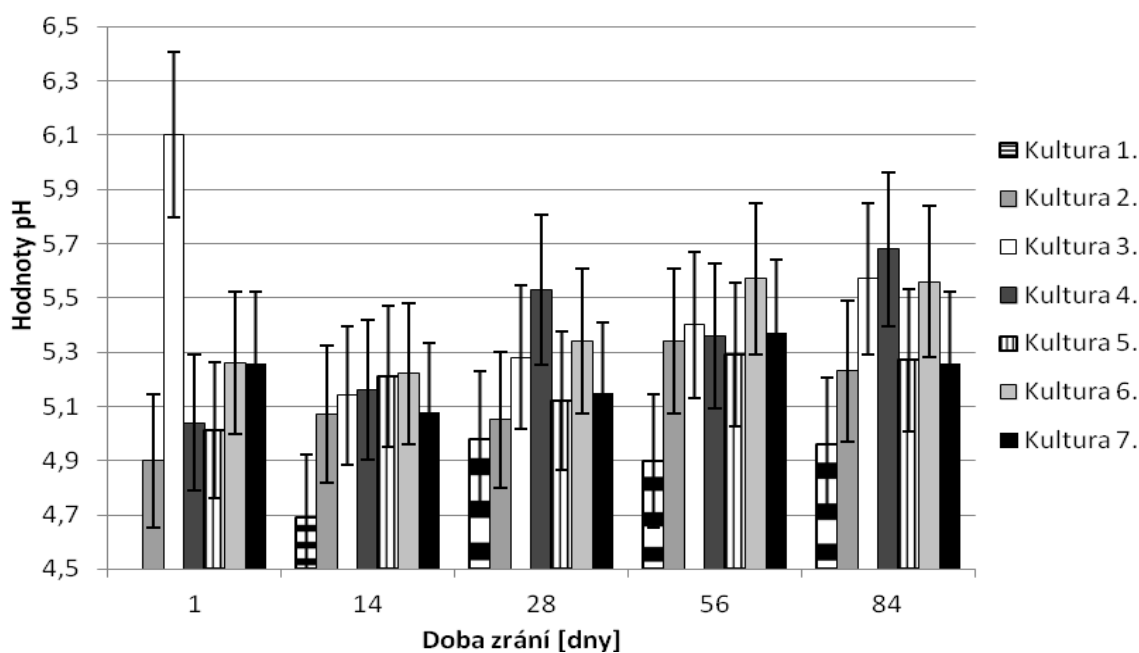
6.1.1 Chemická analýza

Obsah sušiny měl rostoucí tendenci u všech vyrobených sýrů za použití rozdílných kultur, což je v souladu i s jinými autory [1, 7]. Na druhou stranu byly mezi jednotlivými vzorky pozorovány mírné rozdíly v obsahu sušiny. Graf 1 znázorňuje hodnoty obsahu sušiny u testovaných kultur. Nejvyšší hodnoty sušiny byly pozorovány u sedmé šarže v prvním měsíci zrání $55,22 \% \pm 0,56$, kde byla inokulována mezofilní kultura C352 (CHr Hansen, Dánsko). Naopak nejnižší hodnoty sušiny ($44,26 \% \pm 0,30$) byly v případě sýrů inokulovaných smetanovou kulturou Laktoflora® (Milcom a.s., Česká Republika) 14. den zrání. V případě této kultury nebylo realizováno žádné měření v 1. den výroby, z důvodu zničení vzorku.



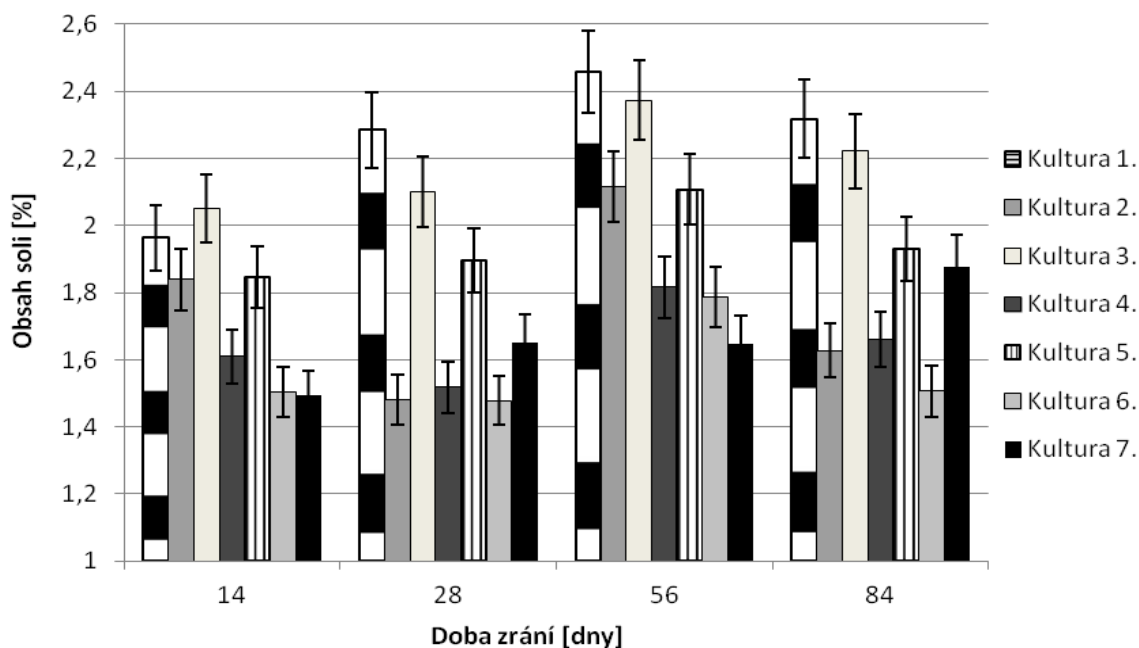
Graf 1.: Obsah sušiny v 1., 14., 28., 56. a 84. dni zrání: 1 – Laktoflora®, 2 – Delvo LL-50B DSL, 3 – Flora Danica, 4 – CH-19, 5 – Delvo Tec DX-33D DSL, 6 – C502, 7 – C352.

Hodnoty pH u jednotlivých šarží vzrůstaly od prokysání až po ukončení experimentu. Graf 2 interpretuje hodnoty pH v závislosti na době zrání pro jednotlivé kultury. Ihned po výrobě (1. odběrový den) byly hodnoty pH nízké v důsledku prokysání BMK. V průběhu zrání docházelo u všech šarží k postupnému nárůstu pH. Postupné zvyšování pH bylo pravděpodobně způsobeno odbouráváním kyseliny mléčné a dále také možnou produkcí látek zásadité povahy [15, 18]. Nejnižších hodnot pH dosahovala smetanová kultura Laktoflora® (Milcom a.s., Česká Republika). Tato kultura nejintenzivněji sýřeninu prokysala a to až na hodnotu pH 4,69 ve 14 dni zrání. Významné prokysání bylo pravděpodobně způsobeno složením kultury (většinovým podílem kyselinotvorných koků).



Graf 2.: Hodnoty pH v 1., 14., 28., 56. a 84. dni zrání: 1 – Laktoflora®, 2 – Delvo LL-50B DSL, 3 – Flora Danica, 4 – CH-19, 5 – Delvo Tec DX-33D DSL, 6 – C502, 7 – C352.

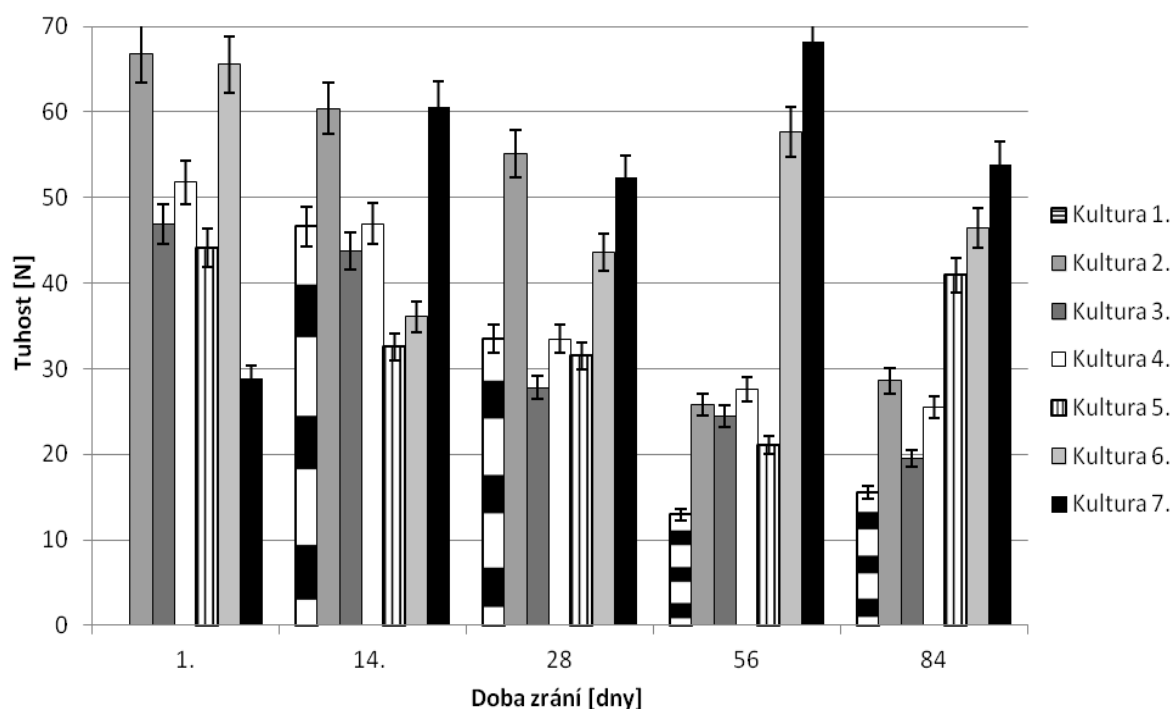
Obsah soli měl u všech kultur obdobný průběh, přičemž počáteční hodnoty byly nízké pravděpodobně z důvodu nedostatečné distribuce soli v celé hmotě sýra [4, 7]. Graf 3 interpretuje obsah soli v závislosti na době zrání pro jednotlivé kultury. S postupným zráním se disociace soli v sýru zvyšovala až do relativně ustáleného stavu v 84. dni zrání. Nejvyšších výkyvů v obsahu soli vykazovala druhá kultura (Delvo LL-50B DSL, DSM Food Specialities, Nizozemsko). Tato nevyrovnanost byla pravděpodobně zapříčiněna nedostatečnou homogenizací vzorku. Nejvyššího obsahu soli dosahovala smetanová kultura Laktoflora® (Milcom a.s., Česká Republika), tento vysoký obsah soli má pravděpodobně souvislost s vysokým obsahem vlhkosti u těchto vzorků. Díky vysoké vlhkosti, které vykazovaly sýry s použitím smetanové kultury, sůl pravděpodobně lépe difundovala do sýrů během solení a docházelo také k rovnoměrnější disociaci oproti ostatním vzorkům.



Graf 3.: Obsah soli v 1., 14., 28., 56. a 84. dni zrání: 1 – Laktoflora®, 2 – Delvo LL-50B DSL, 3 – Flora Danica, 4 – CH-19, 5 – Delvo Tec DX-33D DSL, 6 – C502, 7 – C352.

6.1.2 Analýza texturních vlastností

Výsledky měření tvrdosti popisuje graf 4, ze kterého lze vidět, že tuhost v závislosti na době zrání klesala [8, 19]. Nejvyrovnanějšího poklesu tuhosti dosahovaly třetí (Flora Danica, CHr Hansen, Dánsko) a čtvrtá kultura (CHN-19, CHr Hansen, Dánsko), což může svědčit o vyrovnaném procesu zrání. Sýry vyrobené s kulturami v šesté (C502, CHr Hansen, Dánsko) a sedmé výrobě (C352, CHr Hansen, Dánsko) vykazovaly v 56. den zrání zvýšenou tuhost. Tato tuhost je pravděpodobně způsobena současným zvyšujícím se obsahem sušiny během zrání [2].

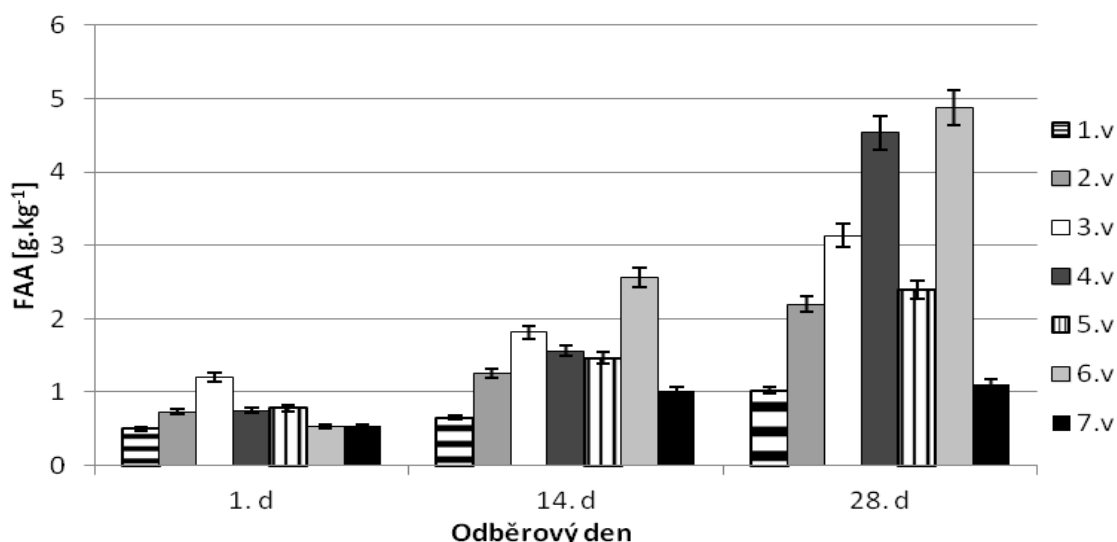


Graf 4.: Tuhost v 1., 14., 28., 56. a 84. dni zrání: 1 – Laktoflora®, 2 – Delvo LL-50B DSL, 3 – Flora Danica, 4 – CH-19, 5 – Delvo Tec DX-33D DSL, 6 – C502, 7 – C352.

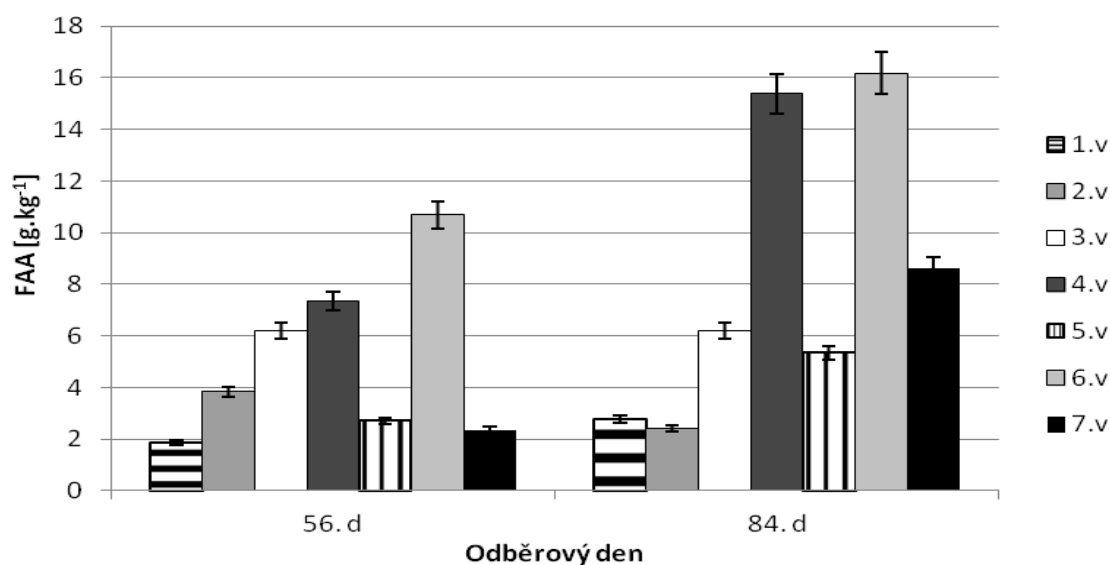
6.1.3 Stanovení obsahu volných aminokyselin

Iontově výměnnou kapalinovou chromatografií s postkolonovou ninhydrinovou derivatizací a fotometrickou detekcí byly stanoveny hodnoty celkových obsahů FAA, které jsou znázorněny v následujících grafech (5. a 6.), přičemž graf 5 zobrazuje celkový obsah FAA v 1., 14. a 28. dni zrání a graf 6 popisuje celkový obsah FAA v 56. a 84. dni zrání. Analýzou obsahů FAA se potvrdil systém změn v průběhu zrání, který nabýval rostoucí tendence celkového obsahu FAA v závislosti na době zrání potvrzující dostatečnou biochemickou aktivitu přítomných BMK. V průběhu skladovacího experimentu se obsahy FAA zvyšovaly v rámci všech kultur, což odpovídá významné proteolytické aktivitě exopeptidáz, které jsou součástí enzymatického aparátu BMK [2, 14]. Nejnižšího celkového obsahu FAA v průběhu celého experimentu dosahovala smetanová zákyslová kultura. Tento výsledek byl očekáván, z důvodu přítomnosti zejména kyselinotvorných koků a malého zastoupení aromatických bakterií. Tvzení je také v souladu s nízkými hodnotami pH po prokysání vzorků sýrů (pH 4,69). Z tohoto důvodu je vhodnější smetanovou kulturu použít pro výrobu přírodních sýrů za současného přiměřeného použití doplňkové kultury (z důvodu včasného dosažení požadovaných organoleptických vlastností) a ne pouze jako

samostatnou zákysovou kulturu. Naopak nejvyšších obsahů volných aminokyselin v průběhu zrání dosahovaly kultury CHN-19 (CHr Hansen, Dánsko) a C502 (CHr Hansen, Dánsko). Celkové obsahy FAA u obou výše zmíněných kultur byly významně vyšší ve srovnání s ostatními použitými kulturami a to zejména 28. a 84. den od výroby. Maximální hodnota celkového obsahu FAA ($16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ čerstvé hmoty) byla detekována u kultury C502 (CHr Hansen, Dánsko) v 84. den zrání. Zajímavý vývoj celkového obsahu FAA vykazovala také kultura Flora Danica (CHr Hansen, Dánsko), u které byl v prvním odběrovém dnu pozorován nejvyšší obsah FAA. Intenzivní primární proteolýza se u této kultury projevovala i během dalších dvou měsíců zrání (do 56. dne zrání). Ze zjištěných výsledků je tedy možné usuzovat, že v případě kultur CHN-19, C502 a Flora Danica může docházet během zrání k rozsáhlé konverzi FAA aktivitou enzymatického aparátu ČMK na sensoricky aktivní látky, které jsou důležité pro vývoj chutě a vůně výrobku [16].



Graf 5.: Celkový obsah volných aminokyselin v 1., 14. a 28. dni zrání: 1 – Laktoflora®, 2 – Delvo LL-50B DSL, 3 – Flora Danica, 4 – CH-19, 5 – Delvo Tec DX-33D DSL, 6 – C502, 7 – C352.



Graf 6.: Celkový obsah volných aminokyselin v 56. a 84. dni zrání: 1 – Laktoflora®, 2 – Delvo LL-50B DSL, 3 – Flora Danica, 4 – CH-19, 5 – Delvo Tec DX-33D DSL, 6 – C502, 7 – C352.

6.1.4 Senzorická analýza

Součástí experimentu 2 byla také senzorická analýza, dotazník je součástí přílohy diplomové práce (P I). Senzorickou analýzou byla prostřednictvím panelu hodnotitelů vybrána kultura C502 (CHr Hansen, Dánsko) jako nejvhodnější pro další experimentální použití. Tento výsledek také podporuje analýza celkového obsahu volných aminokyselin, ve které tato kultura disponuje vysokými obsahy volných aminokyselin jako prekurzorů řady senzoricky aktivních látek. Obdobné vlastnosti měly i jiné kultury (Flora Danica a CHN-19). Z důvodu přímého přidavku kultury před sýřením (bez předchozí přípravy provozního zákysu) a mírně výraznějších chuťových vlastností však byla pro další experimentální část použita kultura C502.

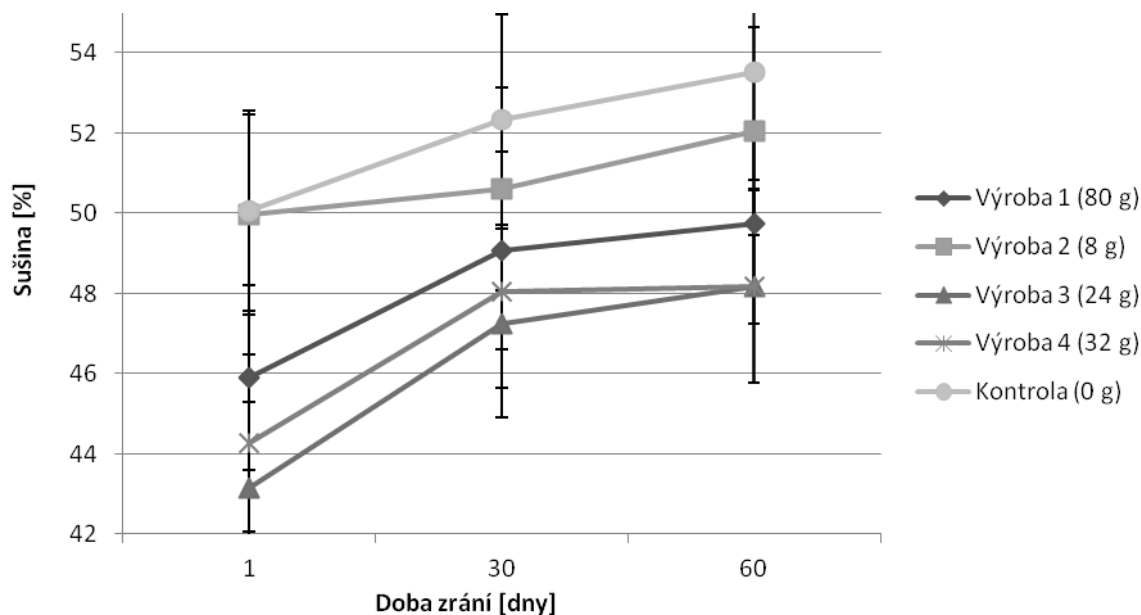
6.2 Výsledky a diskuze fáze 3

V této fázi byly vyráběny sýry standardizovaným postupem s využitím kultury C502 (CHr Hansen, Dánsko) vybrané na základě nejoptimálnějších vlastností v předešlé fázi 2.

6.2.1 Chemická analýza

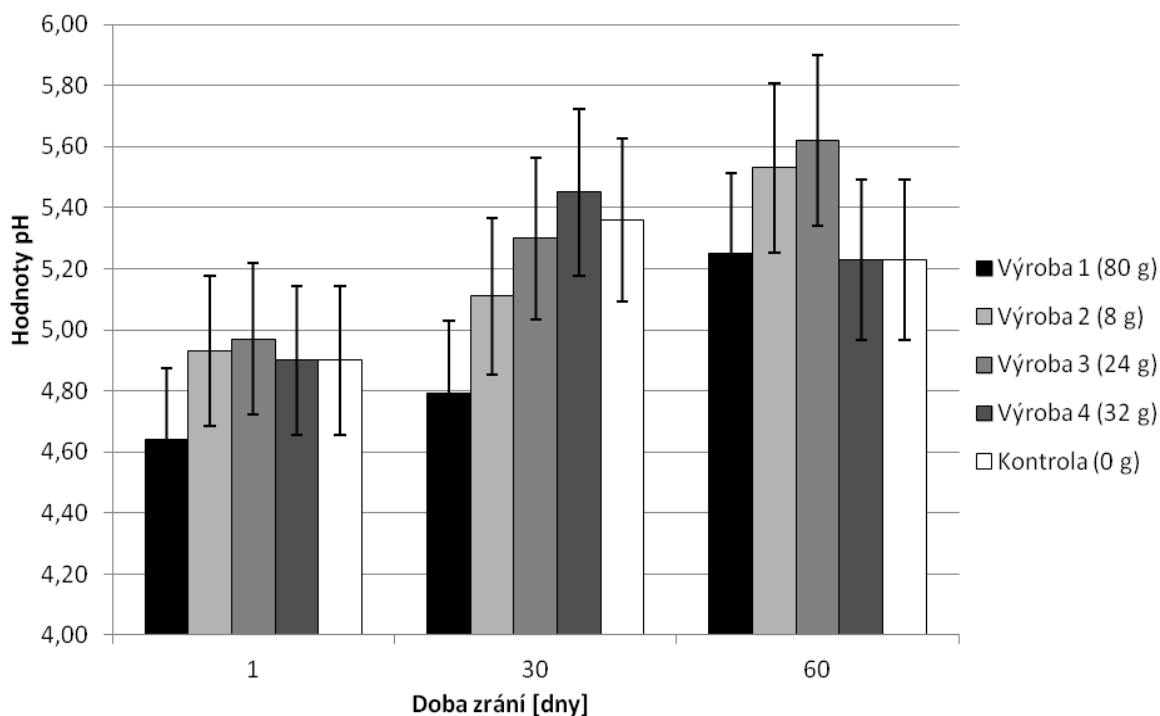
Příložený graf 7 ilustruje závislost obsahu sušiny na průběhu zrání vyrobených sýrů. Sušina vyrobených sýrů vykazuje rostoucí tendenci v průběhu zrání u všech výrob s aplika-

cí lněné moučky. Naproti tomu nejvyšších obsahů sušiny dosahovala kontrolní výroba, která neobsahovala přídavek lněné moučky. Proto lze uvažovat, že přídavek lněné moučky do sýra, způsobuje zadržování vlhkosti, což bylo také vizuálně patrné bobtnáním částic lněné moučky. Z grafu lze pozorovat, že sušina se u sýrů s přídavkem lněné moučky do mléka před sýřením zvyšovala přímo úměrně s přídavkem lněné moučky (sestupně od nejvyššího přídavku lněné moučky: výroba 1., 4. a 3.).



Graf 7.: Obsah sušiny v 1., 30. a 60. dni zrání.

Graf 8 ilustruje hodnoty pH kdy v první den analýzy dosahovaly sýry nejnižších hodnot pH v důsledku prokysání BMK. Hodnoty pH sýrů tedy vykazovaly obdobný trend jako v předešlých sledovaných fázích. Další analýzou ve 30. a 60. dni zrání dosahovalo pH vyrobených sýrů vyšších hodnot v důsledku metabolismu kyseliny mléčné za vzniku rozkladných produktů. Při porovnání výrob, které byly vyrobeny paralelně vedle sebe a to s přídavkem 32 g lněné moučky do mléka před sýřením (výroba 4) a kontrolní výroby (bez přídavku lněné moučky) byly zjištěny srovnatelné hodnoty pH. Z tohoto důvodu lze říci, že přídavek lněné moučky nemá zásadní vliv na změny pH v procesu zrání sýra. Toto lze brát jako velmi pozitivní výsledek vzhledem k biochemickým a mikrobiálním procesům, které se v sýru odehrávají během zrání sýrů a mohly by být ovlivněny hodnotami pH.

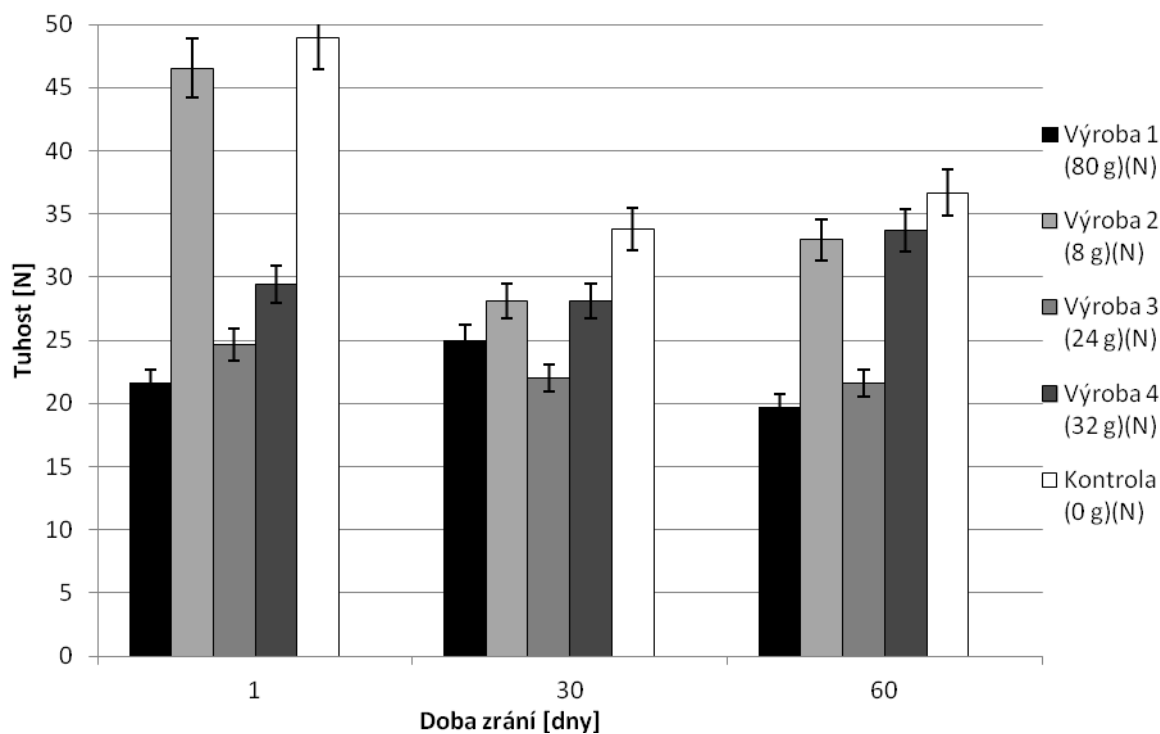


Graf 8.: Hodnoty pH v 1., 30. a 60. dni zrání.

Obsah soli v průběhu zrání vyrobených sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou vykazoval velice vyrovnaný trend. Nejnižšího obsahu soli dosahovala kontrolní výroba bez přídatku lněné moučky ($1,48 \pm 0,01$). Proto lze uvažovat, že sýry s přídatkem lněné moučky měly větší schopnost absorpce solného roztoku a tím zvýšit celkový obsah soli ($1,91 \pm 0,05$ pro čtvrtou výrobu s přídatkem 32 g lněné moučky).

6.2.2 Analýza texturních vlastností

Výsledky měření tvrdosti ilustruje graf 9, ze kterého vyplývá, že tuhost v závislosti na době zrání klesala a to pravděpodobně v důsledku rozsáhlé proteolýzy [8, 19]. Na druhou stranu byly pozorovány výrazné rozdíly pevnosti sýrů v závislosti na použitém množství lněné moučky. Přičemž kontrolní výroba vykazovala nejvyšší tuhost oproti sýrům s přídatkem lněné moučky. Nižší pevnost byla pravděpodobně v důsledku vyššího obsahu vlhkosti, která byla vázána na lněnou moučku. Mírné zvýšení pevnosti v 60. dni bylo pravděpodobně v důsledku zvýšení obsahu sušiny.



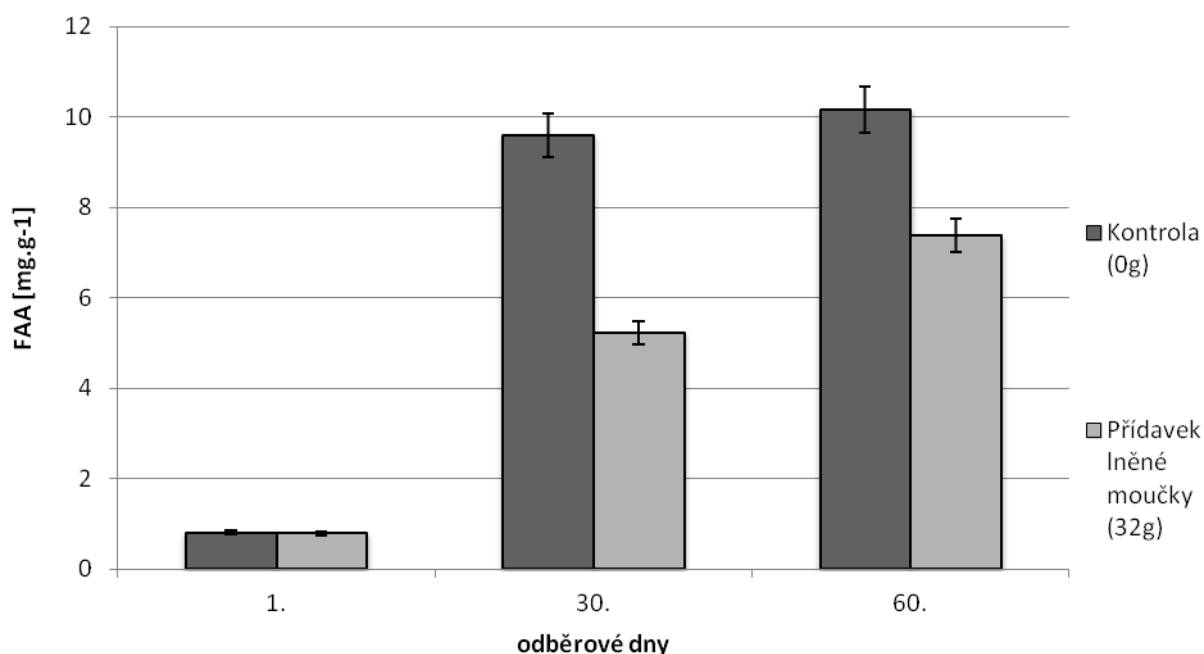
Graf 9.: Tuhost v 1., 30. a 60. dni zrání.

6.2.3 Stanovení obsahu volných aminokyselin

Graf 10 znázorňuje hodnoty celkových obsahů volných aminokyselin u vzorků s přídavkem 24 g lněné moučky a kontrolních vzorků (bez přídavku lněné moučky) v průběhu jejich zrání. Analýzou obsahů FAA se potvrdil systém změn v průběhu zrání, který nabýval rostoucí tendence celkového obsahu FAA v závislosti na době zrání. V průběhu skladovacího experimentu se obsahy FAA zvyšovaly v rámci obou výrob (jak kontrolní tak také s přídavkem lněné moučky), což odpovídá proteolytické aktivitě exopeptidáz, které jsou součástí enzymatického aparátu BMK [4, 7]. Přesto byly pozorovány výrazné rozdíly mezi vzorky. Nižších hodnot celkového obsahu FAA v průběhu celého experimentu dosahovala výroba s přídavkem 32 g lněné moučky. Tento výsledek může znamenat, že lněná moučka brzdí či dokonce inhibuje proteolýzu při zrání sýrů. Tento fakt lze pozorovat již po 30 dnech zrání, kdy kontrolní vzorek (bez přídavku lněné moučky) dosahoval téměř dvojnásobných hodnot v obsahu celkového množství aminokyselin ve srovnání s přídavkem lněné moučky během výroby sýrů. V průběhu dalšího zrání došlo k navýšení celkového obsahu v případě vzorků s přídavkem lněné moučky, avšak rozdíl mezi kontrolou byl stále značný.

Při porovnání výrob za použití kultury C502 ve fázi 2 a 3 (v případě kontroly) byly detekovány obdobné hodnoty celkového množství FAA. Intenzita produkce FAA v rámci vzorků z různých šarží potvrzuje srovnatelné podmínky v průběhu celého experimentu a tedy i dobře optimalizovanou metodu výroby přírodních sýrů v podmínkách technologické laboratoře.

Dalším sledováním jakosti modelových vzorků v závislosti na průběhu a intenzitě procesů zrání by mohly zjištěné výsledky predikovat chování kultury v průmyslové výrobě a dále by bylo možné navrhnout modifikace technologie pro dosažení produktu s požadovanými parametry.



Graf 10.: Celkový obsah volných aminokyselin v 1., 30. a 60. dni zrání.

6.2.4 Senzorická analýza

Senzorická analýza provedená u vzorků sýrů s přídavkem lněné moučky vykazovala reziduální hořkou chuť. Ta však nebyla naprosto nepřijatelná v běžně konzumované zralosti sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou (zralost okolo 4 až 6 týdnů). V dalších experimentech by bylo vhodné snížit množství přídavku lněné moučky do mléka před sýřením na 16, nebo 8 g. Naproti tomu by bylo žádoucí sledovat antioxidační aktivitu v sýrech vyrobených s přídavkem lněné moučky a tím kvantifikovat potenciální benefit pro konzumenta.

ZÁVĚR

Předložená diplomová práce se zabývala vlivem přídavku biologicky aktivních látek na jakost modelového systému přírodního sýra. Cíle práce lze rozdělit na tři fáze: optimalizace výroby přírodních sýrů holandského typu v podmínkách technologické laboratoře, výroba přírodních sýrů s přídavkem různých startérových kultur za účelem výběru vhodné kultury pro aplikaci lněné moučky do zrajícího sýra a v neposlední řadě výroba přírodních sýrů s přídavkem lněné moučky za použití vybrané startérové kultury.

- Fáze 1 byla zásadní pro celý experiment. V této fázi byl standardizován celý postup výroby sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou. Zahrnovala 5 výrob sýrů, během kterých byl celý postup výroby optimalizován.
- Fáze 2 zahrnovala výrobu sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou standardizovaným postupem výroby, za použití různých kyselých kultur. Úkolem této fáze bylo vyselektovat nejvhodnější kulturu pro další použití ve fázi 3. Selektovány byly kultury na základě obsahu soli, sušiny, FAA, hodnotách pH, texturních vlastnostech a sensorické analýzy. S postupným zráním se difúze soli v sýru vyrovnávala až do relativně ustáleného stavu v 84. dni zrání. Obsah sušiny měl rostoucí tendenci u všech vyrobených sýrů. Hodnoty pH se s dobou zrání zvyšovaly v důsledku rozkladu kyseliny mléčné. Tuhost modelových vzorků sýra v závislosti na době zrání klesala. Analýza FAA potvrdila rostoucí intenzitu biochemických procesů, které nastávají v důsledku enzymatického systému BMK v závislosti na době skladování. Na základě nejintenzivnějších biochemických změn pozorovaných prostřednictvím celkového obsahu FAA lze doporučit kultury CHN-19 (CHr Hansen, Dánsko), C502 (CHr Hansen, Dánsko) a Flora Danica (CHr Hansen, Dánsko) pro další experimentální výroby sýrů s cílem dosažení požadované výrazné chuti a vůně. Naopak smetanovou kyselou kulturu Laktoflora® (Milcom a.s., Česká republika) je k potřebnému získání obdobných organoleptických vlastností (ve stejném časovém období) nutné doplnit o doplňkovou aromatickou kulturu. Pro fázi 3 byla vybrána kultura C502 (CHr Hansen, Dánsko). Tato kultura byla také sensoricky posouzena jako nejvhodnější.
- Fáze 3 popisuje vliv přídavku lněné moučky na systém modelového vzorku sýra. Opět byly analyzovány tyto parametry: obsah soli, sušiny, FAA, hodnoty pH, tex-

turní vlastnosti a byla provedena senzorická analýza. K hlavním poznatkům patří, že přídavek lněné moučky, má významný vliv na sušinu sýra. Sýry s lněnou moučkou vykazovaly vyšší obsah vlhkosti. Naopak proteolýza vyrobených sýrů dosahovala nižších hodnot, nežli kontrolní sýry bez přídavku.

Na základě zjištěných poznatků lze doporučit další sledování aktivity kultur CHN-19, C502 a také Flora Danica v modelových vzorcích přírodních sýrů. Dále lze doporučit snížení množství aplikované lněné moučky a to v důsledku vysoké vlhkosti sýrů a možnému vzniku hořké chuti během zrání.

Práce na předloženém experimentu byla pro mne velice zajímavá a poučná. Věřím, že poznatky které jsem získala, mi pomohou v mé budoucí profesi.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] FOX, P.F., McSWEENEY, P.L.H., COGAN, T.M. GUINEE, T.P. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Volume 1 General Aspects*. 3rd edition. London: Elsevier Academia Press. 2004. ISBN0-1226-3652-X.
- [2] FOX, P. F., GUINEE, T.P., COGAN, T.M., McSWEENEY, P.L.H. *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg: 2000. 638 p. ISBN 0-83-42-1260-9.
- [3] Hui, Y.H. (1993). *Dairy Science and Technology Handbook*, Volumes 1-3.. John Wiley & Sons.
- [4] HRABĚ J., BŘEZINA P., VALÁŠEK P., *Technologie výroby potravin živočišného původu*, UTB 2006, ISBN 80-7318-405-2.
- [5] WONG P., *Fundamentals of Dairy Chemistry*, Chaptan & Hall Food Science Book, 1999.
- [6] [online] [cit.2012-10-15] <http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0029_mlekarenska_tecnologie/distančni_text/M0029_mlekarenska_tecnologie_distančni_text.pdf>.
- [7] ZADRAŽIL K., *Mlékařství*, Česká zemědělská univerzita v Praze, 2002, ISBN 80-86642-15-1.
- [8] KADLEC P., MELZUCH K., VOLDŘICH M., *Co byste měli vědět o výrobě potravin*, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2009, ISBN 978-80-7418-051-4.
- [9] Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje, *Sbírka zákonů*, 2003.
- [10] [online] [cit.2012-10-24] *Potravinářská mikrobiologie I.*, Distanční text, 2007. 107 s. Dostupné z WWW: <<http://utb.cepac.cz>>.
- [11] CHANDAN, RAMESH C., KILARA, ARUN, SHAH, NAGENDRAP., *Dairy Processing and Quality Assurance.. John Wiley & Sons, 2008*.
- [12] TAMINE, ADNAN Y., *Milk Processing and Quality Managemen*, John Wiley & Sons, (2009).
- [13] LAW, BARRY A., TAMIME, A.Y. (2010). *Technology of Cheesemaking (2nd Edition)*.. John Wiley & Sons.

- [14] McSWEENEY, P.L.H., *Biochemistry of cheese ripening*, Department of Food and Nutritional Sciences, University College, Cork, Ireland, 2004, International Journal of Dairy Technology.
- [15] MARILLEY L., CASEY M.G., *Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains*, Swiss Federal Dairy Research Station, Schwarzenburgstr. 161, Liebefeld, Bern CH-3003, Switzerland, 2003 Elsevier.
- [16] COLLINSA Y. F., McSWEENEY P. L. H, WILKINSONC M. G., *Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge*, 2003 Elsevier.
- [17] CHRISTENSEN J. E., DUDLEY E. G., PEDERSON J. A., STELE J. L., *Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria*, 1999 Kluwer Academic Publishers.
- [18] McSWEENEYP. L. H., SOUSA M. J., *Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review*, 1999, Department of Food Science and Technology.
- [19] SOUSA M. J., ARDÖ Y., McSWEENEY P. L. H., *Advances in the study of proteolysis duringcheese ripening*, 2001, International Dairy Journal.
- [20] YVON M., RIJNEN L., *Cheese flavour formation by amino acid catabolism*, 2001, International Dairy Journal.
- [21] ZOEBELEIN, HANS (2001). Dictionary of Renewable Resources (2nd, Revised and Enlarged Edition).. John Wiley & Sons.
- [22] [online] [cit.2013-04-03] Dostupné z WWW: <<http://www.hlubocky.eu/wp-content/uploads/len-sety.jpg>>.
- [23] HERNANDEZ, ERNESTO M., HOSOKAWA, MASASHI (2011). Omega-3 Oils - Applications in Functional Foods.. null.
- [24] BUŇKA F., NOVÁK V., KADIDLOVÁ H., *Ekonomika výživy a výživová politika I.*, Zlín 2006, ISBN 80-7318-429-X
- [25] LEWIS, RICHARD J., Sr. (2007). Hawley's Condensed Chemical Dictionary (15th Edition).. John Wiley & Sons.
- [26] Bockisch, Michael (1998). Fats and Oils Handbook.. null.

- [27] FIRESTONE D., (2006). Physical and Chemical Characteristics of Oils, Fats, and Waxes (2nd Edition).. null.
- [28] AKOH,CASIMIR C., LAI, OI-MING (2005). Healthful Lipids.. null.
- [29] PRUGAR J. A KOLEKTIV, *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Praha, 2008.
- [30] DECKER E. A., ELIAS R. J., McClements D. J., *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications*, Volume 2 - Management in Different Industry Sectors, 2010, Woodhead Publishing.
- [31] POKORNÝ J., YANISHLIEVA N., GORDON M., *Antioxidants in Food – Practical Applications*, 2001, Woodhead Publishing.
- [32] F. SAURA-CALIXTO, *Dietary Fiber as a Carrier of Dietary Antioxidants: An Essential Physiological Function*, J. Agric. Food Chem., 2011.
- [33] MUELLER K., EISNER P., YOSHIE-STARK Y., NAKADA R., KIRCHHOFF E., *Functional Properties and Chemical Composition of Fractionated Brown and Yellow Linsees Meal (Linum usitatissimum L.)*, 2010, Journal of Food Engineering.
- [34] KOPÁČEK J., *Současné sýrařství ve světě a v České republice*, Českomoravský svaz mlékárenský, Celostátní přehlídka sýrů, Praha 2012.
- [35] ČSN EN ISO 5534, *Sýry a tavené sýry – Stanovení obsahu sušiny (Referenční metoda)*, Český normalizační institut, Praha, 2005.
- [36] INDRA, Z., MIZERA, J. *Chemické kontrolní metody pro obor zpracování mléka*. 1. vyd., 1992. 273.
- [37] BUŇKOVÁ, L., BUŇKA, F., HLOBILOVÁ, M., VAŇÁTKOVÁ, Z., NOVÁKOVÁ, D., DRÁB, V. Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*. *European Food Research and Technology*. 2009, 229. 533-538.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

FAA Obsah volných aminokyselin.

SEZNAM OBRÁZKŮ

| | |
|---|----|
| Obrázek 1.: <i>Len setý (Linum usitatissimum L.) [22].</i> | 24 |
| Obrázek 2.: <i>Metabolické dráhy omega-3 a omega-6 mastné kyseliny [23].</i> | 26 |
| Obrázek 3.: <i>Tloušťka vrstvy vosku při 50 °C.</i> | 38 |
| Obrázek 4.: <i>Tloušťka vrstvy vosku při 55 °C.</i> | 38 |
| Obrázek 5.: <i>Tloušťka vrstvy vosku při 60 °C.</i> | 39 |
| Obrázek 6.: <i>Tloušťka vrstvy vosku při 65 °C.</i> | 39 |
| Obrázek 7.: <i>Zátěžová křivka popisující závislost síly, kterou vynakládá penetrující sonda při průniku materiálem za definovaných podmínek, na čase měření.</i> | 44 |

SEZNAM GRAFŮ

| | |
|---|----|
| Graf 1.: <i>Obsah sušiny v 1., 14., 28., 56. a 84. dni zrání: 1 – Laktoflora®</i> , 2 – Delvo LL-50B DSL, 3 – Flora Danica, 4 – CH-19, 5 – Delvo Tec DX-33D DSL, 6 – C502, 7 – C352..... | 47 |
| Graf 2.: <i>Hodnoty pH v 1., 14., 28., 56. a 84. dni zrání: 1 – Laktoflora®</i> , 2 – Delvo LL-50B DSL, 3 – Flora Danica, 4 – CH-19, 5 – Delvo Tec DX-33D DSL, 6 – C502, 7 – C352..... | 48 |
| Graf 3.: <i>Obsah soli v 1., 14., 28., 56. a 84. dni zrání: 1 – Laktoflora®</i> , 2 – Delvo LL-50B DSL, 3 – Flora Danica, 4 – CH-19, 5 – Delvo Tec DX-33D DSL, 6 – C502, 7 – C352..... | 49 |
| Graf 4.: <i>Tuhost v 1., 14., 28., 56. a 84. dni zrání: 1 – Laktoflora®</i> , 2 – Delvo LL-50B DSL, 3 – Flora Danica, 4 – CH-19, 5 – Delvo Tec DX-33D DSL, 6 – C502, 7 – C352. | 50 |
| Graf 5.: <i>Celkový obsah volných aminokyselin v 1., 14. a 28. dni zrání: 1 – Laktoflora®</i> , 2 – Delvo LL-50B DSL, 3 – Flora Danica, 4 – CH-19, 5 – Delvo Tec DX-33D DSL, 6 – C502, 7 – C352. | 51 |
| Graf 6.: <i>Celkový obsah volných aminokyselin v 56. a 84. dni zrání: 1 – Laktoflora®</i> , 2 – Delvo LL-50B DSL, 3 – Flora Danica, 4 – CH-19, 5 – Delvo Tec DX-33D DSL, 6 – C502, 7 – C352..... | 52 |
| Graf 7.: <i>Obsah sušiny v 1., 30. a 60. dni zrání.</i> | 53 |
| Graf 8.: <i>Hodnoty pH v 1., 30. a 60. dni zrání.</i> | 54 |
| Graf 9.: <i>Tuhost v 1., 30. a 60. dni zrání.</i> | 55 |
| Graf 10.: <i>Celkový obsah volných aminokyselin v 1., 30. a 60. dni zrání.</i> | 56 |

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Dotazník na sensorické hodnocení sýrů

Příloha P II: Eluční program FAA

PŘÍLOHA P I: DOTAZNÍK NA SENZORICKÉ HODNOCENÍ SÝRŮ

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Dotazník na sensorické hodnocení sýrů

Jméno a příjmení:

Podpis posuzovatele:

Datum:

Hodina:

ÚKOL 1: Ohodnoťte předložené vzorky sýrů podle následujících stupnic

| | VZHLED | POPIS |
|---|---------------|---|
| 1 | vynikající | Vzhled pravidelný bez nerovností, homogenní na celém řezu. |
| 2 | výborný | Nepatrné nerovnosti v řezu, jednotná a homogenní struktura. |
| 3 | velmi dobrý | Mírné nerovnosti v řezu, celistvá struktura. |
| 4 | dobrá | Výskyt drobných trhlinek, nepravidelná struktura. |
| 5 | méně dobrý | Mírná nehomogenita ve struktuře sýra, výskyt trhlin. |
| 6 | nedobrá | Mírné deformace tvaru sýra s výskytem trhlin. Nehomogenní struktura. |
| 7 | nepřijatelný | Povrch silně deformovaný, nepravidelný s výskytem trhlin. V těště silná mramorovitost. |

| | BARVA |
|---|-------------------|
| 1 | světlá až bílá |
| 2 | smetanově krémová |
| 3 | nažloutlá |
| 4 | žlutá |
| 5 | okrová |
| 6 | karamelová |
| 7 | tmavě karamelová. |

| | KONZISTENCE | POPIS |
|---|--------------------|---|
| 1 | vynikající | Těsto sýra vláčné, mírně roztíratelné. Výskyt malých, hladkých ok. |
| 2 | výborná | Těsto vláčné až roztíratelné. Větší počet typických ok. |
| 3 | velmi dobrá | Těsto jemně tužší, měkčí. |
| 4 | dobrá | Konzistence mírně tužší, mírně měkčí. |
| 5 | méně dobrá | Konzistence tužší, měkčí. |
| 6 | nedobrá | Konzistence méně celistvá, nehomogenní, tuhá, měkká až mazlavá |
| 7 | nedostatečná | Tuhá, gumovitá konzistence. Případná drobivost, výskyt syrovátkových hnízd. |

| | TVRDOST |
|---|----------------|
| 1 | tvrdý |
| 2 | tvrdší |
| 3 | pevný |
| 4 | měkčí |
| 5 | měkký |
| 6 | mazlavý |
| 7 | rozbředlý |

| | CHUŤ A VŮNĚ | POPIS |
|---|------------------------|--|
| 1 | vynikající | Odpovídající použité surovině, bez cizích příchutí a pachů. Výrobek s typickou sýrovou chutí a vůní. |
| 2 | výborná | Odpovídající použité surovině s nepatrnými odchylkami od vynikající, bez cizích příchutí a pachů. |
| 3 | velmi dobrá | Výrobek s velmi mírnými odlišnostmi v chuti a vůni. Bez cizích příchutí a pachů. |
| 4 | dobrá | Výrobek s mírnými odlišnostmi v chuti a vůni. |
| 5 | méně dobrá | Výrobek s většími odlišnostmi v chuti a vůni. Možná přítomnost cizích pachů či příchutí. |
| 6 | nedobrá | Výrobek s velkými odlišnostmi v chuti a vůni. S přítomností cizích pachů a příchutí. |
| 7 | nepřijatelná | Nepřijatelný výrobek s výraznými odlišnostmi v chuti a vůni s netypickým aroma. S přítomností cizích pachů a příchutí. |

| | OFF FLAVOUR | POPIS |
|---|------------------------|---|
| 1 | neznatelné | Odpovídající použité surovině, bez cizích příchutí a pachů. Výrobek s typickou sýrovou chutí a vůní. |
| 2 | znatelné | Odpovídající použité surovině s nepatrnými odchylkami, bez cizích příchutí a pachů. |
| 3 | rozeznatelné | Výrobek s velmi mírnými odlišnostmi v chuti a vůni. Bez cizích příchutí a pachů. |
| 4 | akceptovatelné | Výrobek s mírnými odlišnostmi v chuti a vůni. |
| 5 | méně přijatelné | Výrobek s většími odlišnostmi v chuti a vůni. Možná přítomnost cizích pachů či příchutí. |
| 6 | nedobré | Výrobek s velkými odlišnostmi. S přítomností cizího aroma. |
| 7 | nepřijatelné | Nepřijatelný výrobek s výraznými odlišnostmi v chuti a vůni s netypickým aroma. |

PŘÍLOHA P II: ELUČNÍ PROGRAM FAA

Report

1

24.4.2013

14:40:05

Program Name

Program Desc.

| Time [min] | Column T[°C] | Buffer Nr. | AA Command | Note | State | Duration [min] |
|------------|--------------|------------|------------|--------|---------|----------------|
| 0.00 | 40 | 1 | Inject | 2,85 | Running | 3.00 |
| 3.00 | 40 | 2 | Zero | | Waiting | 3.00 |
| 6.00 | 40 | 2 | None | 2,95 | Waiting | 25.00 |
| 31.00 | 40 | 2 | None | | Waiting | 16.00 |
| 47.00 | 65 | 3 | None | 3,50 | Waiting | 18.00 |
| 65.00 | 65 | 3 | None | | Waiting | 19.00 |
| 84.00 | 74 | 4 | None | 4,05 | Waiting | 18.00 |
| 102.00 | 74 | 5 | None | 4,65 | Waiting | 2.00 |
| 104.00 | 74 | 5 | Zero | | Waiting | 23.00 |
| 127.00 | 74 | 5 | None | | Waiting | 33.00 |
| 160.00 | 74 | 5 | StartEquil | | Waiting | 19.00 |
| 179.00 | 74 | 6 | None | 0,3M L | Waiting | 6.00 |
| 185.00 | 74 | 6 | H2O | | Waiting | 12.00 |
| 197.00 | 60 | 1 | None | | Waiting | 0.20 |
| 197.20 | 60 | 1 | H2O | | Waiting | 14.80 |
| 212.00 | 45 | 1 | NHD | | Waiting | 2.00 |
| 214.00 | 60 | 1 | None | | Waiting | 11.00 |
| 225.00 | 40 | 1 | Load | | Waiting | 6.00 |
| 231.00 | 40 | 1 | AcqStop | | Waiting | 0.00 |