

Využití kvasinek rodu *Kluyveromyces lactis* a *Kluyveromyces marxianus* při fermentaci syrovátky

Lukáš Čeman

Bakalářská práce
2018



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lukáš Čeman**

Osobní číslo: **T170075**

Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**

Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Využití kvasinek rodu *Kluyveromyces* při fermentaci syrovátky**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakteristika syrovátky, jejího chemického složení, vzniku a zpracování.
2. Charakteristika alkoholové fermentace se zaměřením na mikroorganismy, které jsou schopny využít laktózu.
3. Možnosti biotechnologického využití syrovátky s důrazem na získávání etanolu.



Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

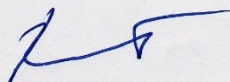
- [1] GIMARÊS, Pedro, M.R., José A. TEIXEIRA a Lucília DOMINGUES. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. *Biotechnology Advances*, 2010, 28, 375384. ISSN 0734-9750.
- [2] ZAFAR, Salman, Mohammad OWAIS, Mohammed SALEEMUDDIN a Sattar HUSAIN. Batch kinetics and modelling of ethanolic fermentation of whey. *International Journal of Food Science and Technology*, 2005, 40, 597604. ISSN 1365-2621.
- [3] ISO, Gonz ales, M.I. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. *Bioresource Technology*, 1996, 57, 111. ISSN 0960-8524.
- [4] PESCUA, Micaela, Graciela Font de VALDEZ a Fernanda MOZZI. Whey-derived valuable products obtained by microbial fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99, 61836196. ISSN 1432-0614.
- [5] ONWULATA, Charles, I. a Peter J. HUTH (eds.). *Whey processing, functionality and health benefits*. Ames: Wiley-Blackwell, 2008. ISBN 978-0-8138-0903-8.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Zuzana Bubelová, Ph.D.**
Ústav technologie potravin


Datum zadání bakalářské práce: **2. února 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce: **4. května 2018**

Ve Zlíně dne 16. února 2018



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Jiří Mlček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ČECHAN LUKÁŠ

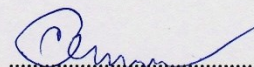
Obor: TRG

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 9.5.2018



.....

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, užíje-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

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

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

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit 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

Cílem této práce je seznámení se s kvasinkami *Kluyveromyces lactis* a *marxianus* a jejich využitím v potravinářském průmyslu se zaměřením na syrovátku.

První část bakalářské práce je zaměřena na syrovátku a její chemické složení, vznik, zpracování a následné využití v potravinářství. Druhá část se zabývá kvasinkami, jejich výskytem, taxonomií a popisem druhu *Kluyveromyces*. Ve třetí části se nachází popis fermentace syrovátky, EMP dráha a alkoholová fermentace. Poslední část bakalářské práce je zaměřena na biotechnologické využití syrovátky.

Klíčová slova: kvasinky, syrovátka, fermentace, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, laktóza

ABSTRACT

The aim of this bachelor thesis is to describe yeast *Kluyveromyces lactis* and *marxianus* and find their use in the food industry, especially in whey products.

The first part of the bachelor thesis is focused on whey and its chemical composition, origin, processing and use in the food industry. The second part describes yeasts, their occurrence, taxonomy and description of the *Kluyveromyces* species. The third part is about whey fermentation, EMP track and alcohol fermentation. The last part of the bachelor thesis is focused on biotechnological use of whey.

Keywords: yeasts, whey, fermentation, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, lactose

Tímto bych rád poděkoval vedoucí mé bakalářské práce paní Ing. Zuzaně Lazárkové, Ph.D. za vedení mé bakalářské práce, cenné rady, velkou trpělivost a konzultace při zpracování této práce.

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

OBSAH

ÚVOD.....	9
1 SYROVÁTKA	10
1.1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ SYROVÁTKY	10
1.1.1 Laktóza.....	11
1.1.1.1 Laktózová intolerance.....	13
1.1.2 Bílkoviny.....	13
1.1.2.1 β -laktoglobulin.....	13
1.1.2.2 α -laktalbumin.....	13
1.1.2.3 Glykomakropeptid.....	14
1.1.2.4 Imunoglobuliny.....	14
1.1.2.5 Sérový albumin.....	14
1.1.2.6 Laktoperoxidáza.....	14
1.1.2.7 Laktoferin.....	14
1.1.3 Tuk.....	15
1.1.4 Minerální a stopové prvky	15
1.1.4.1 Vápník.....	15
1.1.4.2 Sodík.....	15
1.1.4.3 Draslík.....	16
1.1.4.4 Hořčík.....	16
1.1.4.5 Fosfor.....	16
1.1.5 Vitamíny.....	16
1.1.6 Kyseliny.....	17
1.2 VZNIK SYROVÁTKY	17
1.2.1 Kyselá syrovátka.....	18
1.2.2 Sladká syrovátka.....	18
1.3 ZPRACOVÁNÍ SYROVÁTKY.....	19
1.3.1 Předúprava syrovátky.....	19
1.3.2 Demineralizace.....	20
1.3.3 Zahušťování syrovátky.....	20
1.3.4 Sušení syrovátky.....	20
1.4 VYUŽITÍ SYROVÁTKY V POTRAVINÁŘSTVÍ.....	21
1.4.1 Výroba nápojů.....	21
1.4.2 Výroba sýrů.....	22
1.4.2.1 Sýr Ricotta.....	23
1.4.2.2 Sýr norského typu Mysost (Brunost).....	23
1.4.3 Výroba pečiva.....	24
1.4.4 Využití v masném průmyslu.....	25
1.4.5 Využití při výrobě jogurtů a zmrzlin.....	26
1.4.6 Využití v kojenecké výživě.....	27
1.4.7 Produkty s redukováným obsahem tuku.....	27
2 KVASINKY	28

2.1	VÝSKYT KVASINEK	28
2.2	TAXONOMIE KVASINEK	29
2.3	KLUYVEROMYCES SPP.	29
2.3.1	Kluyveromyces lactis	29
2.3.2	Kluyveromyces marxianus.....	30
3	FERMENTACE SYROVÁTKY	31
3.1	EMBDEN-MAYERHOF-PARNASOVA DRÁHA	31
3.1.1	Homofermentativní mléčné kvašení	35
3.1.2	Heterofermentativní mléčné kvašení.....	35
3.2	ALKOHOLOVÁ FERMENTACE	36
4	BIOTECHNOLOGICKÉ VYUŽITÍ SYROVÁTKY.....	38
4.1	ETANOL.....	38
4.2	BIOPLYN.....	39
4.3	BIOMASA.....	39
4.4	POLYSACHARIDY A AMINOKYSELINY	39
4.5	BUTANOL	39
4.6	KYSELINY	40
4.7	JEDLÉ FÓLIE A NÁTĚRY ZE SYROVÁTKOVÝCH PROTEINŮ	40
	ZÁVĚR	42
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	43
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	50
	SEZNAM OBRÁZKŮ	51
	SEZNAM TABULEK.....	52

ÚVOD

Tato bakalářská práce je zaměřena na kvasinky, konkrétně *K. lactis*, *K. marxianus* a na jejich využití při fermentaci syrovátky. Kvasinky hrají podstatnou roli při zkvašování sacharidů a rozkladu organické hmoty, nesou tedy nepostradatelnou roli při fermentaci syrovátky. Syrovátka byla dlouhá léta brána jako odpadní produkt a používala se pouze ke zkrmování hospodářských zvířat, což mělo za následek velkou ekologickou zátěž. Roční světové vyprodukované množství syrovátky činí cca 160 milionů tun. Při výrobě sýra vznikne až 90 % syrovátky, proto je vypustit zbylou syrovátku do kanalizace velice ekonomicky i ekologicky nevýhodné. Nyní můžeme najít syrovátku v mnoha produktech potravinářského průmyslu, o které je velký zájem kvůli pozitivnímu zdravotnímu hledisku. Syrovátka se také využívá při výrobě etanolu, bioplynu nebo jako produkt biomasy a mnoho dalšího.

V posledních letech se zvýšil zájem o použití syrovátky a syrovátkových přípravků při výrobě potravin. Praktická aplikace syrovátkových proteinů je způsobena jejich vysokou nutriční hodnotou, vynikajícími funkčními vlastnostmi a nepřítomností negativní chuti. Optimální využití syrovátkových složek má významný dopad na snížení výrobních nákladů mnoha potravinových produktů. Takové řešení přispívá ke snížení rizika pro životní prostředí. Syrovátkové bílkoviny, díky lepší znalosti o jejich fyzikálně-chemických a biologických vlastnostech, jsou v současné době koncipovány jako hlavní živiny v potravinách a fyziologicky účinných látkách v nových potravinách.

1 SYROVÁTKA

Jedná se o vedlejší produkt v průmyslové výrobě sýrů. Je považována za důležitou znečišťující látku v důsledku své vysoké chemické a biologické spotřebě kyslíku. Syrovátka byla často považována jako odpad nebo používána ke zkrmování, má vysokou nutriční hodnotu, mezi nejvýznamnější živiny patří laktóza, občas se může používat k získání produktu s vyšší nutriční hodnotou. Ekonomická alternativa k transformaci syrovátky na hodnotné produkty je prostřednictvím bakteriálních nebo kvasinkových fermentací. Pomocí fermentačních procesů se mohou buď vyrábět jednotlivé sloučeniny, nebo nové potraviny a nápoje [1,2].

Využití syrovátky v potravinářství lze uplatnit u masa a masných výrobků, výrobků s nízkým obsahem tuku, jogurtů a zmrzliny, sýrů, pekařských výrobků, cukrovinek a pečivu, kojené výživy a syrovátkových nápojů [3].

V EU se pro lidskou výživu využilo v roce 1970 pouze 5 % vyrobené syrovátky a ke zkrmení zbylých 95 %. V roce 2000 byl poměr 50:50, předpokládá se, že pro lidskou výživu se začne využívat až 70 % veškeré vyrobené syrovátky [1].

Syrovátka je produkována ve velkém množství, neboť objem sýra a syrovátky je při výrobě v poměru 1:9. Syrovátku lze rozdělit do dvou skupin, a to buď sladká, nebo kyselá, záleží na typu kazeinového srážení. Kvalita mléka používaná pro výrobu sýrů a technologický postup hraje výraznou roli pro složení a vlastnosti výsledné syrovátky. Aktivita srážecího činidla a startérových kultur během prvotních kroků při výrobě sýrů udává také výslednou kvalitu syrovátky [1].

1.1 Chemické složení syrovátky

Průměrně syrovátka obsahuje okolo 93 % vody a 7 % celkové sušiny, z čehož laktóza je hlavní složkou sušiny (70-80 %). Okolo 10 % ze sušiny syrovátky zaujímají syrovátkové bílkoviny. Nebílkovinné dusíkaté látky a minerální látky jsou obsaženy v sušině v asi 11 %. V poslední řadě obsahuje tuk a vitamíny které, představují 1 %. Vitamíny skupiny B jsou v syrovátce obsaženy nejvíce, konkrétně B₁, B₂ (určuje výslednou barvu syrovátky), B₆, B₁₂ dále obsahuje vitamíny skupiny E, vitamín C, A, vitamín B₉, B₅, B₁₂ a B₇. Riboflavin může být obsažen více v syrovátce než v samotném mléce díky aktivitě bakterií mléčného kvašení, které byly použity při výrobě sýrů. Skoro všechny rozpustné soli a mikroelementy jsou obsaženy v syrovátce, ale také soli, které byly přidány do procesu výroby sýrů. Obsah všech

jednotlivých látek kolísá v závislosti na použitých podmínkách ve výrobním procesu [4]. Srovnání chemického složení sladké a kyselé syrovátky je uvedeno v Tabulkách 1 a 2.

Tab. č. 1: obsah majoritních látek v syrovátce [5]

složka (%)	sladká syrovátka	kyselé syrovátka
čisté bílkoviny	0,5 - 0,8	0,4 - 0,6
nebílkovinný dusík	0,18	0,18
laktóza	4,5 - 5,0	3,8 - 4,3
tuk	0,05 - 0,2	0,05 - 0,2
kyselina mléčná	stopy	do 0,8
popeloviny	0,5	0,8
sušina celkem	6,0 - 6,5	5,0 - 6,0

Tab. č. 2: obsah minoritních látek v syrovátce [5]

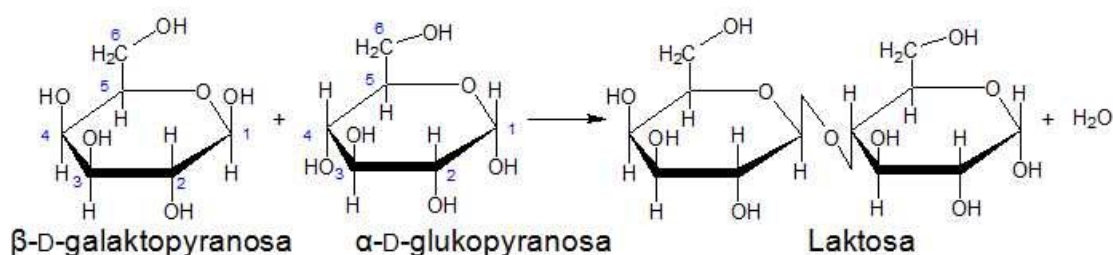
g/l	kyselé syrovátka (pH 4,6 - 4,8)	sladká syrovátka (pH 5,9 - 6,4)
vápník	1,2 - 1,6	0,04 - 0,06
hořčík	0,11	0,08
fosfát	2,0 - 4,5	1,0 - 3,0
citrát	0,2 - 1,0	1,2 - 1,7
laktát	6,0	2,0
sodík	0,4 - 0,5	0,4 - 0,5
draslík	1,4 - 1,6	1,4 - 1,6
chlorid	1,0 - 1,2	1,0 - 1,2

1.1.1 Laktóza

Laktóza je unikátní disacharid a mléko savců je jediným přírodním zdrojem. Koncentrace laktózy v mléce různých savců se značně liší – nejvyšší obsah laktózy se nachází v mléce koňovitých (více než 6 %), zatímco nejnižší v mléce mořských savců (přibližně 1 %). Laktóza hraje významnou roli při správném vývoji novorozenců savců, což je důležitý zdroj energie nezbytný pro činnost takových orgánů, jako je srdce, játra a ledviny. Je charakterizován nízkou sladivostí, kaloricitou a glykemickým indexem. Má dietetické i probiotické vlastnosti a zlepšuje vstřebávání vápníku, fosforu, hořčíku a některých mikroelementů. To vede k lepšímu využití vitamínu D organizmem. Kromě toho stimuluje vývoj užitečné

mikroflóry střev, zvyšuje syntézu mastných kyselin s krátkým řetězcem a podporuje regenerační procesy v sliznici střeva. Laktóza je zdroj galaktózy, který je nezbytný pro správnou funkci centrálního nervového systému. Používá se nejen jako složka čtených potravin, ale také pro výrobu farmaceutických přípravků a krmiva pro zvířata [6,7].

Laktóza (viz Obrázek 1) je redukující disacharid složený z D-galaktózy a D-glukózy spojených beta-1,4-glykosidickou vazbou.



Obr. č. 1: vznik laktózy [8]

Laktóza se může vyskytovat ve dvou anomerech, lišících se polohou hydroxylové skupiny na uhlíku C_1 . Systematický název pro α -laktózu je β -O-D-galaktopyranosyl-(1-4)- α -D-glukopyranosa a pro β -laktózu β -O-D-galaktopyranosyl-(1-4)- β -D-glukopyranosa. Tuto vlastnost označujeme jako mutarotace, která patří mezi jednu z nejdůležitějších vlastností laktózy. V roztoku je rychlost transformace mezi α a β -anomery závislá na teplotě a pH. Na druhé straně poměr při rovnováze závisí jen nepatrně na teplotě a není ovlivněn pH [9].

Laktóza je z technologického hlediska nejdůležitější sacharid v mléce a její chování může mít silný účinek na různé mléčné výrobky. Je rozhodující při fermentaci pomocí bakterií mléčného kvašení při přípravě jogurtů a mnoha dalších kyselých koagulovaných mléčných výrobků, stejně jako u mnoha druhů sýrů. Laktózu lze i izolovat a následně aplikovat v široké škále mléčných a nealkoholických potravinových produktů, stejně tak u nepotravinových produktů. Laktóza se používá jako výchozí materiál pro několik derivátů laktózy, včetně galakto-oligosacharidů, laktulózy, laktitolu a kyseliny laktobionové [10,11].

Oproti sacharóze je hůře stravitelná, méně rozpustná ve vodě a má menší stupeň sladivosti, asi o 1/3 (sacharóza – 0,5-0,7 a laktóza 0,2-,0,4). Sušená syrovátka obsahuje 74 g/100 g laktózy [11,12].

1.1.1.1 Laktózová intolerance

Laktózová intolerance postihuje jedince s absencí β -galaktosidázy – laktázy, která má za následek rozštěpení laktózy na dvě monosacharidové jednotky (galaktózu a glukózu) ve střevní sliznici. Protože je laktóza osmoticky aktivní, dochází u takto postižených jedinců k bolestem břicha, plynatosti, křečím a gastrointestinálním potížením. Léčba laktózové intolerance spočívá v omezeném příjmu mléčné stravy [13].

1.1.2 Bílkoviny

Stejně jako kasein je syrovátkový protein obecný termín pro skupinu bílkovin nacházejících se v syrovátce. Surovátkové bílkoviny se primárně vyskytují jako jednotlivé složky, avšak v některých případech se syntetické proteiny asociují za vzniku dimeru, tetrameru nebo oktomeru. Malá hladina vzájemného sdružování syrovátkových proteinů mezi sebou neumožňuje syrovátkovým bílkovinám vytvářet komplexy, které se blíží velikosti kazeinové micely [14].

1.1.2.1 β -laktoglobulin

Z celkového množství bílkovin syrovátky je β -laktoglobulin obsažen z cca 35 %, je tedy nejvýznačnějším proteinem. Poskytuje vynikající zdroj esenciálních aminokyselin s rozvětveným řetězcem. Má za následek alergii na kravské mléko u lidí. Jeho význam, mimo to, že je bohatým zdrojem aminokyselin, není znám [15].

1.1.2.2 α -laktalbumin

α -laktalbumin je malý (M_r -14,2 kDa), kyselý (pH 4-5) protein, vázající svými molekulami vápenaté ionty, což je z několika hledisek velmi důležité. Prvně má α -laktalbumin významnou funkci v sekrečních buňkách mléčné žlázy, jedná se o jednu ze dvou složek laktosyntázy, která katalyzuje konečný krok biosyntézy laktózy v mléčné žláze. Druhou složkou tohoto systému je galaktosyltransferáza, která se podílí na zpracování proteinů v různých sekrečních buňkách přenosem galaktosylových skupin z UDP-galaktózy na glykoproteiny obsahující N-acetylglukosamin [16].

1.1.2.3 Glykomakropeptid

Glykomakropeptid je typ krátkého proteinu. Je tvořen z mléčných bílkovin během procesu výroby sýrů působením chymozinu. Na rozdíl od většiny jiných proteinů obsahuje glykomakropeptid velmi málo aminokyseliny fenylalaninu. Kromě své biologické aktivity má glykomakropeptid několik zajímavých technologických vlastností, jako je rozpustnost v širokém rozmezí pH, emulgační vlastnosti a pěnotvornou schopnost, které jsou slibné pro použití v potravinářském a výživovém průmyslu. Tyto vlastnosti glykomakropeptidu daly nový rozměr pro rentabilní využití syrovátky ze sýra v mlékárenském průmyslu [17,18].

1.1.2.4 Imunoglobuliny

Imunoglobuliny jsou glykoproteiny složené z jedné nebo více jednotek, z nichž každá obsahuje čtyři polypeptidové řetězce; dva identické těžké řetězce a dva identické lehké řetězce. Tvoří asi 10-15% podíl v syrovátkových proteinech [19].

1.1.2.5 Sérový albumin

Sérový albumin je ve vodě rozpustný, aniontový, globulární protein o molekulové hmotnosti 65 000. Proteinová struktura je dominována několika α -helixy. Je to hlavní protein nacházející se v krevním séru a vyskytuje se ve všech tkáních a sekreci. Sérový albumin tvoří přibližně 5-10 % syrovátkového proteinu [19,20].

1.1.2.6 Laktoperoxidáza

Laktoperoxidáza je enzym nacházející se v mléce a syrovátce, který má díky ní antimikrobiální a antioxidační vlastnosti [21].

Laktoperoxidáza je jedním z důležitých proteinů v syrovátce a je známo, že hraje klíčovou roli při ochraně mléčné žlázy a střevního traktu u novorozenců proti patogenním mikroorganismům. Nicméně v průmyslovém procesu je oddělení tohoto proteinu s vysokou čistotou náročnou prací kvůli nízkému obsahu v syrovátce [22].

1.1.2.7 Laktoferin

Laktoferin je glykoprotein, který je obvykle oddělen od mléčného kolostra. Má vysoký izoelektronický bod o pH 8,9 a molekulovou hmotnost 88 kDa. Vedle své speciální schopnosti

vazby na železo má laktoferin řadu biologických funkcí, včetně antibakteriálních, antivirových, antifungálních, antiparazitárních, protizánětlivých a protikarcinogenních aktivit. Bylo zjištěno, že pozitivně nabitý laktoferin se může pomocí elektrostatické přitažlivosti kombinovat s negativně nabitými bílkovinami syrovátky a kaseiny v mléce [23].

1.1.3 Tuk

Tuk se nachází v syrovátce v minimálním množství, obvykle do 1 %. Množství tuku úzce souvisí s tučností zpracovávaného mléka. V případě, že došlo k dokonalému odstředění syrovátkové smetany, je množství tuku nulové [4].

1.1.4 Minerální a stopové prvky

Syrovátka je potravina bohatá na minerální látky, které do ní z velké většiny přecházejí z mléka. Z minoritních organických prvků tu můžeme najít především soli kyseliny citrónové, fosforečné, mléčné aj. Z majoritních anorganických prvků pak vápník, sodík, draslík, hořčík, fosfor, síru, chlor a železo. Složkou minerálních látek v syrovátce jsou soli vápenaté a hořečnaté [24].

1.1.4.1 Vápník

Syrovátka obsahuje v průměru 47 mg vápníku/100 g, je tedy jeho cenným zdrojem. Vápník je nepostradatelným minerálním prvkem pro budování a udržování silných, zdravých kostí a zubů a je nezbytný pro přenos nervových impulzů. Vápník se doporučuje zvláště dětem a těhotným nebo kojícím ženám, protože systémová potřeba vápníku je v těchto obdobích mnohem větší. Nedostatek může vést k onemocněním, jako je osteoporóza, přecitlivělé nervy, nespavost a křivice. Koncentrace vápníku má velký vliv na tepelnou stabilitu jak β -laktoglobulinu a α -laktalbuminu. Při nízkých koncentracích může vápník zvýšit sílu gelu tím, že pomáhá při tvorbě síťovin, které jsou nezbytné pro správnou tvorbu gelu. Při vyšších koncentracích vápníku dochází k srážení bílkovin rychleji, než je tvorba zesítena a síla gelu je oslabena [24,25].

1.1.4.2 Sodík

Syrovátka je známá tím, že má velmi nízkou hladinu sodíku, cca 54 mg/100 g. To je obzvláště důležité, protože sůl v tkáních zadržuje vodu. Velké množství sodíku má za následek vysoký krevní tlak, onemocnění srdce a přepracování ledvin, které jsou zodpovědné za odstranění

soli z těla. V zájmu většiny potravinářských společností je snaha omezit množství sodíku, permeát ze syrovátky se proto ultrafiltruje [24,26].

1.1.4.3 Draslík

Syrovátka je extrémně bohatá na draslík, obsahuje až 161 mg/100 g. Draslík hraje zásadní roli v procesech asimilace a katabolizmu na buněčné úrovni, v přenosu nervových impulzů a ve svalových kontrakcích (při nedostatku draslíku dochází ke svalovým křečím). Navíc je aktivátorem mnoha enzymů. Draslík v kombinaci se sodíkem způsobuje to, že čím více draslíku je v tkáních, tím větší množství sodíku je vyloučené z těla. Každý gram soli uchovává v těle 11 gramů vody. V případě nedostatku draslíku se ve tkáních shromažďuje více sodíku a tím i přebytečná tekutina způsobující edém [24].

1.1.4.4 Hořčík

Syrovátka obsahuje 8 mg hořčíku/100 g. Hraje důležitou roli v nervovém a imunitním systému. Kromě antivirového účinku hořčík snižuje hladinu cholesterolu v krvi a inhibuje sklerózu v mozkových cévách [24].

1.1.4.5 Fosfor

Fosfor je velmi užitečná látka pro nervový systém a funkce mozku. Nedostatek fosforu způsobí duševní únavu, což sníží schopnost mozku koncentrovat se a pamatovat si informace. Fosfor, který je přítomen v syrovátce, se doporučuje i v případě ztráty paměti. V syrovátce se nachází v množství 40 mg/100 g. Obecně při výrobě syrovátky přechází z mléka okolo 43 % fosforu [24,27].

1.1.5 Vitamíny

Vitamíny jsou obsaženy v syrovátce v malém množství. Syrovátka obsahuje vitamíny skupiny A, B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₁₂, C, E, B₇ a B₉. Největší zastoupení tvoří vitamín B₂ a B₅ (viz Tabulka 3) [24].

Riboflavin byl nejprve izolován z mléčné syrovátky v roce 1870 jako ve vodě rozpustný, nažloutlý pigment nazývaný laktochrom [28].

Je základní složkou dvou hlavních koenzymů, flavin mononukleotidu (FMN, také známého jako riboflavin-5'-fosfát) a flavin adenin dinukleotidu (FAD). Tyto koenzymy hrají hlavní

roli při výrobě energie, buněčné funkci, růstu, vývoji a metabolismu tuků, léků a steroidů. Riboflavin pomáhá udržovat normální hladiny homocysteinu, což je aminokyselina v krvi. V neutrálním prostředí riboflavin fluoreskuje, což je viditelné na barvě kyselé syrovátky (zelenožlutá barva). Ultrafialové světlo dokáže rychle inaktivovat riboflavin a jeho deriváty. Riziko ztráty riboflavinu na světle je důvodem, proč se mléko typicky nenachází ve skleněných obalech [29].

Tab. č. 3: obsah vitamínů v sušené syrovátce [4]

Vitamín	Kyselá syrovátka	Sladká syrovátka
Vitamín A (MJ/100g)	47 - 165	69 – 240
Vitamín C (mg/100g)	0 - 0,99	0 – 9,08
Vitamín B ₆ (mg/100g)	0,46 - 0,96	0,36 – 0,77
Vitamín B ₁₂ (μg/100g)	0,15 - 3,7	0,9 – 3,7
Vitamín E (μg/100g)	19 - 169	14 – 249
Vitamín B ₁ (mg/100g)	0,35 - 0,58	0,38 – 0,59
Vitamín B ₂ (mg/100g)	1,57 - 2,35	1,70 – 2,92
Vitamín B ₅ (mg/100g)	7,0 - 14,2	8,2 – 15,0
Vitamín B ₇ (μg/100g)	7,0 - 14,2	8,2 – 15,0
Vitamín B ₃ (mg/100g)	0,61 – 2,51	0,76 – 2,03
Vitamín B ₉ (μg/100g)	14,6 – 59,4	4,2 – 30,0

1.1.6 Kyseliny

Kyseliny se v syrovátce mohou vyskytovat v závislosti na druhu syrovátky, činnosti a množství mikroorganismů. V syrovátce bývá nejčastěji obsažena kyselina mravenčí, octová, mléčná a citrónová. Kyselina mléčná a kyselina citrónová bývá v syrovátce obsažena nejvíce. Jejich hodnota je 150 mg/100 g u kyseliny citrónové a 40–120 mg/100 g u kyseliny mléčné. Více kyselin se nachází v syrovátce kyselé [30].

1.2 Vznik syrovátky

Syrovátka je sérum mléka, které vzniká odstraněním tuku a kaseinu z celého obsahu mléka během procesu výroby sýra. Vzniká dvěma způsoby, buď kyselým, nebo sladkým srážením [31].

1.2.1 Kyselá syrovátka

Kyselá syrovátka je primárním vedlejším produktem od výroby řeckých jogurtů, tvarohů, některých druhů sýrů (Cottage, žervé) a dalších fermentovaných mléčných výrobků, kdy se kyselina mléčná (produkovaná bakteriemi mléčného kysání) vysráží s bílkoviny mléka. Kyselá syrovátka obsahuje mnoho nutričních složek, které mohou zlepšit nebo podporovat zdraví. Tyto prospěšné komponenty obsahují vitamíny, minerální prvky, aminokyseliny s rozvětveným řetězcem, laktózu, alfa-laktalbumin, laktoferin, kyselinu mléčnou a mnoho dalších bioaktivních mléčných složek [32].

Změny vznikají převážně u vápníku, fosfátů a mléčné kyseliny, které se nachází ve větším množství v kyselé syrovátce. Fosfáty a vápník jsou z větší části vázány v kaseinu, který je součástí sýrů. Jejich rozpustnost je vyšší v kyselém prostředí, proto se také ve větším množství nachází v kyselé syrovátce [32].

Při kyselém srážení dochází ke snížení pH k izoelektrickému bodu kaseinu (pH 4,6) kdy dochází ke srážení kaseinových bílkovin. Vše probíhá při teplotě okolo 20 °C. Kyselé srážení může být odstartováno dvěma způsoby:

- Pomocí kyseliny, např. octové, citronové nebo mléčné, která okyselí mléko na pH 4,6, tedy izoelektrický bod kaseinu.
- Kvasným pochodem, pomocí bakterií mléčného kvašení, které přeměňují laktózu na kyselinu mléčnou [33].

1.2.2 Sladká syrovátka

Sladká syrovátka je získána u výroby polotvrdých a tvrdých sýrů (eidam, ementál, čedar aj.) při srážení kaseinových bílkovin enzymovým syřidlem. Sladká syrovátka má pH kolem 6.

Srážení pomocí syřidla má tři fáze: primární, sekundární, terciální [34].

Primární fáze – pomocí syřidla při ní dochází ke štěpení K-kaseinu, jakožto ochranného koloidu, který je součástí řetězce se 169 aminokyselinami, na 2 kratší řetězce kaseinů (para-K-kasein, K-kaseinomakropeptid). Ke štěpení dochází mezi 105. a 106. aminokyselinou Phe – Met. Para-K-kasein je hydrofobní část složená z 1.-105. aminokyseliny, která zůstává v sýřenině. K-kaseinomakropeptid je hydrofilní část složená ze 106.-169. aminokyseliny, která přechází do syrovátky [34].

Sekundární fáze – dochází zde ke vzniku trojrozměrné sítě neboli gelu, pomocí vápenatých iontů. Ty se srážejí se všemi frakcemi kaseinu, které byly původně chráněny obalem K-kaseinu. Podmínkou dobrého průběhu sekundární fáze je dostatečná koncentrace Ca^{2+} , které snižují negativní náboj micel a podporují tedy agregaci destabilizovaných micel. Na tvorbu gelu má vliv i teplota, doba srážení, pH mléka a množství použitého syřidla. Vzniklý gel se následně prokrajuje a míchá, aby došlo k uvolnění syrovátky z 3 D matrice složené z kaseinových micel. Při uvolňování syrovátky dochází k synerezi gelu neboli k vytužení. Při synerezi dochází k uvolnění kapilárně vázané vody. Množství a rozsah synereze má vliv na konečný obsah vlhkosti a textury požadovaného výrobku. Co největšího odvodu syrovátky se využívá při výrobě tvrdých sýrů. Synereze může být i nežádoucí, např. během skladování produktů jako je jogurt, zakysaná smetana nebo smetanový sýr, proto je důležité vědět, za jakých podmínek může být synerezi zabráněno [34].

Terciální fáze – dochází zde k rozsáhlejší proteolýze kaseinu účinkem zbytkových enzymů v sýřenině pocházejících ze syřidla. Rychlost, jakou bude probíhat terciální fáze, určuje koncentrace syřidla, substrátová specifita, teplota zrání, aktivita vody v sýřenině a aktivita proteolytická [35,36].

1.3 Zpracování syrovátky

Syrovátku je před samotným zpracováním nutné upravit. Úprava syrovátky zahrnuje odstranění možných nečistot z předešlých výrob, odstranění rozpuštěných minerálních látek, zahušťování a sušení syrovátky [4].

1.3.1 Předúprava syrovátky

Oddělená syrovátka obsahuje nečistoty z předchozí výroby, mezi které řadíme především sýrařský prach z výroby sýrů a větší množství tuku. Těchto nečistot je třeba se zbavit před dalším zpracováním syrovátky, pro dosažení její lepší a jednodušší údržnosti. Větší částice se ze syrovátky odstraňují na základě rozdílné velikosti separačními metodami, mezi které řadíme usazování, filtraci či odstředování. Tuk (syrovátková smetana) se ze syrovátky odstraňuje pomocí centrifugy na základě odstředivé síly, která je mezi syrovátkou a tukem rozdílná [4].

Jelikož je syrovátka velmi bohatým zdrojem laktózy, vody a minerálních látek, je vhodným prostředím pro případnou sekundární kontaminaci a rychlé množení mikroorganismů. Musí

se tedy podrobit pasteraci při teplotě 72-78 °C po dobu 15-20 s, při které dochází také k inaktivaci zbylého enzymu chymozinu a fosfatáz vyskytujících se přirozeně v mléce. Před pasterací se musí syrovátka uchovávat při chladírenské teplotě okolo 5 °C [4].

1.3.2 Demineralizace

Demineralizace představuje odstranění rozpuštěných minerálních látek z tekutiny, které v syrovátce tvoří až 15 % sušiny. Minerální látky jsou vlastně kationty a anionty jak anorganických, tak i organických sloučenin, které se dají odstranit z tekutin pomocí iontoměničů nebo elektrodialýzy. V syrovátce minerální látky a soli zhoršují průběh sušení a můžou mít za následek nežádoucí vlastnosti produktu [36].

1.3.3 Zahušťování syrovátky

Syrovátku kvůli svému vysokému obsahu vody je třeba zahustit. Nejčastěji se syrovátka zbavuje vody pomocí vícestupňové filmové odparky, kde dochází k zahuštění asi na 60 % sušiny. Teplota při odpařování je velmi důležitá a neměla by překročit 75 °C, pokud výsledný produkt není určen pro pekařské účely. Při vyšší teplotě by docházelo k denuraci bílkovin. Při odpařování vody ze syrovátky dochází k intenzivnímu vzniku páry tzv. brýdové páry. Část brýdových par se používá k opětovnému vyhřívání, zbytek se ochladí a zkondenzuje v kondenzátoru [4,37].

Syrovátku lze zahustit (odstranit z ní vodu) i bez použití vysoké teploty. Využívají se membránové procesy, nejčastěji reverzní osmóza, založená na zachycování pevných částic před membránou a projití nejmenších částic – vody. Tímto způsobem lze syrovátku zahustit asi na 25 % sušiny [4,37].

1.3.4 Sušení syrovátky

Pro sušení se používá především syrovátka sladká. Syrovátka kyselá je na sušení komplikovanější, proto se využívá především ke zkrmování [38].

Pro sušení syrovátky se zpravidla a nejčastěji volí sušárny rozprašovací. Sušení se skládá ze dvou částí, v první části dochází k odstranění asi 90 % vody odpařením, zbylá část vody se odstraňuje mlhovým sušením. Při sušení dochází k narůstající viskozitě syrovátky z důvodu její dehydratace [38].

Laktóza během rozprašování a sušení zůstává v amorfni podobě, je tedy v syrovátce nežádoucí kvůli špatným fyzikálním vlastnostem, mezi které řadíme např. rozpustnost, spékavost. Díky tomu je důležité ještě před rozprašováním provést předkrytalizaci laktózy v zahusťené syrovátce a tím postupně získat laktózu ve vykrytalizované podobě α -hydrátu. Pro sušení syrovátky je nevhodné použití válcové sušárny z důvodu vysokého obsahu laktózy – nad 70 % [38].

1.4 Využití syrovátky v potravinářství

Ještě před pár desetiletími byla syrovátka vážným problémem pro mlékárenský průmysl. Nebyla recyklována v takovém rozsahu, jako je v dnešní době. Syrovátka byla odstraněna kanalizací, což představovalo hrozbu pro ekosystém kvůli obsahu organických sloučenin. Například při výrobě sýra dodává deset dílů mléka devět dílů syrovátky a pouze jeden díl sýra. Současné používání syrovátky v potravinářství je umožněno díky nespočtu studií v této oblasti. Syrovátku získanou z kravského, ovčího, kozího nebo velbloudího mléka lze zpracovávat. Její používání může mít pozitivní dopad nejen na zdraví spotřebitelů, ale také na finance řady společností snížením nákladů na suroviny. Snižování nákladů je dosaženo použitím syrovátky jako částečné nebo úplné náhrady za sušené mléko, vejce, sacharózu nebo bílkovinu [39].

1.4.1 Výroba nápojů

Existují dvě formy využití syrovátky do nápojů:

- Kapalná – Méně používaná forma díky vysokým přepravním nákladům, menší údržnosti, proměnlivé jakosti, nevhodným sensorickým vlastnostem, vyššímu obsahu soli aj.
- Sušená – Obvyklejší a preferovanější forma. Před konzumací dochází ke smíchání dvou složek, tedy sušené syrovátky a vody [38].

Fermentované čerstvé nápoje ze syrovátky se vyrábějí pomocí bakterií mléčného kvašení (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*) v kombinaci s kvasinkami. Většina nápojů ze syrovátky se vyrábí pomocí čistých kultur kvasinek, včetně pekařských a pivovarských kvasnic [40].

Výroba nápojů na bázi syrovátky začala v 70. letech 20. století a od té doby byla vyvinuta široká škála různých nápojů. Nealkoholické syrovátkové nápoje zahrnují řadu produktů získaných mícháním sladké, zředěné nebo kyselé syrovátky s různými přísadami, jako je tropické ovoce (ale i jiné druhy ovoce jako jablka, hrušky, jahody nebo brusinky), plodiny a jejich produkty (zejména otruby), izoláty rostlinných bílkovin, CO₂, čokoláda, kakao, vanilkové výtažky a jiné aromatizující látky [30].

Zvláštní pozornost je věnována vývoji syrovátkových nápojů fermentací syrovátky probiotickými bakteriemi, kde nejdůležitějším krokem je výběr vhodné kultury bakterií za účelem výroby funkčního nápoje s vysokou výživnou hodnotou a přijatelnými smyslovými vlastnostmi [30].

Syrovátka je velmi dobrou surovinou pro výrobu alkoholických nápojů vzhledem k tomu, že hlavní složkou pevného obsahu je laktóza (cca 70 %). Alkoholické syrovátkové nápoje zahrnují nápoje s malým množstvím alkoholu (až 1,5 %), syrovátkové pivo a syrovátkové víno. Syrovátkové nápoje jsou vhodné pro širokou škálu spotřebitelů od dětí až po nejstarší. Mají velmi vysokou nutriční hodnotu a dobré terapeutické vlastnosti [30].

1.4.2 Výroba sýrů

Syrovátka je při výrobě sýrů využívána ze dvou důvodů. Jednak pro specifické vlastnosti výsledných produktů (výraznější chuť, jemná konzistence) nebo jako náhrada jinak drahé bílkoviny. Tekutá sladká syrovátka, která zůstala po výrobě sýra z kravského a ovčího mléka, může být použita při výrobě syrovátkových sýrů. Pro výrobu analogů tavených sýrů je sýr nahrazen mléčnými bílkoviny (kaseinem, syrovátkovými bílkoviny) nebo rostlinnými bílkoviny. Rostlinné bílkoviny se používají hlavně kvůli jejich ceně. Produkce 1 kg sójového proteinu je více než trojnásobně levnější než produkce mléčných bílkovin. Klíčovým faktorem při používání syrovátkových přípravků v tomto sortimentu je jejich nákladová efektivita. Jejich emulgační vlastnosti jsou cenné zejména při tepelném zpracování, balení a chlazení. Schopnost vázat vodu může narušit technologický proces, pokud se provádí nevhodně. To ovlivňuje roztavení směsi a roztíratelnost konečného výrobku. Velkou výhodou syrovátkových přípravků je jejich vysoká nutriční hodnota. Přidání přípravků ze syrovátkových proteinů k analogům taveného sýra a také nahrazení kaseinu těmito bílkoviny zvyšuje tvrdost konečného produktu. Mezi nejoblíbenější syrovátkové sýry patří ricotta, mysost, manouri, anthotyros myzithra a giza [39].

1.4.2.1 Sýr Ricotta

Ricotta (viz Obrázek 2) je měkký, polosladký sýr pocházející z Itálie. Jedna ze dvou metod běžně používaných k výrobě těchto syrovátkových sýrů spočívá v tom, že se syrovátka odpařuje, aby se získala hmota s pevnou konzistencí, která při ochlazení vytváří sýr (Primost a Ghetost). Druhá metoda se používá při výrobě sýru Ricotta. Ricotta se vyrábí z koagulovatelných složek (převážně z albuminu) obsažených v syrovátce ze sýrů jako je Cheddar, Swiss a Provolone, proto je také znám jako syrovátkový sýr nebo albuminový sýr. Obsah tuku s koagulovatelným albuminem zlepšuje strukturu, chuť a výživnou stránku sýra. Proteiny mléka a syrovátky jsou koagulovány kyselinou (mléčnou nebo octovou) a vysokou teplotou (80 až 100 °C). Čerstvá Ricotta má jemnou chuť a strukturu připomínající tvaroh. Výroba sýru ricotta je jedním z nejpohodlnějších a nejméně problematických způsobů využití syrovátky [41,2].

1.4.2.2 Sýr norského typu Mysost (Brunost)

Vyroben ze syrovátky z kravského mléka. Mysost pochází ze Skandinávie. Má jedinečnou sladkokyselou chuť a je často podáván nakrájený na teplých toustech na snídani. Barva se pohybuje od světlé až po tmavě hnědou, v závislosti na stupni karamelizace. Norský způsob výroby spočívá v tom, že se syrovátka zahřeje na bod varu. Při bodu varu začne vzlínat albumin na povrch, ten je sesbírán bokem a nechá se zkoncentrovat zbytek syrovátky. Jakmile má syrovátka správnou koncentraci, albumin je zamíchán zpět do hmoty a výsledná hmota se nechá zchladit ve formách. Mysost (viz Obrázek 3) je křehká hmota sestávající se převážně z karamelizovaného mléčného cukru. Obsahuje 10-20 % vody, 10-15 % bílkovin a 30-55 % mléčného cukru [42,43].



Obr. č. 2: Sýr Riccota [44]



Obr. č. 3: Sýr Mysost [45]

1.4.3 Výroba pečiva

Spotřeba chleba se v období 1999-2003 snížila o 13,8 % kvůli takovým faktorům, jako je změna výživových návyků a rostoucí užívání náhražek, např. snídaňových cereálií. Nové odrůdy pečiva se stále častěji rozšiřují po celém světě. Obecně platí, že podle názoru spotřebitelů by chléb měl mít nízký glykemický index, být zdrojem bílkovin a vlákniny, vitamínů, hořčíku, vápníku, stopových prvků a antioxidantů. Základními složkami pro výrobu chleba jsou obilná mouka, voda, droždí a sůl, ale některé další přísady mohou být přidány ke zlepšení zpracování nebo k výrobě speciálního chleba, který má zvýšenou výživovou hodnotu. Mléčné složky se v pekárenském průmyslu běžně používají kvůli jejich příznivému vlivu na nutriční, organoleptické a některé funkční vlastnosti pekařských výrobků. Syrovátkové bíl-

koviny představují asi 20 % mléčných proteinů a tvoří bohatý zdroj kompletních a biologicky dostupných aminokyselin. Bylo prokázáno, že denaturované syrovátkové bílkoviny mají vyšší hodnotu účinnosti proteinu než pšeničné bílkoviny. Kromě toho je zadrženo mléčných bílkovin v lidském těle (přibližně 74 %) vyšší než retence bílkovin pšenice (přibližně 66 %) [46].

Při pečení cukroví a pečiva se často používá laktóza jako náhražka sacharózy, protože urychluje Maillardovu reakci, zlepšuje emulzi a strukturu a zvýrazňuje chuť. Navíc syrovátkové bílkoviny obsahují vysoké množství esenciálních aminokyselin, jsou také považovány za zdroj vysoce kvalitních bílkovin. Kromě toho se vyznačují vysokým obsahem vápníku a dalších minerálních látek, jako je draslík a zinek. Díky těmto vlastnostem je syrovátkový protein cennou přísadou k pekařským produktům [39].

1.4.4 Využití v masném průmyslu

K docílení vyšší vaznosti vody a zvýšení schopnosti emulgace tuků při výrobě uzenin v masném průmyslu lze využít 2–4 % bílkovinový koncentrát ze syrovátky. Navíc se při použití koncentráту zvyšují senzorické vlastnosti finálního výrobku [38].

Produkty pro zpracování syrovátky používané v masném průmyslu jsou následující: prášek sladké syrovátky, koncentráty syrovátkových bílkovin (proteinový obsah 34-80 %), proteinový izolát (> 90 % bílkoviny), syrovátka se sníženým obsahem laktózy, demineralizovaná syrovátka a laktóza. Používají se zejména při výrobě mělněných produktů, jako jsou: frankfurtské párky, klobásy, mortadellas, mleté maso v konzervě nebo surimi. Syrovátkový protein může částečně nahradit masové bílkoviny a také částečně nebo úplně nahradit sójový protein a další vazebná činidla jako jsou škroby, modifikovaný škrob a hydrokoloidy. Syrovátkové bílkoviny se zlepšenou chutí a zvýšenou funkcí se získávají pomocí nových technologií. Při výběru určitého syrovátkového produktu je nezbytné, aby jeho funkce odpovídala charakteristikám, které chceme dosáhnout. Například vysoce koncentrované koncentráty nebo izoláty se používají k úpravě obsahu tuku. Mírné zvýšení sladivosti nastává zejména při přidání sladké syrovátky (což umožňuje snížit přísadu sladidel). Vlastnosti syrovátkových proteinů, které se používají při zpracování masných výrobků, drůbeže a ryb jsou následující:

- Vaznost vody, která zabraňuje úbytku hmotnosti během tepelného zpracování a skladování produktu.

- Zvyšuje šřavnatost konečného produktu a usnadňuje řezání výrobků na plátky za studena.
- Viskozita, která zlepšuje chuťový dojem při konzumaci (žvýkání, kousání).
- Vysoká rozpustnost – v rozmezí pH od 2 do 10, zatímco kaseinát sodný je rozpustný při pH vyšším než 5,0 a izolát sójových bílkovin pouze při pH nad 5,5.
- Tvorba stabilních emulzí, která je obzvláště důležitá při výrobě jemně rozmělněných masných výrobků, zejména pokud je surovina málo kvalitní.
- Syrovátkové bílkoviny mohou částečně nebo úplně nahradit další emulgátory, navíc přidání syrovátkových proteinů ovlivňuje chuť a zlepšuje tvorbu gelu.
- Mohou být použity při výrobě jedlých obalů pro klobásy.
- Mohou také vykazovat antioxidační aktivitu (to se týká oxidace tuku ve vepřovém mase, v lososovém mase nebo v produktech bohatých na lipidy) [39].

1.4.5 Využití při výrobě jogurtů a zmrzlin

Růst spotřeby fermentovaných mléčných výrobků byl zaznamenán v posledních letech, nej-důležitější z nich je konzumace jogurtu. Z tohoto důvodu jsou kvalitativní vlastnosti koneč-ného výrobku velmi důležité. Tyto vlastnosti mohou být úspěšně modifikovány použitím syrovátkových přípravků [39].

Syrovátkové produkty používané při výrobě jogurtu zahrnují:

- Sušená sladká syrovátka, která může nahradit sušené odstředěné mléko na úrovni 2-5,2 %.
- Demineralizovaný syrovátkový prášek se sníženým obsahem minerálů, který urych-luje fermentační proces. Na druhé straně nízké obsahy minerálů snižují strukturu gelu, takže při použití tohoto typu přípravku je nutné přidat hydrolyzáty mléčných bílkovin.
- Syrovátkový izolát, který je kvůli nízkému obsahu laktózy a mléčného tuku použit v jogurtech se sníženým obsahem laktózy.
- Syrovátkový koncentrát, které nejčastěji používají výrobci jogurtu.

Struktura jogurtu může být zlepšena použitím výše uvedených produktů, zvýšením viskozity a stability a snížením rizika synerese. Kromě toho přidání syrovátkové bílkoviny dává jo-

gurtu hladkou a krémovou strukturu, zvyšuje také nutriční hodnotu. Předpokládá se, že bioaktivní složky přítomné v syrovátce a syrovátkové bílkovině mohou stimulovat růst probiotických bakteriálních kultur (jak v konečném produktu, tak v lidském zažívacím traktu).

Syrovátkové přípravky používané při výrobě zmrzlin a smetan zahrnují práškovou syrovátku, demineralizovanou syrovátkou, syrovátkový koncentrát a syrovátkový izolát [39].

1.4.6 Využití v kojenecké výživě

Jiné použití syrovátky v potravinářském průmyslu zahrnuje výrobu kojenecké výživy. Syrovátkové přípravky, které jsou zdrojem vysoce kvalitních proteinů a aktivních peptidů, jsou široce používány výrobci dětských potravin. Standardním postupem je stanovit vhodný poměr syrovátkových proteinů ke kaseinu, který by měl v případě syrovátkových doplňků dosáhnout 60:40, tj. stejný poměr, který se nachází v mateřském mléce. Důležité je také zvýšené množství aminokyselin v kojenecké výživě (mají zvláštní význam pro výživu předčasně narozených dětí). Obzvláště platí o lyzinu, metioninu a treoninu [39].

1.4.7 Produkty s redukováným obsahem tuku

Vysoká konzumace tuků, zejména těch živočišného původu, může mít negativní dopad na lidské zdraví. Přispívá k mnoha nemocem, které jsou dnes klasifikovány jako civilizační nemoci, např. ateroskleróza. To vede k jednoduchému závěru, že je vhodné omezit spotřebu tuku a nahradit tučné potraviny těmi, které jsou s nízkým obsahem tuku. Tuk je důležitou složkou mnoha potravinových produktů. Ovlivňuje chuť dokončeného produktu, zlepšuje strukturu, pružnost, pocit v ústech, šťavnatost a stabilitu během skladování. V důsledku snížení obsahu tuku je získaný produkt bez chuti a nepříjemný pro spotřebitele. Nahrazení části lipidů tzv. náhradními tuky může pomoci předejít negativním jevům. Syrovátkové bílkoviny se široce používají při výrobě salátových dresingů, polévek a omáček, majonézy, masa, jogurtu a přípravků na výrobu zmrzliny. Syrovátkové koncentráty jsou klasifikovány jako tuková mimetika, protože mají různé funkční vlastnosti podobné těm, které mají lipidy. Mohou zcela nebo částečně nahradit vaječný žloutek, hydrokoloidy, sójový protein nebo modifikovaný škrob. Nejdůležitější funkce syrovátkového koncentrátu v produktech s nízkým obsahem tuku jsou: vazba vody, emulze, vysoká rozpustnost, gelování, zvýšení viskozity a zvýšení adhezních interakcí [39].

2 KVASINKY

Kvasinky se řadí mezi heterotrofní eukaryotní mikroorganismy do říše hub (*Funghi*). Jejich hlavní význam spočívá ve schopnosti zkvašovat monosacharidy a některé disacharidy, trisacharidy za vzniku alkoholu a oxidu uhličitého [47].

Kvasinky jsou využívány při kvašení a pečení po dlouhou historii. Kvasinkové mikroby jsou s největší pravděpodobností jedním z nejstarších domestikovaných mikroorganismů. Až v posledních 150 letech začali vědci zkoumat, na jakém principu kvasinky pracují, zejména vědci od Louise Pasteura [48].

Kvasinky, stejně jako jiné houby, se nachází v každém prostředí na zemi a hrají klíčovou ekologickou roli, rozkládají organickou hmotu vylučováním enzymů. Tento mechanismus jim umožňuje přijmout určité vysoce specializované ekologické úlohy včetně vázání anorganických dusičnanů nebo detoxikace substrátů. Pouze 1 % všech živých druhů kvasinek jsou popsána. Převážná většina kvasinek patří mezi fakultativně anaerobní mikroorganismy. Při aerobní respiraci je vyžadováno alespoň minimální množství kyslíku [49,50].

2.1 Výskyt kvasinek

S kvasinkami se můžeme setkat po celém světě. Nachází se na povrchu sladkých plodů, v nektarech květin, v medu, v půdě, ve vodách, v potravinách, na kůži lidí, na srsti živočichů, v jejich plících, sliznicích, na bobulích lesních rostlin, na plodnicích vyšších hub, v prachu a také v mléce a na dalších místech či výrobcích [51].

Kvasinky můžeme rozdělit do několika skupin – dle barvy, rozmnožování, životaschopnosti. Podle barvy rozdělujeme kvasinky na bílé, červené a černé. Převážná většina kvasinek se řadí mezi bílé kvasinky, ty na povrchu kultivačních mykologických půd tvoří bělavě zbarvené kolonie, příkladem je právě rod *Kluyveromyces*. Kvasinky červené tvoří kolonie, které se zbarvují růžově až červeně karotenoidními barvivy, mezi ně patří například rod *Rhodotula*. Kvasinky černé vytváří tmavé až černé kolonie, příkladem je rod *Aureobasidium* [52].

Podle rozmnožování a životaschopnosti dělíme kvasinky na parazitické, saprofágové a saprofytické. Parazitické se rozmnožují v těle hostitele, žijí na úkor živočicha či rostliny.

Saprofágové žijí pouze na rozkládajících se zbytcích rostlinného a živočišného původu. Saprofytické se vyskytují pouze jako přetrvávající buňky, například askospory, chlamydo-spory a další [53].

2.2 Taxonomie kvasinek

Kvasinky patří v systému hub mezi *Eumycota*, dále se rozdělují do dvou pododdělení: *Ascomycotina* – vřeckovýtrusné houby a *Bisidiomycotina* – stopkovýtrusné houby. Po oddělení *Deuteromycotina* patří mezi anamorfní formu, tzv. kvasinky u kterých nebylo prokázáno sexuální rozmnožování. Velká skupina kvasinek je v rámci systému vřeckovýtrusných hub zařazována do třídy *Endomycetes* [54].

2.3 *Kluyveromyces spp.*

Taxonomicky je zařazen rod *Kluyveromyces* do *Ascomycetes*, řádu *Endomycetales* a třídy *Hemiascomycetes*. Původně byly druhy rodu *Kluyveromyces* zařazovány do rodu *Saccharomyces*. Po delším přezkoumání však bylo zjištěno, že rod *Saccharomyces* je velmi heterogenní a začalo se tedy hovořit o rodu *Saccharomyces in sensu strigo* a o *Saccharomyces in sensu lato*. Rod *Saccharomyces* se však odlišuje od rodu *Kluyveromyces* více vlastnostmi. Druhy rodu *Kluyveromyces* vytváří různé tvary spor, například kulovité, ledvinovité a jiné. Aska se vyznačují křehkou stěnou, ve vyšší zralosti mírně pukají a vytvářejí spóry. Rod *Saccharomyces* oxidativně využívá méně sacharidů. Buňky snadněji vytvářejí pseudomycelium, jsou také jemnější a menší. Druhy rodu *Saccharomyces* prokvašují roztoky sacharidů daleko hlouběji než druhy rodu *Kluyveromyces*. Druhy rodu *Kluyveromyces* na rozdíl od rodu *Saccharomyces* produkují ethylacetát. Vytváří pouze 4-4,5 % etanolu [53].

Kvasinky rodu *Kluyveromyces* se vyznačují tím, že spájení buněk převážně těsně předchází tvorbě asků, jsou tedy ve vegetativní fázi haploidní. Mezi kmeny, které tento rod obsahuje, patří homothalické a heterothalické kmeny. *K. marxianus* disponuje dvěma variantami, tedy var. *marxianus* a var. *lactis*. Nacházejí se v konglomerátu bakterií a kvasinek, který se využívá při výrobě kefíru, zkvašují totiž laktózu. Obě varianty se liší ve tvaru askospory [55].

2.3.1 *Kluyveromyces lactis*

Jedná se o jeden z nejvíce studovaných druhů kvasinek, někdy také „nekonvenčních kvasinek“, pro studium v molekulární fyziologii. Zájem okolo *K. lactis*, zejména o jeho schopnost metabolizovat laktózu, byl původně motivován akademickými otázkami, zatímco zájem biotechnologický přišel trochu později. *K. lactis* se běžně nepoužívá pro výrobu etanolu, i když bývá využit pro jiné biotechnologické aplikace, jako je produkce heterologních proteinů, a

to s využitím syrovátky ze sýra, jako kultivačního média. Schopnost těchto kvasinek je metabolizovat laktózu za přítomnosti laktóza permeázy a β -galaktozidázy (laktázy). β -galaktozidáza hydrolyzuje laktózu na dva monosacharidy, glukózu a galaktózu. Intracelulární glukóza může vstoupit do glykolýzy, zatímco galaktóza následuje Leloirovu dráhu. Metabolismus laktózy a galaktózy spolu úzce souvisí. I když se *K. lactis* považuje za modelový mikroorganismus celého rodu, *K. marxianus* si získal velkou pozornost, pokud jde o jeho biotechnologický potenciál [56].

K. lactis tvoří kulovité, cylindrické nebo elipsoidní tvary vyskytující se ve shlucích, jednotlivě či v párech. Velikost vegetativních buněk se pohybuje od 2 do 7 μm [57].

Vytváří krémově hnědý až krémově šedý vzhled kolonií. Konzistence povrchu je slizovitá nebo matná, hladká až bradavičnatá [57].

2.3.2 *Kluyveromyces marxianus*

Isoláty *K. marxianus* pocházely z nesmírně pestrých stanovišť, což představuje pro tento druh širokou metabolickou rozmanitost a následný široký sortiment biotechnologických aplikací [58].

K. marxianus je vhodný mikroorganismus pro výrobu etanolu z fermentace laktózy, ukazuje maximum efektivity výroby s obsahem alkoholu 96,5 % [59].

K. marxianus poprvé popsal E. C. Hansen v roce 1888. Většina studií *K. marxianus* prozkoumávala potencionální aplikace tohoto organismu, aniž by bylo mnoho úsilí zaměřeno na jeho biochemické, metabolické a fyziologické vlastnosti. Od roku 1970 roste počet studií týkající se biologických a metabolických aspektů různých *K. marxianus* kmenů. Morfologie *K. marxianus* byla popsána v roce 2011 autorem Liu. Autor popsal druhy kvasinek v droždí jako anamorfy *Candida kefyr* mající podobné vlastnosti jako ostatní druhy *Candida*. V průmyslových biologických procesech je *K. marxianus* používána při výrobě nutričních kvasnic, jako pojivo při výrobě krmiva pro domácí zvířata a jako zdroj ribonukleové kyseliny, kromě toho se také používá pro produkci enzymu laktázy. *K. marxianus* má schopnost produkovat etanol při teplotě 45 °C v průběhu růstu v médiích obsahujících glukózu, celobiózu, sacharózu a laktózu [60].

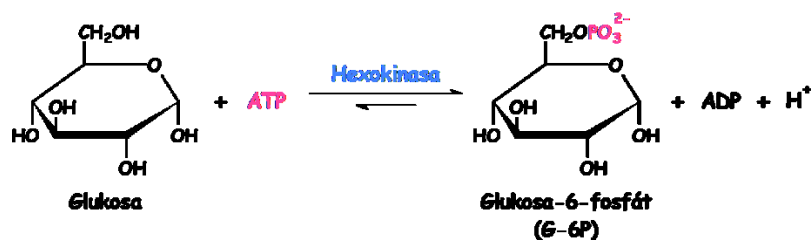
Jedná se o buňku s cylindrickým nebo elipsoidním tvarem. Velikostně se nijak neliší od kvasinek *K. lactis*, tedy 2-6 μm . Vytváří páry nebo řetízky. Na půdách vytváří hnědou eventuelně světle krémovou barvu, povrch půd vypadá matně, někdy leskle [57].

3 FERMENTACE SYROVÁTKY

3.1 Embden-Mayerhof-Parnasova dráha

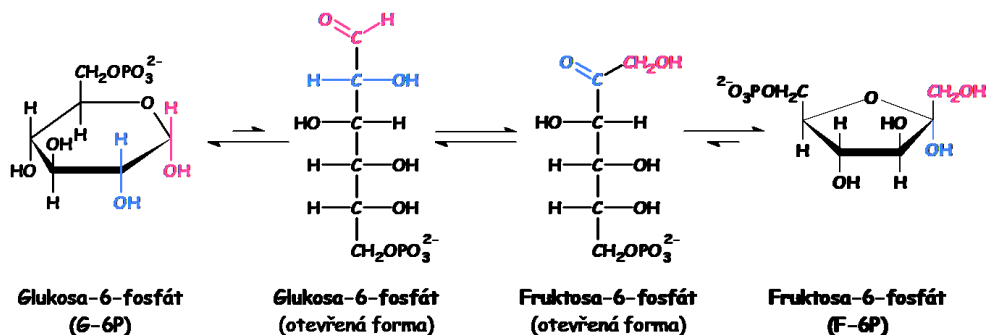
Během homofermentativního metabolismu vzniká z glukózy jediný produkt, a to kyselina mléčná. Celý proces od glukózy po výsledný produkt se jmenuje glykolýza neboli Embden-Meyerhof-Parnasova dráha. Jedná se o metabolickou dráhu, která převádí glukózu prostřednictvím série reakcí na 2 molekuly pyruvátu. Výsledkem těchto reakcí je malé množství ATP a NADH. Většina metabolické energie získané z glukózy pochází ze vstupu pyruvátu do citrátového cyklu a oxidativní fosforylace. Tyto cesty se vyskytují v aerobních podmínkách. Při anaerobních podmínkách může být pyruvát převeden na laktát [61,62].

Prvním krokem glykolýzy je fosforylace glukózy pomocí ATP za vzniku glukózy-6-fosfátu. Tato reakce je katalyzovaná enzymem hexokinázou (viz Obrázek 4) [61,62].



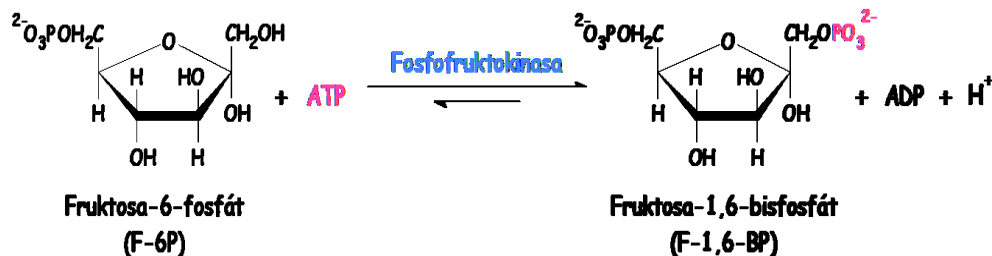
Obr. č. 4: První fosforylace [63]

Druhým krokem glykolýzy je izomerace glukózy-6-fosfátu na fruktózu-6-fosfát. To převádí cukr z 6-členné pyranózy na 5-člennou strukturu furanózy a zahrnuje konverzi aldózy na ketózu. Tato reakce je katalyzována enzymem fosfoglukózaizomerázou (viz Obrázek 5) [61,62].



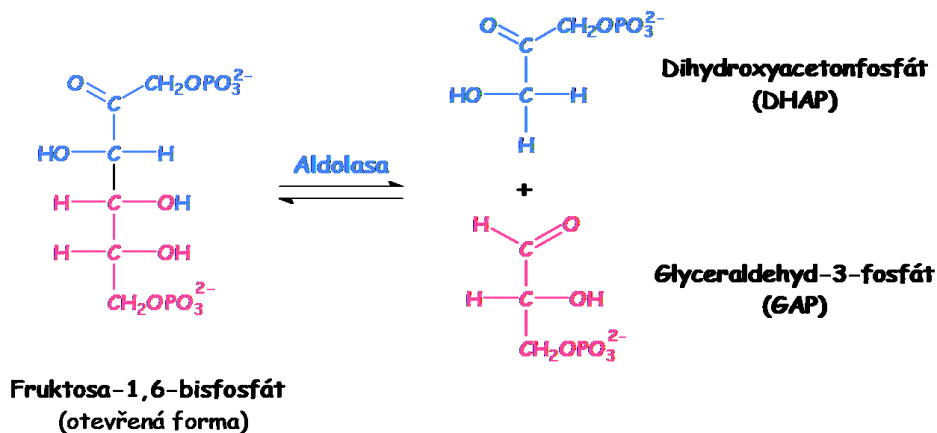
Obr. č 5: Izomerace [63]

Třetím krokem glykolýzy je druhá fosforylace za vzniku fruktózy-1,6-bisfosfát katalyzované enzymem fosfofruktokináza. Fosfofruktokináza je alosterický enzym řízený ATP a dalšími metabolity (viz Obrázek 6) [61,62].



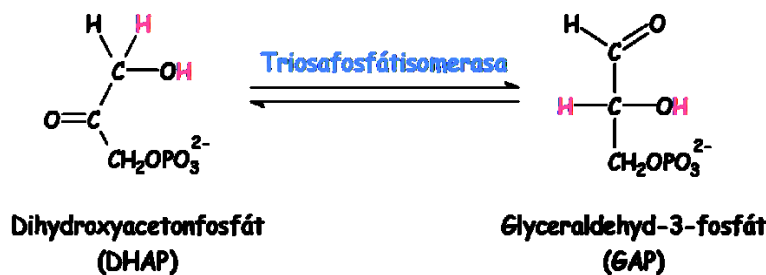
Obr. č. 6: Druhá fosforylace [63]

Až do tohoto okamžiku nebyla glykolýzou vyprodukována žádná energie ve formě ATP a dvě ATP byly využity. Druhý stupeň glykolýzy zahrnuje štěpení 6-uhlíkové fruktózy 1,6-bisfosfátu na 3-uhlíkové cukry s následnou izomerací. Generace 3-uhlíkové jednotky z 6-uhlíkového cukru je katalyzováno enzymem aldózou. Při této reakci získáme dihydroxyacetonfosfát a glycerinaldehyd-3-fosfát (viz Obrázek 7) [61,62].



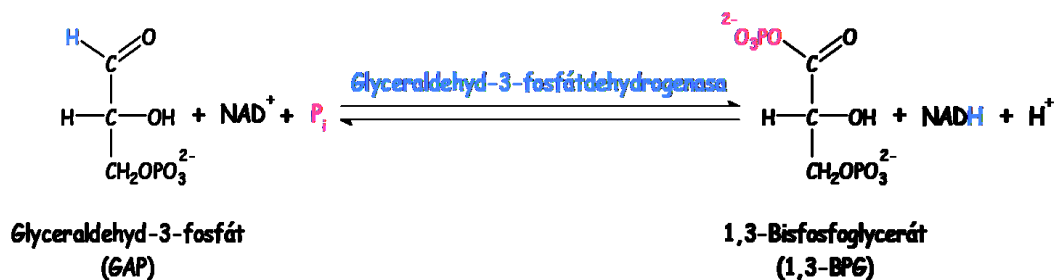
Obr. č. 7: Vznik dvou trióza fosfátů [63]

Glycerinaldehyd-3-fosfát vytvořený v této reakci může pokračovat přímo v glykolytické cestě. Dihydroxyacetonfosfát musí být převeden na glycerinaldehyd-3-fosfát, aby mohl pokračovat v cestě. Tato izomerace je katalyzována enzymem triosafosfátisomerázou. Při rovnováze je většina 3-uhlíkového cukru ve formě dihydroxyacetonfosfátu. Odstranění glycerinaldehyd-3-fosfátu v dalších glykolytických reakcích umožňuje tvorbu více glycerinaldehyd-3-fosfátu z dihydroxyaceton-fosfátu, čímž se posune rovnováha reakce (viz Obrázek 8) [61,62].



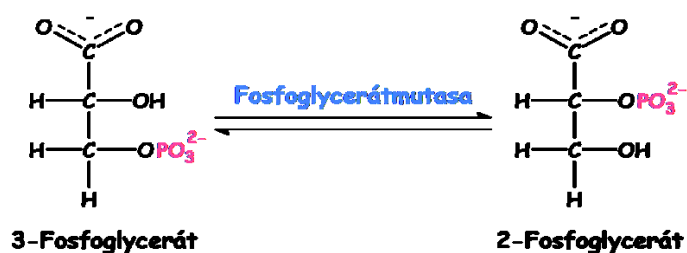
Obr. č. 8: Izomerace [63]

Další reakce glykolýzy vytváří vysoko potenciální fosforylovanou sloučeninu 1,3-bisfosfoglycerát. Tato sloučenina je vytvořena z glyceraldehyd-3-fosfátu působením enzymu glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenáza. Při této reakci je anorganický fosfát (P_i) začleněn do polohy C-1, čímž vzniká acylfosfát s NAD^+ sloužící jako akceptor elektronu. Vysoký energetický potenciál 1,3-bisfosfoglycerátu se používá k vytvoření ATP z ADP a P_i . Tato reakce se provádí fosfoglycerátkinázou. Reakce vedou k tvorbě NADH a ATP (viz Obrázek 9) [61,62].

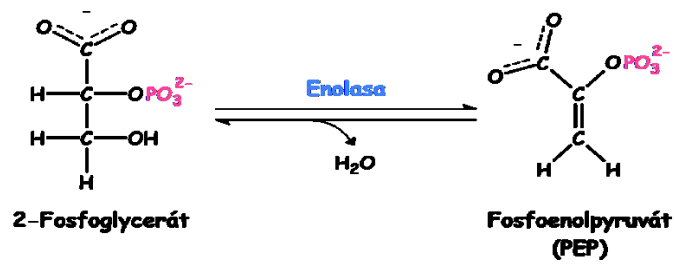


Obr. č. 9: Tvorba fosforylované sloučeniny [63]

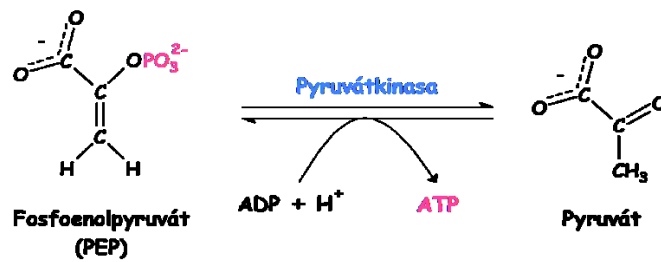
Poslední část glykolýzy zahrnuje tvorbu pyruvátu a více molekul ATP. Toho je dosaženo přesunem 3-fosfoglycerátu za vzniku 2-fosfoglycerátu a následnou dehydratací za vzniku fosfoenolpyruvátu. Konečnou, téměř nevratnou reakcí je tvorba ATP a pyruvátu katalyzované enzymem pyruvát-kináza (viz Obrázek 10, 11 a 12) [61,62].



Obr. č. 10: Přesun fosfátového zbytku [63]



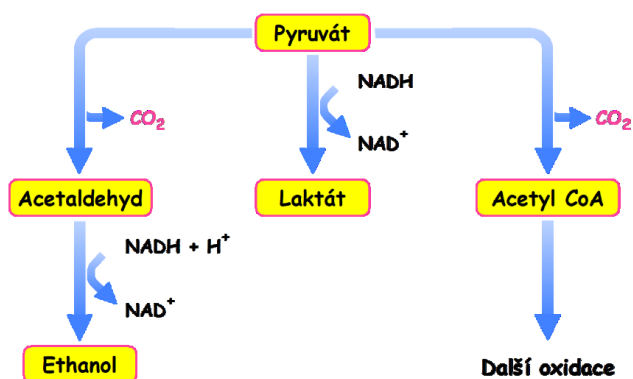
Obr. č. 11: Dehydrogenace [63]



Obr. č. 12: Tvorba pyruvátu [63]

Pyruvát je prekurzorová molekula pro:

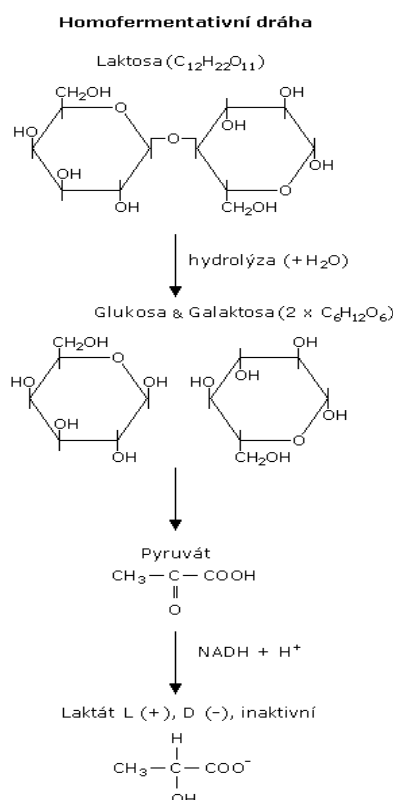
- Fermentaci kyseliny mléčné (anaerobní dýchání)
- Alkoholové kvašení
- Aerobní dýchání (cyklus kyseliny trikarboxylové – Krebsův cyklus) (viz Obrázek 13) [61,62]



Obr. č. 13: Využití pyruvátu v dalších reakcích [63]

3.1.1 Homofermentativní mléčné kvašení

Pro homofermentativní kvašení jsou typické bakterie rodu *Streptococcus*, *Lactococcus* a některé laktobacily, které v průběhu glykolýzy přeměňují glukózu na pyruvát, který je dále redukován na laktát pomocí redukováného kofaktoru. Reakce přeměny pyruvátu v laktát probíhá v anaerobním prostředí katalyzované NAD-laktátdehydrogenázou (viz Obrázek 15) [64,65,66].



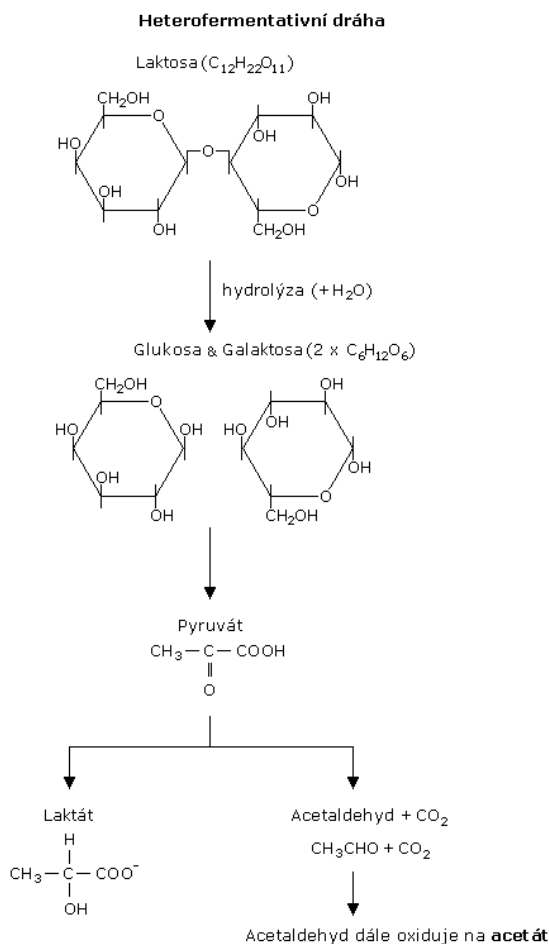
Obr. č. 15: Homofermentativní dráha [67]

3.1.2 Heterofermentativní mléčné kvašení

Pro heterofermentativní kvašení jsou typické bakterie rodu *Lactobacillus* a *Leuconostoc* které kromě kyseliny mléčné tvoří i jiné látky – etanol, kyselinu octovou, diacetyl aj.

Heterofermentativní bakterie neobsahují aldolázu, což je enzym štěpící hexóza-1,6-difosfát na dvě molekuly fosfotrióz. Z tohoto důvodu jsou oxidačním mechanismem převedeny hexózy v pentóza-5-fosfát a oxid uhličitý. Za přítomnosti anorganického fosfátu dochází k enzymatickému štěpení pentóta-5-fosfátu v acetylfosfát a glyceraldehyd-3-fosfát. Ze vzniklého acetylfosfátu vzniká za přítomnosti redukováného kofaktoru etanol. Glyceraldehyd-3-

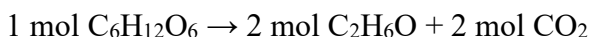
fosfát vzniklý ze štěpení pentza-5-fosfátu přechází do glykolýzy, kde je přeměněn v pyruvát a následně v laktát. Tímto procesem vzniká z hexóz ekvimolární množství etanolu, laktátu a oxidu uhličitého (viz Obrázek 16) [65,66].



Obr. č. 16: Heterofermentativní dráha [67]

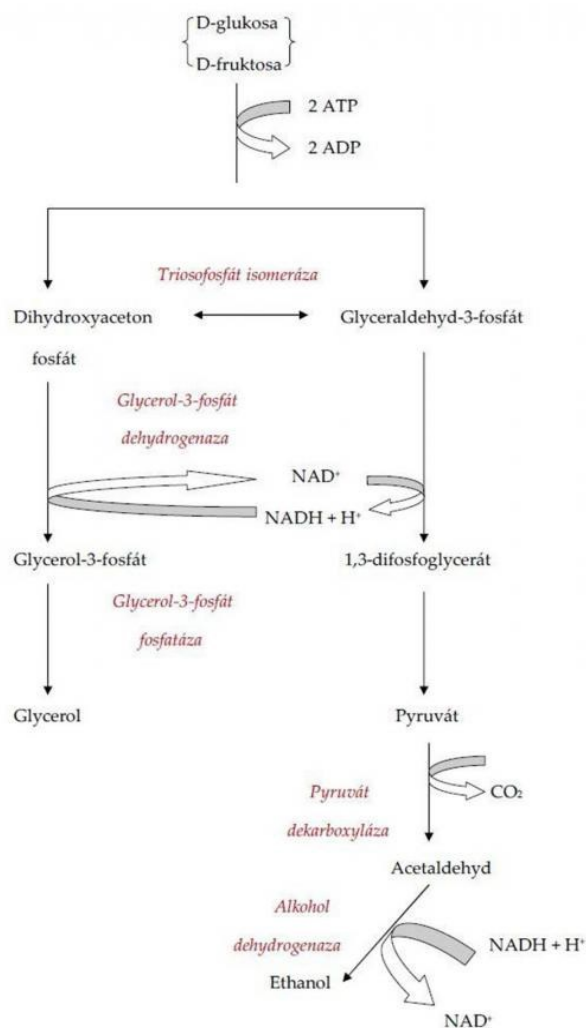
3.2 Alkoholová fermentace

Během alkoholové fermentace vzniká díky kvasinkám z cukrů alkohol + vedlejší produkty. Nejdůležitějším krokem je přeměna glukózy na etanol a oxidu uhličitého.



Pokud vezmeme 100 g glukózy dojde nám pomocí alkoholové fermentace, teoreticky, ke vzniku 51,11 g etanolu a 48,89 g oxidu uhličitého. Množství etanolu ovšem není reálné, protože vznikají další produkty, jako je glycerol, acetaldehyd, sukcinát, kyselina pyrohroznová. V závěru se tedy dostaneme na hodnotu 47–48 g etanolu [68].

Během procesu glykolýzy probíhá přeměna glukózy na etanol. Enzymy hexokináza, izomeráza a fosfoglukokináza a dvě jednotky ATP mají za následek transformaci fruktózy-1,6-difosfátu, která je pomocí aldolázy katalyzována na glyceraldehyd-3-fosfát a dihydroxyacetonfosfát, který je pomocí triozafosfatisomerázy přeměněn na glyceraldehyd-3-fosfát. Každý glyceraldehyd-3-fosfát následně vstupuje samostatně do nadcházejících reakcí. Glyceraldehyd-3-fosfát je za pomoci glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenázy dehydrogenován na 1,3-difosfoglycerát a následně z NAD^+ vzniká $\text{NADH} + \text{H}^+$. Aktivita enzymu fosfoglycerát-kinázy má za příčinu, že je 1,3-difosfoglycerát defosforylován za vzniku ATP a 3-fosfoglycerátu. 3-fosfoglycerát je pomocí enzymu fosfoglyceromutáza přeměněn na 2-fosfoglycerát. Díky enoláze je 2-fosfoglycerát dále dehydrován na fosfoenolpyruvát. 2-fosfoglycerát je pomocí pyruvátkinázy defosforylován za vzniku ATP a pyruvátu. V závěrečném kroku je pomocí enzymu pyruvát-dekarboxylázy pyruvát přeměněn na acetaldehyd a ten je enzymem alkoholdehydrogenázy transformován na výsledný etanol (viz Obrázek 17) [68].



Obr. č. 17: Alkoholová fermentace [69]

4 BIOTECHNOLOGICKÉ VYUŽITÍ SYROVÁTKY

4.1 Etanol

Sýrová syrovátka, hlavní mléčný vedlejší produkt, je stále více uznávána jako zdroj mnoha bioaktivních hodnotných sloučenin. Nicméně, nejhojnější složkou syrovátky je laktóza, což představuje významný environmentální problém. Vzhledem ke generovanému přebytku laktózy je jeho převedení na bioetanol již dlouho považováno za možné řešení bioremediace syrovátky. Zpracování syrovátky fermentací laktózy na etanol dostalo dosud významné pozornosti a vyvinuly se různé rozsáhlé postupy. Několik palíren vyrábějících etanol ze syrovátky jsou v komerčním provozu v Irsku, USA a zejména na Novém Zélandu, kde 50 % syrovátky ze sýra se používá k výrobě etanolu. Produkce etanolu z nekoncentrované sýrové syrovátky není obecně ekonomicky proveditelná, protože množství získaného etanolu dosahuje pouze asi 2 %, čímž je destilační proces příliš nákladný. Bylo vybráno několik kmenů, které jsou schopné fermentovat koncentrované roztoky laktózy a vyrábět etanol s více než 90% účinností konverze. Náklady jsou výrazně sníženy zvýšením koncentrace laktózy na 100-120 g [70,71].

Mnoho mikroorganismů není schopno přímo přeměnit laktózu na etanol. Proto je nutná enzymatická předběžná úprava s β -galaktosidázou. Problém fermentace enzymatickou předběžnou úpravou spočívá v tom, že mikroorganismy metabolizují první glukózu, místo galaktózy, která je obtížněji metabolizována. Následkem toho poklesne výtěžek fermentace. Omezení růstu kvůli inhibičnímu účinku etanolu na růst *Kluyveromyces marxianus* se vyskytuje při koncentraci přibližně 45-95 g etanolu/dm³ v závislosti na době expozice. Nejběžnějším substrátem kvasinkových kmenů fermentujících laktózu je ultrafiltrovaný syrovátkový permeát [72].

Přestože jsou kvasinky, které aerobně asimilují laktózu rozšířené, ty, které fermentují laktózu, jsou spíše vzácné, například *K. lactis*, *K. marxianus* a *Candida pseudotropicalis*. To, že je syrovátka brána jako odpadní produkt, pro ni představuje výhodu nad potravinářskými fermentujícími surovinami, jako je kukuřice pro výrobu etanolu. Roční produkce syrovátky představuje 160 milionů tun, což je 8 milionů tun laktózy. Množství laktózy dostupné pro výrobu etanolu může činit až 4 miliony tun ročně, což by vzhledem k efektivitě konverze 85 % mohlo dát vznik přibližně 2,3 milionů m³ etanolu. To je 3,5 % z celkové světové produkce etanolu v roce 2008, která byla 65 milionů m³ [71].

4.2 Bioplyn

Syrovátka může být použita jako primární nebo společný substrát pro výrobu biometanu a biovodíku. Digesce je atraktivní alternativa při nakládání s odpady vznikajícími v zemědělském průmyslu, neboť zpracovává odpad a také vyrábí bioplyn, který lze použít při výrobě elektřiny, což má za následek jak environmentální, tak i ekonomický přínos [73].

4.3 Biomasa

Syrovátka právě přechází z odpadového zpracování mléka na obnovitelnou surovinu v biotechnologii pro výrobu jednobuněčných proteinů, bioetanolu nebo ethylacetátu jako ekonomické alternativy. Převedení cukru ze syrovátky na ethylacetát vyžaduje kvasnou biomasu jako biokatalyzátor. Vysoká koncentrace buněk vede k rychlé syntéze esterů, ale růst biomasy znamená spotřebu cukru na úkor produkce esterů. Efektivní a nákladově úsporná výroba biomasy je tedy praktickým požadavkem [74,75].

Několik aerobních růstových testů bylo provedeno s kvasinkami *K. marxianus*, které jsou silný producent ethylacetátu, v syrovátkových médiích doplněných různými zdroji dusíku [75].

4.4 Polysacharidy a aminokyseliny

Syrovátka je dobrým zdrojem pro produkci polysacharidů, jako je xanthanová guma, pomocí *Xanthomonas campestris*, kde jako substrát pro fermentaci je použita hydrolyzovaná laktóza. Kromě toho se mléčný cukr používá i k výrobě exopolysacharidů, jako jsou dextransy, za použití kmene *Leuconostoc mesenteroides* a biopolymerů, jako je poly- β -hydroxybutyrát za použití *Azotobacter chroococcum* [76].

Brevibacterium lactofermentum a *Escherichia coli* jsou využívány při výrobě aminokyselin z hydrolyzovaného syrovátkového permeátu, konkrétně při přípravě extracelulárně akumulovaného lyzinu a treoninu [4].

4.5 Butanol

Butanol – alkohol se čtyřmi uhlíky, je důležitým materiálem pro syntézu nejrůznějších chemických produktů a účinného biopaliva s vlastnostmi výrazně lepšími, než jsou vlastnosti etanolu. V současné době je butanol chemicky syntetizován pro průmyslové využití a velká

část výzkumu je založena na fermentaci lignocelulózové biomasy. Syrovátka je jedním z nejvíce studovaných potravinových kapalných odpadů pro výrobu butanolu, ale jen několik málo mikroorganismů má schopnost produkovat izobutanol, zejména kvasinky produkující etanol [77].

4.6 Kyseliny

Fermentací syrovátkových produktů nebo syrovátky můžou být vyrobeny různé organické kyseliny – octová, propionová, mléčná, jantarová aj. [76].

- Kyselina propionová působí nejen jako prekurzor při výrobě alkoholu, ale také jako antifungální činidlo v potravinách jako meziprodukt při bioplastické syntéze, rozpouštědlo ve farmaceutickém průmyslu.
- Kyselina octová může být konvertována na etanol za použití jednoduchých katalytických procesů.
- Kyselina mléčná vzniká pomocí syrovátky, která představuje médium pro bakterie mléčného kvašení (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*) [77]

4.7 Jedlé fólie a nátěry ze syrovátkových proteinů

Při použití biotechnologických procesů (fermentace a enzymatické hydrolýzy) může být syrovátka využita k výrobě krmiv, bioproteinů, prebiotik, bioaktivních peptidů a mnoha dalších. Syrovátkové bílkoviny díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem vedly k tomu, že tento produkt je vynikající složkou pro začlenění do potravinových produktů. Na základě studií se prokázalo, že syrovátkový protein může být použit jako činidlo – emulgační, zahusťovací, což vede k výrobě výrobků požadovanými a podobnými vlastnostmi ve srovnání s výrobky vyráběnými s klasickými složkami. Studium technologických modifikací proteinů při vývoji nových produktů byla zjištěna možnost aplikace syrovátkových proteinů jako potravinové složky – jedlé fólie, povlaky, hydrogely a nanočástice. Kromě toho jsou syrovátkové bílkoviny důležitými zdroji bioaktivních peptidů neboli sekvenčních aminokyselin, které podporují pozitivní vliv na lidské tělo [78,79].

Mezi materiály používající se k pokrytí a ochraně potravin, tím i k prodloužení skladovatelnosti lze použít potravinových filmů a povlaků. Tyto materiály lze s potravinami konzumovat s dalším nebo bez dalšího odstranění. Jedlé fólie a povlaky mohou nahradit a zpevnit přírodní vrstvy a zabránit ztrátě vlhkosti a důležitých komponentů. Navíc filmy a povlaky

mohou zajistit povrchovou sterilitu a umožnit řízenou výměnu důležitých plynů. Mezi povlaky a fóliemi neexistují ve složení materiálu žádné základní rozdíly, jediný rozdíl mezi fóliemi a povlaky je tloušťka. Potravinové povlaky se aplikují na materiál v kapalné formě, ponořením do roztoku polymeru. Jedlé fólie jsou nejdříve vylisovány jako pevné listy a poté aplikovány jako obal na výrobek [78,79].

Syrovátková bílkovina, považována za vedlejší produkt, se stala klíčovou složkou potravinářského průmyslu. Syrovátkový protein může svým potenciálem vytvářet průhledné fólie a povlaky, mající lepší mechanické a bariérové vlastnosti než filmy na bázi polysacharidů. Avšak jedlé fólie a nátěry ze syrovátkových proteinů představují určité omezení vzhledem k jejich mechanickým vlastnostem, jsou vyžadovány změkčovadla – sorbitol, glycerol, aby se zlepšila odolnost vůči přenosu vlhkosti a zvýšila se značně pružnost. Filmy a nátěry na bázi syrovátkových bílkovin, jsou-li ve směsi s vhodnými změkčovadly, nabízejí potenciální technologii pro vývoj nových ekologicky účinných obalových produktů [78,79].

ZÁVĚR

Účelem této bakalářské práce bylo seznámit se s kvasinkami *Kluyveromyces lactis* a *marxianus* a jejich využitím při fermentaci syrovátky. Syrovátka je produkována v obrovském množství a je zapotřebí jí dále zpracovávat, aby nedocházelo k velkému zatížení ekosystému. Oba druhy kvasinek jsou schopny metabolizovat laktózu a vytvářet etanol, proto je jedna z možností, jak využít syrovátku, fermentace.

Využití syrovátky v potravinářství a biotechnologických procesech je různorodé. Syrovátka je v potravinářských produktech žádoucí z důvodů, jako je minimální obsah tuku, vysoký obsah bílkovin, laktózy, minerálních látek a vitamínů. Syrovátka je využívána při výrobě nápojů, syrovátkových sýrů, při výrobě pečiva, v masném průmyslu, při výrobě jogurtů a zmrzlin, v kojenecké výživě nebo v produktech s redukováným obsahem tuku.

Biotechnologické využití syrovátky zahrnuje získávání etanolu, bioplynu, využití při tvorbě biomasy, výroby polysacharidů a aminokyselin, butanolu, kyselin a jedlých fólií a nátěrů ze syrovátkových proteinů.

Syrovátka v dnešní době už tedy není využívána pouze ke krmným účelům pro zvířata, ale i pro lidskou výživu. Produkce sýrů neustále roste, a proto bude její zpracování vždy aktuální. Touto bakalářskou prací jsem potvrdil, že i když byla kdysi brána jako vedlejší produkt, dnes je velmi důležitou surovinou v potravinářském i biotechnologickém zpracování a její popularita bude čím dál tím větší díky pozitivním účinkům pro lidské tělo.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Sýrašství. Kiwi.mendelu [online]. Brno: Mendelova univerzita, 2018 [cit. 2018-05-08]. Dostupné: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=2074&typ=html
- [2] SISO, MI González. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. *Biore-source Technology*, 1996, 57.1: 1-11.
- [3] KRÓLCZYK, Jolanta B., et al. Use of Whey and Whey Preparations in the Food Industry—a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2016, 66.3: 157-165
- [4] SUKOVÁ, Irena. *Syrovátka v potravinářství*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 60 s. 2006. Potravinářské informace. ISBN 80-7271-173-3
- [5] ŠTĚTINA, Jiří. Využití membránových procesů při zpracování syrovátky. *CZEMP* [online]. Pardubice: VŠCHT, 2013 [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <http://www.czemp.cz/sites/default/files/clanek/324/prilohy/mpprizpracovanisyrovatky.pdf>
- [6] STRZAŁKOWSKA, Nina; JASIŃSKA, Artur Jóźwik; JÓŹWIK, Artur. Physico-chemical properties of lactose, reasons for and effects of its intolerance in humans—a review. *Animal Science Papers and Reports*, 2018, 36.1: 21-31
- [7] SCHUCK, Pierre, et al. Recent advances in spray drying relevant to the dairy industry: A comprehensive critical review. *Drying Technology*, 2016, 34.15: 1773-1790
- [8] Přírodní látky: Sacharidy. *Studium biochemie* [online]. Praha: KUDCH, PřF UK v Praze, 2017 [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: http://www.studiumbiochemie.cz/prirodni_latky.html
- [9] CARPIN, Mélanie, et al. Caking of lactose: A critical review. *Trends in Food Science & Technology*, 2016, 53: 1-12
- [10] HUPPERTZ, Thom; GAZI, Inge. Lactose in dairy ingredients: Effect on processing and storage stability¹. *Journal of dairy science*, 2016, 99.8: 6842-6851
- [11] FOX, P, ed., MCSWEENEY, P. L. H. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. London: Blackie Academic & Professional, 1998. XIV, 478 s. ISBN:0412720000
- [12] ADAM, Ana C.; RUBIO-TEXEIRA, Marta; POLAINA, Julio. Lactose: the milk sugar from a biotechnological perspective. *BFSN*, 2005, 44.7-8: 553-557
- [13] WILSON, Janice. Milk intolerance: Lactose intolerance and cow's milk protein allergy. *Newborn and infant nursing reviews*, 2005, 5.4: 203-207

- [14] WARD, Loren S. *Whey Proteins: An introduction to whey protein*. Minnesota: Nutrition and food science, 2008, 66 s. ISBN 978-0-557-01438-5
- [15] KERI MARSHALL, N. D. Therapeutic applications of whey protein. *Alternative medicine review*, 2004, 9.2: 136-156
- [16] PERMYAKOV, Eugene A.; BERLINER, Lawrence J. α -Lactalbumin: structure and function. *FEBS letters*, 2000, 473.3: 269-274
- [17] VAN CALCAR, Sandra C.; NEY, Denise M. Food products made with glycomacropptide, a low-phenylalanine whey protein, provide a new alternative to amino acid-based medical foods for nutrition management of phenylketonuria. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 2012, 112.8: 1201-1210
- [18] SHARMA, Rajan, et al. Chemical and functional properties of glycomacropptide (GMP) and its role in the detection of cheese whey adulteration in milk: a review. *Dairy science & technology*, 2013, 93.1: 21-43
- [19] Whey Protein Components. *WheyOfLive* [online]. Canada: Whey Protein Institute, 2018 [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <http://www.wheyproteininstitute.org/facts/howwheyismade/wheyproteincomponents>
- [20] *An Introduction to Biological Membranes*. Elsevier, 2016. ISBN 9780444637727. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444637727000142>
- [21] GRIFFITHS, M. W. The microbiological safety of raw milk. In: *Improving the Safety and Quality of Milk: Milk Production and Processing*. Canada: University of Guelph, 2010. p. 27-63
- [22] PAN, Maomao, et al. Separation of lactoperoxidase from bovine whey milk by cation exchange composite cryogel embedded macroporous cellulose beads. *Separation and Purification Technology*, 2015, 147: 132-138
- [23] LI, Quanyang; ZHAO, Zhengtao. Interaction between lactoferrin and whey proteins and its influence on the heat-induced gelation of whey proteins. *Food Chemistry*, 2018, 252: 92-98
- [24] VASEY, Christopher. *The whey prescription: The healing miracle in milk*. Vermont: Inner Traditions/Bear & Co, 2006, ISBN 9781594771279

- [25] ZADOW, J. G. *Whey and lactose processing*. New York: Springer Science & Business Media, 244 s, 2012. ISBN 9401128944
- [26] FRANKOWSKI K. M., MIRACLE R. E. a DRAKE M. A., 2014: The role of sodium in the salty taste of permeate. *Journal of Dairy Science*. 97 (9): 5356–5370
- [27] ŠUSTOVÁ, Květoslava; SÝKORA, Vladimír. Brno: *Mlékárenské technologie*. Mendelova univerzita, 2013. ISBN: 978-80-7375-704-5
- [28] John T Pinto, Janos Zempleni; Riboflavin, *Advances in Nutrition*, Volume 7, Issue 5, 1 September 2016, Pages 973–975
- [29] Riboflavin. *National Institutes of Health: Office of Dietary Supplements* [online]. Washington, D.C: National Institutes of Health, 2018 [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Riboflavin-HealthProfessional/>
- [30] JELIČIĆ, Irena; BOŽANIĆ, Rajka; TRATNIK, Ljubica. Whey based beverages-new generation of dairy products. *Mljekarstvo*, 2008, 58.3: 257-274
- [31] BERNSTEIN, Sheldon; TZENG, Chu H. *Commercial production of protein by the fermentation of acid and/or sweet whey*. Industrial Environmental Research Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency, 1977
- [32] FRESTEDT, Joy L., et al. A whey-protein supplement increases fat loss and spares lean muscle in obese subjects: a randomized human clinical study. *Nutrition & metabolism*, 2008, 5.1: 8
- [33] BUŇKA, František. *Mlékárenská technologie I*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013 258 s. ISBN 978-80-7454-254-1
- [34] WALSTRA, P. The syneresis of curd. In: *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Springer, Boston, MA, 1993. p. 141-191
- [35] BŘEZINA, Pavel a Jaroslav JELÍNEK. *Chemie a technologie mléka: určeno pro posl. fak. potravinářské a biochemické technologie*. Praha: Mezinárodní organizace novinářů, 1990, 166 s. ISBN 8070800755
- [36] FORMAN, Ladislav. *Mlékárenská technologie II*. Vyd. 2. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1996. ISBN 80-7080-250-2.
- [37] VARNAM, A. H., SUTHERLAND J. P., Milk and Milk Products. Technology, Chemistry and Microbiology. Maryland: Aspen Publishers, 2001, 451 s. ISBN 0-8342-1955-7

- [38] Forman, L.; Mergl, M.; aj. Syrovátka – její využití v lidské výživě a ve výživě hospodářských zvířat, 1st ed.; TOMOS Praha: Praha, 1979
- [39] KRÓLCZYK, Jolanta B., et al. Use of Whey and Whey Preparations in the Food Industry—a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2016, 66.3: 157-165
- [40] KURMANN, Joseph A.; RASIC, Jeremija L.; KROGER, Manfred. *Encyclopedia of fermented fresh milk products: an international inventory of fermented milk, cream, buttermilk, whey, and related products*. Springer Science & Business Media, 1992
- [41] JENNESS, Robert, et al. *Fundamentals of dairy chemistry*. Springer Science & Business Media, 1988
- [42] THOM, Charles; FISK, Walter Warner. *The book of cheese*. Applewood Books, 2007
- [43] CARROLL, Ricki. *Home Cheese Making: Recipes for 75 Delicious Cheeses*. Storey Publishing, 2010.
- [44] Ricotta. In: *Foodandstyle* [online]. New York: Food & Style NY, 2018 [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <http://foodandstyle.com/homemade-ricotta/>
- [45] Giant Goat Cheese Fire Shuts Down Norway Tunnel. In: *Newsfeed time* [online]. Florida: Time Customer Service, 2013 [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <http://newsfeed.time.com/2013/01/23/giant-goat-cheese-fire-shuts-down-norway-tunnel/>
- [46] WRONKOWSKA, Małgorzata, et al. ACID whey concentrated by ultrafiltration a tool for modeling bread properties. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 61.1: 172-176
- [47] BENEŠOVÁ et. al., 2003: Odmaturuj z biologie. Didaktis, Brno, 224 s. ISBN 80-86285-67-7
- [48] PHILLIPS T., NOEVER D., 2011: Planets in a bottle – More about yeast. Databáze online [cit. 2011-11-9]. Dostupné na: <http://www.science.nasa.gov>
- [49] KURTZMAN, Cletus P.; FELL, Jack W. Yeast systematics and phylogeny—implications of molecular identification methods for studies in ecology. In: *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2006. p. 11-30.
- [50] DEAK, Tibor. *Handbook of food spoilage yeasts*. CRC press, 2007.
- [51] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ A., KUTKOVÁ M., 1961: Atlas kvasinek a kvasinovitých mikroorganismů. Státní nakladatelství technické literatury, Praha – Bratislava, 348 s

- [52] KLABAN, 2001: Svět mikrobů. Gaudeamus, Hradec Králové, 416 s. ISBN 80-7041687-4
- [53] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ A., 1990: Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov. Alfa, Bratislava, 699 s. ISBN 80-05-00644-6
- [54] JANDEROVÁ B., BENDO VÁ O., 1999: Úvod do biologie kvasinek. Nakladatelství Karolinum, Praha, 108 s. ISBN 80-7184-990-1
- [55] ŠILHÁNKOVÁ, L. MIKROBIOLOGIE PRO POTRAVINÁŘE. PRAHA, ACADEMIA, 2003. 363 s. ISBN 8-85605-71-6-2
- [56] VAN OUYEN, Albert JJ, et al. Heterologous protein production in the yeast *Kluyveromyces lactis*. *FEMS yeast research*, 2006, 6.3: 381-392
- [57] SIDENBERG, DEBORAH GAYLE; LACHANCE, MARC-ANDRE. Electrophoretic isoenzyme variation in *Kluyveromyces* populations and revision of *Kluyveromyces marxianus* (Hansen) van der Walt. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1986, 36.1: 94-102
- [58] FONSECA, Gustavo Graciano, et al. The yeast *Kluyveromyces marxianus* and its biotechnological potential. *Applied microbiology and biotechnology*, 2008, 79.3: 339-354
- [59] PESCUA, Micaela; DE VALDEZ, Graciela Font; MOZZI, Fernanda. Whey-derived valuable products obtained by microbial fermentation. *Applied microbiology and biotechnology*, 2015, 99.15: 6183-6196
- [60] BARRON, N., et al. Growth of a thermotolerant ethanol-producing strain of *Kluyveromyces marxianus* on cellobiose containing media. *Biotechnology letters*, 1994, 16.6: 625-630
- [61] Glycolysis. *University of Miami Department of Biology* [online]. Miami: G. Rob Burgess, 2000 [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <http://fig.cox.miami.edu/~csmallery/255/255atp/glycolysis.htm>
- [62] VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie. 2. oprav. vyd. Praha: Academia, 2002*, 192 s. ISBN 80-200-0600-1
- [63] Metabolismus sacharidů. In: *UPOL, Přírodovědecká fakulta* [online]. Olomouc: UPOL, 2017 [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <http://slideplayer.cz/slide/2893541>

- [64] SALMINEN, S., VON WRIGHT, A., OUWEHAND, A. Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Functional Aspects. 3. ed, New York, U.S.A. 2004. s. 633. ISBN 0-8247-5332-1
- [65] REDDY, G., ALTAF, M., NAVEENA, B.J., VENKATESHWAR, E., KUMAR, E.V. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation – A review. *Biotechnology Advances*, 2008, vol. 26, s. 22-34.
- [66] ŠILHÁNKOVÁ, L. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. 3. vyd. Praha, 2008. s. 364. ISBN 978-80-200-1703-1
- [67] Mléčné kvašení. In: *Zatamoko* [online]. Zatamoko mushroom, 2005 [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: http://zathamoko.cz/houby/teorie_j.php?q=old/teorie_j.php
- [68] (RIBÉREAU-GAYON aj., 2006) Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Donèche B., Lonvaud A., Handbook of Enology Volume 1 The Microbiology of Wine and Vinifications 2nd Edition, John Wiley & Sons, Ltd, 2006, ISBN: 978-0-470-01034-1.
- [69] Biochemie alkoholové fermentace. In: *Mendelova univerzita v Brně* [online]. Brno: Mendelu, 2018 [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=1186&typ=html
- [70] ZAFAR, Salman; OWAIS, Mohammad. Ethanol production from crude whey by *Kluyveromyces marxianus*. *Biochemical engineering journal*, 2006, 27.3: 295-298
- [71] GUIMARÃES, Pedro MR; TEIXEIRA, José A.; DOMINGUES, Lucília. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. *Biotechnology advances*, 2010, 28.3: 375-384
- [72] PLANT, A. BIOGAS; BAKERIES, DOUGH FROM. Utilization of By Products and Treatment of Waste in the Food Industry. 2007
- [73] ANTONELLI, Jhonatas, et al. Biogas production by the anaerobic digestion of whey. *Revista de Ciências Agrárias*, 2016, 39.3: 463-467
- [74] GRBA, Slobodan, et al. Selection of yeast strain *Kluyveromyces marxianus* for alcohol and biomass production on whey. *Chemical and biochemical engineering quarterly*, 2002, 16.1: 13-16.

- [75] LÖSER, Christian, et al. Efficient growth of *Kluyveromyces marxianus* biomass used as a biocatalyst in the sustainable production of ethyl acetate. *Energy, Sustainability and Society*, 2015, 5.1: 2
- [76] KASMI, Mariam. Biological Processes as Promoting Way for Both Treatment and Valorization of Dairy Industry Effluents. *Waste and Biomass Valorization*, 2016, 1-15
- [77] HEGDE, Swati; LODGE, Jeffery S.; TRABOLD, Thomas A. Characteristics of food processing wastes and their use in sustainable alcohol production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2018, 81: 510-523
- [78] DE CASTRO, Ruann Janser Soares, et al. Whey protein as a key component in food systems: Physicochemical properties, production technologies and applications. *Food Structure*, 2017
- [79] BASIAK, Ewelina; LENART, Andrzej; DEBEAUFORT, Frédéric. Effects of carbohydrate/protein ratio on the microstructure and the barrier and sorption properties of wheat starch–whey protein blend edible films. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97.3: 858-867

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ATP Adenosintrifosfát.

NAD Nikotinamidadenindinukleotid

NADH Nikotinamidadenindinukleotid – redukovaná forma

EMP Embden-Mayerhof-Parnasova dráha

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek č. 1: Vznik syrovátky.....	12
Obrázek č.2: Sýr Riccota.....	24
Obrázek č.3: Sýr Mysost.....	24
Obrázek č.4: První fosforylace.....	31
Obrázek č.5: Izomerace.....	31
Obrázek č.6: Druhá fosforylace.....	32
Obrázek č.7: Vznik dvou trióza fosfátů.....	32
Obrázek č.8: Izomerace.....	33
Obrázek č.9: Tvorba fosforylované sloučeniny.....	33
Obrázek č.10: Přesun fosfátového zbytku.....	33
Obrázek č.11: Dehydrogenace.....	34
Obrázek č.12: Tvorba pyruvátu.....	34
Obrázek č.13: Využití pyruvátu v dalších reakcích.....	34
Obrázek č.15: Homofermentativní dráha.....	35
Obrázek č.16: Heterofermentativní dráha.....	36
Obrázek č.17: Alkoholová fermentace.....	37

SEZNAM TABULEK

Tabulka č.1: Obsah majoritních látek v syrovátce.....	11
Tabulka č.2: Obsah minoritních látek v syrovátce.....	11
Tabulka č.3: Obsah vitamínů v sušené syrovátce.....	17