



**Mikrobiologie sýrů ošetřených bioaktivními látkami za
účelem prodloužení jejich trvanlivosti**
Diplomová práce

Vedoucí práce:
Ing. Libor Kalhotka, Ph.D.

Vypracovala:
Bc. Barbora Nedělová

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: **Mikrobiologie sýrů ošetřených bioaktivními látkami za účelem prodloužení jejich trvanlivosti** vypracoval/a samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....
podpis

Poděkování

Touto cestou bych ráda poděkovala Ing. Liboru Kalhotkovi, Ph.D. za odbornou pomoc, cenné rady, trpělivost a čas, který mi věnoval při psaní této diplomové práce. Mé poděkování patří také celému Ústavu agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin za poskytnuté rady a pomoc při mikrobiologických analýzách. V poslední řadě věnuji obrovské poděkování mé rodině za psychickou a finanční podporu během celé doby studia na Mendelově univerzitě.

ABSTRAKT

Teoretická část práce je zaměřená na výrobu, rozdělení, vady sýrů z kravského mléka, jejich význam ve výživě. Dále jsou zde popsány významné druhy prospěšných i patogenních mikroorganismů a boj proti nežádoucím mikroorganismům. V poslední části literární rešerše jsou charakterizovány vybrané skupiny bioaktivních látek. Praktická část diplomové práce se zabývá mikrobiologickým rozbořem čerstvých sýrů ošetřených přírodními látkami a jejich vlivem na trvanlivost. V rámci mikrobiologické analýzy byly stanoveny vybrané skupiny mikroorganismů – celkový počet mikroorganismů, bakterie mléčného kvašení, psychrotrofní mikroorganismy, koliformní bakterie, enterokoky, plísně a kvasinky. Vzorke čerstvých sýrů byly ošetřeny extraktem z máty pepřné (*Mentha piperita* L.), pelyňku estragonu (*Artemisia dracunculus* L.) a dýňovým olejem. Následně byly zabaleny v atmosféře volné, obsahující CO₂ nebo N₂. Z výsledku bylo zjištěno, že při skladovací teplotě 8 °C použité přírodní látky ani atmosféry nemají vliv na trvanlivost čerstvých sýrů.

Klíčová slova:

čerstvé sýry, skupiny mikroorganismů, atmosféra, přírodní látky, ošetření

ABSTRACT

The theoretical part is focused on the production, distribution, and defects of cheese made from cow's milk, and its importance in nutrition. There are also described important species of beneficial and pathogenic microorganisms as well as the fight against undesirable microorganisms. In the last part of the literature review there are characteristics of selected groups of bioactive substances. The practical part of the thesis deals with analysis of microbiological fresh cheeses treated with natural substances due to their durability. Within microbiological analysis were determined selected groups of microorganisms - total number of microorganisms, lactic acid bacteria, psychrotrophic microorganisms, coliforms, enterococci, fungi and yeasts. Samples of fresh cheeses were treated with an extract of peppermint (*Mentha piperita L.*), mugwort tarragon (*Artemisia dracunculus L.*) and pumpkin seed oil. Subsequently, they were packed in an atmosphere free, containing CO₂ or N₂. The results showed that at a storage temperature of 8 ° C neither the used natural raw materials nor the atmosphere affects the shelf life of fresh cheeses.

Key words:

fresh cheese, groups of microorganisms, atmosphere, natural substances, durability

OBSAH

1 ÚVOD	10
2 CÍL PRÁCE.....	11
3 LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	12
3.1 Mléko	12
3.1.1 Požadavky na jakost syrového kravského mléka dle platné legislativy.....	12
3.1.2. Mikrobiologické požadavky na syrové mléko	12
3.1.2 Technologicky významné vlastnosti mléka	13
3.2 Sýr a jeho výroba.....	15
3.2.1 Sýr	15
3.2.2 Výroba sýrů	15
3.3 Rozdělení sýrů.....	16
3.4 Sýr a jeho význam ve výživě.....	18
3.5 Mikroflóra sýrů	19
3.6 Sýrařské kultury	19
3.6.1 Kultura pro sýry s nízkodohřívanou sýřeninou	20
3.6.2 Kultura pro sýry zrající pod mazem	20
3.6.3 Kultura propionového kvašení	21
3.6.4 Plísňové kultury.....	21
3.7 Mikrobiální kontaminanty sýrů.....	21
3.7.1 Koliformní bakterie	21
3.7.2 Termorezistentní mikroorganismy	23
3.7.3 Psychrotrofní mikroorganismy.....	25
3.7.4 Kvasinky a plísně	26
3.7.5 Toxiny	27
3.7.6 Mikrobiální původci alimentárních infekcí a intoxikací.....	27
3.7.7 Biogenní aminy v sýrech.....	30
3.8 Vady sýrů	31
3.9 Boj proti nežádoucím mikroorganismům.....	31

3.10 Bioaktivní látky	32
3.10.1 Karotenoidy	33
3.10.2 Fytosteriny	33
3.10.3 Saponiny	34
3.10.4 Fenolické kyseliny	34
3.10.5 Flavonoidy	34
3.10.6 Fytoestrogeny	34
3.10.7 Inhibitory proteázy	35
3.10.8 Glukosinoláty	35
3.10.9 Sulfidy	35
3.10.10 Monoterpeny	36
3.10.11 Charakterizace rostlinného materiálu použitého k ošetření sýrů.....	36
4 MATERIÁL A METODIKA	38
4.1 Charakteristika vzorků	38
4.2 Laboratorní pomůcky	38
4.3 Odběr a očkování vzorků	38
4.4 Živné půdy.....	39
4.4.1 Složení živných půd	39
4.5 Výpočet	42
4.6 Statistické zpracování dat.....	43
5 VÝSLEDKY A DISKUZE	44
5.1 Celkové počty mikroorganismů	44
5.2 Bakterie mléčného kvašení.....	48
5.3 Koliformní bakterie	51
5.4 Enterokoky	54
5.5 Psychrotrofní mikroorganismy.....	57
5.6 Plísňe a kvasinky	60
6 ZÁVĚR.....	64

7 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY	66
8 SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ.....	72
9 SEZNAM ZKRATEK.....	75
10 PŘÍLOHY.....	76

ÚVOD

Sýry patří díky svému složení k nejhodnotnějším potravinám, z hlediska nutričního jsou plnohodnotnými výrobky, jelikož obsahují esenciální aminokyseliny, které si organismus neumí sám syntetizovat. Sýry obsahují i další významné látky důležité po stránce nutriční, a těmi jsou: bílkoviny, mléčný tuk, který je snadněji stravitelný pro lidský organismus, mléčný cukr, minerální látky, zejména vápník a fosfor, vitamíny rozpustné v tucích A a D i vitamíny skupiny B.

Sýr je mléčný výrobek získaný vysrážením mléčné bílkoviny z mléka působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel, oddělením podílu syrovátky a prokysáním.

Sýr a jeho výroba jsou neoddělitelně spojeny s lidskými dějinami. Sýr se vyrábí z mléka a to od okamžiku, kdy člověk před mnoha tisíci lety začal chovat kozy, ovce a krávy. Tento produkt nás spojuje s dobou již dávnou minulou, kdy člověk vedl kočovný život. Sýr se vyrábí na téměř na celém světě. První sýr, který vznikl u nás, byl Schwarzenberský sýr s pikantní chutí. Dnešní sortiment sýrů představuje tisíce tržních druhů mnoha různých typů. Sýr může mít různou chuť – smetanovou, máslovou, bohatou a plnou, může být jemný, či naopak ostrý, suchý, slaný a drobivý. Vůně se může pohybovat od jemně plesnivé až po nepříjemně páchnoucí a kůra od drsné a nepoživatelné po tenkou a jemnou. Originální druhy sýrů jsou stále spojeny se zemí původu. V řadě zemí je označení druhu chráněno, zejména v Itálii a Francii.

Sýry jsou lahodné a chutné výrobky z mléka, výrobky s opravdu tou nejvyšší přidanou hodnotou, kterou lze zhodnocením mléka získat. Spotřebitelé si je nekupují vždy pouze jako potravinu určenou k běžné konzumaci, ale jejich konzumace může být pro některé i skutečným chuťovým zážitkem, slavnostním aktem, a v případě některých národů, např. Francouzů, doslova i životním stylem. Výroba jednotlivých druhů sýrů je často velmi složitá, obzvláště těch afinovaných, a pak také těch, jejichž zrání trvá několik měsíců až roků.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo nastudovat dostupnou recentní literaturu a zpracovat literární rešerši shrnující poznatky o mikrobiologii sýrů ošetřených bioaktivními látkami. Literární část práce je zaměřená na mikroorganismy důležité z technologického hlediska, možné mikrobiální kontaminanty v sýrech a také na opatření proti nežádoucím mikroorganismům s přihlédnutím na využití bioaktivních látek. Praktická část je věnována stanovení vybraných skupin mikroorganismů ve vzorcích čerstvých sýrů. Získané data a výsledky porovnat s údaji v literatuře a vyhodnotit pomocí vhodných statistických metod.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Mléko

Mléko je sekret mléčné žlázy savců určený k prvotní výživě jejich mláďat. Jedná se o komplexní potravinu obsahující všechny nutričně významné látky. Ve výživě člověka je významné především jako zdroj vápníku. Pro lidskou výživu se využívá především mléko kravské, v menší míře potom mléko kozí, ovčí a buvolí (KADLEC a kol., 2012).

3.1.1 Požadavky na jakost syrového kravského mléka dle platné legislativy

Hodnocení jakosti syrového kravského mléka dodávaného k mlékárenskému ošetření a zpracování je předmětem trvalého zájmu a je nedílnou součástí mlékárenských aktivit.

V Nařízení EP a Rady (ES) 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, jsou stanoveny limity pro celkový počet mikroorganismů a somatické buňky. Provozovatelé potravinářských podniků musí zavést postupy, aby syrové kravské mléko splňovalo následující kritéria:

- obsah mikroorganismů při 30°C (v 1 ml) \leq 100 000
- obsah somatických buněk (v 1 ml) \leq 400 000

Dále musí provozovatelé potravinářských podniků zavést postupy, jimiž zajistí, že syrové mléko nebude uvedeno na trh, pokud:

- obsahuje rezidua antibiotik v množství, které pro jakoukoli z látek přesahuje maximální hodnoty (MRL) stanovené platnými předpisy,
- celkový obsah reziduí všech antibiotik překračuje jakoukoli z maximálních povolených hodnot.

3.1.2. Mikrobiologické požadavky na syrové mléko

Vstupní mikrobiologická kvalita syrového mléka je velmi důležitým faktorem pro kvalitu finálních výrobků, pro jejich nutriční hodnotu a zabezpečení zdraví lidské populace (SEYDLOVÁ, 2010). Mikrobiální čistota patří mezi nejvýznamnější požadavky na jakost syrového mléka, protože má vliv jak na technologické vlastnosti suroviny, tak na trvanlivost.

Při mikrobiologickém hodnocení jsou sledovány společně s celkovým počtem mikroorganismů také následující skupiny mikroorganismů:

- Koliformní bakterie jako indikátor fekálního znečištění.
- Termorezistentní mikroorganismy, které mohou přežít pasteraci.

- Sporotvorné anaerobní bakterie, které ve formě spor přežívají pasteraci a následně zapříčiňují vady zrajících tvrdých sýrů a při nedostatečné sterilaci vady trvanlivého či kondenzovaného mléka.
- Psychrotrofní mikroorganismy, které se pomalu rozmnožují i při teplotách pod 10°C. Procesem pasterace dojde k jejich usmrcení, ale produkují termorezistentní proteázy a lipázy, které pak zhoršují technologické vlastnosti mléka a způsobují chuťové vady mléčných výrobků (KADLEC a kol., 2009).

3.1.2 Technologicky významné vlastnosti mléka

Kyselost

Kyselost je jedním z hlavních technologických ukazatelů.

Vyjadřuje se dvěma způsoby:

Aktivní kyselost – aktivita H^+ iontů (pH). Čerstvé mléko má pH v rozmezí 6,6 – 6,8. Tato hodnota přímo určuje vliv kyselosti na složky mléka (konformaci bílkovin, aktivitu enzymů apod.), ovšem ve slabě kyselé oblasti je poměrně málo citlivá na tvorbu kyselin mikroorganismy, protože mléko vykazuje výrazné pufrční vlastnosti s maximem při pH 5,5 (KADLEC a kol., 2009).

Titrační kyselost – spotřeba odměrného roztoku NaOH potřebná k neutralizaci mléka na fenolftalein (pH = 8,3). Vyjadřuje celkový obsah kyselých skupin v mléce a je proto citlivá na zvýšení obsahu kyseliny mléčné. Titrační kyselost představuje celkovou pufrční kapacitu v rozmezí od aktuální hodnoty pH do pH = 8,3. Používanou metodou ve střední Evropě je stanovení dle Soxhlet Henkela (SH), podle které titrační kyselost udává spotřebu 0,25 M NaOH na neutralizaci 100 ml mléka. Čerstvé neporušené mléko má titrační kyselost v rozmezí 6,8 – 7,2 dle SH (KADLEC a kol., 2012).

Syřitelnost a kysací schopnost mléka

Vyjadřují technologické vlastnosti mléka při výrobě sýrů, respektive fermentovaných mléčných výrobků (KADLEC a kol., 2009).

Syřitelnost je schopnost mléka srážet se syřidlem, která je důležitá nejen pro dosažení normované dávky syřidla, ale i pro jakost sýrů. Při posuzování syřitelnosti je důležité, aby sledovaná mléka měla stejnou kyselost. Zároveň se posuzuje i pevnost sýřeniny. Relativně delší doba srážení a pomalu se ztužující sýřenina poukazuje na závady ve složení mléka např. z důvodu mastitidy (TEPLÝ, 1985).

Faktory ovlivňující syřitelnost mléka:

- metabolické poruchy,
- změny v celkovém obsahu bílkovin, ve složení bílkovinného spektra,
- porušení mléka vodou,
- zvýšený počet somatických buněk (PSB) v mléce,
- přidavek mastitidního mléka (NAVRÁTILOVÁ, 2010).

Kysací schopnost mléka, jako základní znak jakosti mléka podle ČSN 57 0529, můžeme stanovit kysací zkouškou s jogurtovou kulturou Rx (Laktoflora, sbírkový kmen č.22).

Podle požadavků ČSN 57 0529 musí syrové mléko dosáhnout hodnoty minimálně 20 a výběrové mléko minimálně 30 (GAJDŮŠEK, 2003).

Faktory ovlivňující kysací schopnost mléka:

- výživa dojnic,
- metabolické poruchy - změněné složení a vlastnosti mléka,
- zvýšený obsah dusitanů a dusičnanů v mléce,
- přítomnost reziduí dezinfekčních látek,
- přirozené inhibiční látky v mléce pokud jsou přítomné ve vyšších koncentracích,
- přítomnost reziduí inhibičních látek,
- zvýšený počet somatických buněk (PSB) v mléce,
- vysoká kontaminace mléka mikroorganismy,
- ošetření mléka po nadojení (NAVRÁTILOVÁ, 2010).

Termostabilita

Jedná se o schopnost mléka, zejména kaseinu, zachovat si své původní koloidní vlastnosti při působení vysokých teplot. Udává se jako čas potřebný k dosažení počátku koagulace při určité teplotě, obvykle 140 °C nebo 120 °C podle předpokládaného tepelného ošetření (KADLEC a kol., 2009). Za těchto podmínek nedochází k denuraci kaseinu, ale v důsledku kombinovaného účinku Ca^{2+} a chemických reakcí mezi funkčními skupinami aminokyselin agregují kaseinové micely. Důležitým faktorem je aktivní kyselost mléka. Optimální termostabilitu má mléko při pH 6,5 - 6,6. Mléko s dobrou termostabilitou koaguluje při 140 °C (KADLEC a kol., 2012).

3.2 Sýr a jeho výroba

Sýry byly jak v minulosti, tak i v dnešní době nepostradatelnou složkou stravy. Velmi cenný je nejen vysoký podíl bílkovin (obsah bílkovin je zpravidla vyšší než v mase, z hlediska nutričního je nutné podtrhnout obsah esenciálních aminokyselin), ale i značný podíl vápníku, jehož množství se značně liší podle typu výrobku. Nezanedbatelný je i vliv snadno stravitelného tuku a v něm obsažených vitaminů rozpustných v tucích. Sýrařství dobře zhodnocuje mléko jako surovinu, bohatě rozšiřuje sortiment mléčných výrobků a chuťově významně obohacuje lidský jídelníček (JANŠTOVÁ, 2012).

3.2.1 Sýr

Sýry představují tradiční produkty, které člověk poznal před asi 8000 lety. Jsou to čerstvé nebo prozralé výrobky získané oddělením tekutiny (syrovátky) po koagulaci mléka s různou tučností. Sýry tedy obsahují základní složky sušiny mléka, především kasein a mléčný tuk. Do syrovátky přechází větší část vody, laktózy, syrovátkových bílkovin a část solí. Na výrobu 1 kg sýra je potřeba kolem 10 litrů mléka (KADLEC a kol., 2012). V současnosti se jedná především o sýry z kravského mléka, ale také se na našem trhu vyskytují sýry z mléka ovčího a kozího (ANDĚL, 2012).

Sýr je dle legislativy definován jako mléčný výrobek vyrobený vysrážením mléčné bílkoviny z mléka působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel, prokysáním a oddělením podílu syrovátky. Mléko pro většinu přírodních sýrů se sráží enzymově pomocí syřidla - sladké srážení, méně časté je kyselé srážení, které se využívá při výrobě např. olomouckých tvarůžků. Možné je uplatnit obojí srážení v různém poměru (DOSTÁLOVA, 2014).

Čerstvým sýrem se dle Vyhlášky Ministerstva zemědělství č.77/2003 Sb. ve znění pozdějších předpisů rozumí nezrající sýr tepelně neošetřený po prokysání.

3.2.2 Výroba sýrů

Vlastní výroba sýrů je složitý proces, ve kterém jsou kladeny vysoké technologické i hygienické nároky nejen na mléko, ale i na jednotlivé fáze výroby. Proces výroby sýrů vyžaduje dodržování následujících procesů – pasterace mléka, příprava mléka na srážení, srážení bílkovin mléka, zpracování sraženiny, formování, solení, ošetření a zrání sýrů.

Základem výroby sýrů je vysrážení mléčné bílkoviny, u většiny sýrů se jedná především o kaseinové bílkoviny. Tyto bílkoviny jsou v mléce uspořádány do kaseinové micely, což je složitá struktura s vysokou schopností hydratace. Kaseinová micela je z 94 % tvořena bílkoviny a 6 – 8 % tvoří malé ionty, hlavně Ca, Mg, fosfáty a citráty, které se souhrnně

označují jako koloidní kalcium fosfát (ŠUSTOVÁ, 2013). Srážení je způsobeno přidavkem enzymových syřidel (chymosin, pepsin) a kyselinou mléčnou, která se vytváří v průběhu prokysání mléka působením vhodných druhů bakterií mléčného kvašení a jiných potřebných mlékařských kultur. Vznikne tak gelovitá sraženina, která se nazývá sýřenina (koagulát), po její vhodné úpravě zahrnující rozkrájení a promíchání za vhodného tepelného režimu se vytvoří ze sýřeniny tvarohovina a je uvolněna syrovátka. Sirovátka je v další fázi oddělena (odfiltrována) a tvarohovina je následně tvarována. Nezrající sýry (čerstvé sýry a tvarohy) jsou expedovány. Zrající sýry zrají ve zrácích sklepech při vhodných teplotách a vlhkosti. Kulturní mikroorganismy využívají zbylou laktózu a svými enzymy způsobí podle druhu sýrů štěpení bílkovin i tuku. Tímto vzniká typická chuť a konzistence sýrů. Některé sýry porůstají vhodnou ušlechtilou plísní, nebo na jejich povrchu vzniká žádaný maz (ANDĚL, 2012).

3.3 Rozdělení sýrů

Rozdělení sýrů je velmi složitou záležitostí. Neexistuje žádný univerzální systém dělení. Většinou se používá dělení podle základních kroků v technologii výroby nebo podle konečných vlastností, eventuálně podle jejich využití ve výživě. Můžeme se setkat s různými schémata dělení sýrů, ale zařazení některých jednotlivých druhů sýrů může způsobovat potíže tím, že jejich parametry vyhovují několika skupinám, nebo naopak se k žádné skupině nehodí (PAVELKA, 1996). Vyhláška č. 77 Ministerstva zemědělství z roku 2003 rozděluje sýry do několika kategorií.

Na každém balení sýra musí být uvedeny základní hodnoty, zejména složení (obsah sušiny a tuku), hmotnost, trvanlivost, datum výroby nebo datum použitelnosti, dále pokud je nutné tak podmínky skladování, obsah přísad a případné další informační údaje důležité pro konzumenta (PAVELKA, 1996).

Tabulka 1. Rozdělení sýrů (Podle přílohy č. 2 k Vyhlášce Ministerstva zemědělství ČR č.77/2003 Sb. ve znění pozdějších předpisů)

Sýr	přírodní	nezrající termizovaný zrající zrající pod mazem zrající v celé hmotě s plísní na povrchu s plísní uvnitř hmoty dvouplísňový v solném nálevu, bílý extra tvrdý tvrdý polotvrdý poloměkký měkký
	tavený	nízkotučný (roztíratelný) vysokotučný (roztíratelný)
	syrovátkový	

Tabulka 2. Klasifikace přírodních sýrů podle konzistence ve vztahu k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra (Podle přílohy č. 2 k Vyhlášce Ministerstva zemědělství ČR č.77/2003 Sb. ve znění pozdějších předpisů)

Sýr	% VVTPH*)
extra tvrdý	méně než 47,0 včetně
tvrdý	47,0 až 54,9
polotvrdý	55,0 až 61,9
poloměkký	62,0 až 68,0 včetně
měkký	více než 68,0

*) VVTPH = voda v tukuprosté hmotě sýra

Tabulka 3. Klasifikace přírodních sýrů podle obsahu tuku v sušině (Podle přílohy č. 2 k Vyhlášce Ministerstva zemědělství ČR č.77/2003 Sb. ve znění pozdějších předpisů)

Sýr	Tuk v sušině*) (v % hmot.)
vysokotučný	více než 60,0 včetně
plnotučný	více než 45,0 včetně
polotučný	více než 25,0 včetně
nízkotučný	více než 10,0 včetně
odtučněný	méně než 10,0

*) Obsah tuku v sušině v procentech hmotnostních

3.4 Sýr a jeho význam ve výživě

Sýry jsou významným zdrojem řady důležitých živin, především bílkovin, zejména kaseinu. Obsah bílkovin v sýrech kolísá podle jejich druhu. V závislosti na obsahu sušiny a tuku se obsah bílkovin pohybuje od 6 do 30 %. Mléčné bílkoviny se řadí mezi plnohodnotné, jelikož obsahují veškeré esenciální aminokyseliny, které si lidský organismus neumí sám syntetizovat a musí je přijímat v potravě (ANDĚL, 2012). Mezi tyto aminokyseliny patří valin, leucin, izoleucin, lysin, threonin, methionin, fenylalanin, tryptofan a histidin. Jestliže některá z těchto aminokyselin ve stravě chybí, dochází po určité době k poruše růstu a úbytku na váze. Ze sýrů jsou tyto aminokyseliny pro tělo snadno přístupné, jelikož zráním sýrů nastává rozklad kaseinu a jednotlivé aminokyseliny jsou ve zralém sýru ve volné formě (KNĚZ, 1960).

Sýry obsahují také menší množství syrovátkových bílkovin (0,4 – 0,5 %) a laktózy (0,3 – 0,4 %) ve srovnání s ostatními mléčnými produkty. Další důležitou živinou je vápník. Obsah vápníku v sýrech závisí na obsahu sušiny a do určité míry i na použité technologii. V potravinových tabulkách se udává množství vápníku v rozmezí 1350 – 8940 mg/kg. Využitelnost vápníku z mléčných výrobků a sýrů je vyšší než z rostlinných zdrojů. Využitelnost vápníku v mléčných výrobcích zvyšuje přítomnost mléčných bílkovin, laktózy a volných aminokyselin. Sýry jsou také dobrým zdrojem většiny vitamínů, především vitamínů rozpustných v tucích A, D, E, K, a některých vitamínů skupiny B, zejména vitamínu B₂. Mléčný cukr je v sýrech obsažen jen v nepatrném množství, a proto jsou často tolerovány i nemocnými s laktózovou intolerancí. Kyselina mléčná, která vzniká během metabolismu laktózy, brzdí rozvoj nežádoucí mikroflóry v trávicím traktu, zejména v tlustém střevě a zvyšuje využitelnost vápníku. Velmi často diskutovanou složkou je mléčný tuk, jehož množství v sýrech je různorodé. Z hlediska kvalitativního složení mastných kyselin v triacylglycerolu (TAG)

obsahuje mléčný tuk relativně vyšší procento nasycených mastných kyselin, což limituje jeho postavení ve výživě. Proto je potřeba při jeho konzumaci současně přijímat zdroje nenasycených mastných kyselin – zejména zdroje kyseliny olejové a n-3 mastných kyselin: ořechy, ryby či olivový nebo řepkový olej. Vzhledem k vyššímu obsahu mastných kyselin s krátkým uhlíkovým řetězcem je mléčný tuk poměrně lehce stravitelný (ANDĚL, 2012).

3.5 Mikroflóra sýrů

Mikroflóra většiny přírodních sýrů je tvořena složitým komplexem, který se skládá z široké škály mikroorganismů, bakterií, plísní a kvasinek. Ty tvoří základní složku sýrů, nutnou jak k výrobě, tak ke zrání. Mikroflóra sýru se dělí do dvou hlavních skupin: primární a sekundární. Tyto dvě skupiny jsou odlišeny na základě toho, že primární (startovací) mikroflóra je zodpovědná za fermentaci mléčného cukru (laktózy) na kyselinu mléčnou během výroby sýrů a sekundární mikroflóra přispívá k rozvoji chuti a texturních vlastností během procesu zrání, a to buď přímo v důsledku její metabolické aktivity nebo prostřednictvím uvolňování enzymů do sýrové hmoty (SMIT, 2003).

3.6 Sýrařské kultury

Mikroorganismy jsou nezbytnou součástí všech přírodních druhů sýrů a hrají důležitou roli při výrobě sýrů i zrání (BERESFORD, 2001). Používané kultury při výrobě sýrů se obvykle dělí na primární kultury, které obsahují BMK a jsou používány především k produkci kyseliny mléčné z laktózy v počáteční fázi výroby sýrů a na mikroflóru sekundární, která je z hlediska taxonomického i funkčního velice variabilní a zahrnuje bakterie mléčného kvašení nezákysového původu (NSLAB - Non-starter Lactic Acid Bacteria), propionové bakterie, koryneformní bakterie, mikrokoky, stafylokoky, kvasinky a plísně. Tato sekundární mikroflóra hraje důležitou roli při zrání sýrů a významně přispívá k organoleptickým vlastnostem sýrů (KADLEC a kol., 2009).

Okyselení mléka je klíčovým krokem při výrobě sýrů. Okyselení je důležité pro vývoj chuti a textury, dále podporuje koagulaci a snížení pH, což vede k inhibici růstu patogenních mikroorganismů. Kyselina mléčná je produkována během fermentace laktózy vlivem startovacích kultur. Většina sýrů se dnes vyrábí z pečlivě vybraných startovacích kultur, u kterých můžeme předvídat požadující výsledky. *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* a *Lactobacillus delbrueckii* jsou hlavními druhy bakterií používaných při výrobě sýrů (FERNANDES, 2009).

3.6.1 Kultura pro sýry s nízkodohřívanou sýřeninou

Pro sýry holandského typu (eidam, gouda) se používá mezofilní kultura s proteolytickou aktivitou ve složení:

- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
- *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*
- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*

Pro sýry čedarového typu se používá speciální čedarová kultura, která se vyznačuje odolností vůči soli (6,5 %), velkou termorezistencí (60 °C, 30 minut), vyšší optimální teplotou (37 °C) a dobrou proteolytickou aktivitou, což jsou vlastnosti potřebné pro optimální průběh prokysávání mleté a solené sýřeniny. Používá se *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* jako základní kultury, na urychlení tvorby proteolýzy potom *Lactobacillus helveticus* (LUKÁŠOVÁ, 2001).

3.6.2 Kultura pro sýry zrající pod mazem

Mazové kultury používané pro zrání měkkých i polotvrdých sýrů s mazem na povrchu mohou obsahovat jednotlivé složky nebo směs velmi rozmanitého souboru mikroorganismů zahrnujícího koryneformní bakterie, grampozitivní koky a kvasinky (KADLEC a kol., 2009). Do této skupiny patří sýry romadur, dezertní, krkonošský pivní a jiné. Kromě základní mezofilní kultury bakterií mléčného kvašení se při jejich výrobě používá tzv. mazová kultura obsahující:

- *Brevibacterium linens* – svými extracelulárními proteolytickými enzymy způsobuje aerobní zrání
- *Micrococcus roseus* – podílí se na tvorbě typického aroma a chuti sýrů

a kvasinky:

- *Candida*
- *Kluyveromyces lactis*
- *Candida utilis*.

Kvasinky za přítomnosti kyslíku oxidují organické kyseliny, které vznikají při kvašení mléka a sýřeniny, čímž se odkyseluje povrch sýrů z počáteční kyselé hodnoty pH na hodnotu neutrální (GÖRNER, VALÍK, 2004).

3.6.3 Kultura propionového kvašení

Propionová kultura je tvořena bakteriemi rodu *Propionibacterium*, které produkují obrovské množství kyseliny propionové, kyseliny octové a oxidu uhličitého z laktózy a z laktátu, čímž vznikají v těstě sýrů pravidelná oka (KADLEC a kol., 2009). Tyto bakterie jsou náročné na kultivační média, proto se v mlékárně používají k přímému zaočkování do mléka. Používají se nejčastěji při výrobě sýru s vysokodohřívanou sýřeninou a s tvorbou ok v těstě (ementál). V ementálských sýrech žijí v symbióze s bakteriemi termofilního zákysu (LUKÁŠOVÁ, 2001).

3.6.4 Plísňové kultury

Plísňové kultury používané pro zrání plísňových sýrů obsahují plísně rodu *Penicillium*. Pro výrobu sýrů s bílou plísní na povrchu se používá plíseň *Penicillium camemberti*, která má výraznou proteolytickou i lipolytickou aktivitu a pro výrobu sýrů s plísní v těstě modrá plíseň *Penicillium roqueforti*, jelikož je méně náročná na přístup kyslíku a snáší koncentraci 4 - 5 % NaCl v hmotě sýra (KADLEC a kol., 2009, LUKÁŠOVÁ, 2001).

3.7 Mikrobiální kontaminanty sýrů

Ačkoli jsou sýry a fermentované výrobky považovány za bezpečné díky své vysoké kyselosti, stejně dochází k mikrobiální kontaminaci. Mezi nejčastější kontaminanty patří *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* a *Listeria monocytogenes*. Je zde také důkaz, že patogeny mohou přežít lépe v produktech vyrobených z pasterizovaného mléka vzhledem k inaktivaci antimikrobiálních sloučenin tepelným záhřevem. Marek et al. (2004) dokázali, že *E.coli O157:H7* přežije významně lépe v sýru čedar z pasterizovaného mléka než z čerstvého mléka (HEREDIA et al., 2009).

3.7.1 Koliformní bakterie

Náleží do čeledi *Enterobacteriaceae*. Jsou to gramnegativní, nesporotvorné tyčinky schopné růstu za aerobních nebo fakultativně anaerobních podmínek, fermentují laktózu s tvorbou plynu, kyselin a aldehydu během 48 h při teplotě 35 °C – 37 °C. Vykazují negativní test na cytochromoxidázu a produkují enzym zvaný β -galaktosidáza.

Do této skupiny patří zejména *Escherichia coli*, rody *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Serratia* a některé druhy rodu *Klebsiella* (KLABAN, 2005). Hrají významnou roli jako indikátory úrovně získávání mléka a jeho možné fekální kontaminace. Možnými zdroji kontaminace syrového mléka jsou hnůj, půda a fekálně znečištěná voda. Tyto mikroorganismy nepřežívají pasteraci, ale při sekundární kontaminaci mohou způsobit kažení mléčných

výrobků. Při počtech 10^7 KTJ/g mohou v důsledku tvorby plynu zapříčinit časné duření sýrů. Jejich přítomnost vede i k senzorickým vadám výrobků – slizovatění, hořká chuť, nepříjemný pach. U zrajících sýrů může docházet k tvorbě biogenních aminů např. tyraminu (NAVRÁTILOVÁ, 2012).

Rod *Escherichia coli*

Tato bakterie patří mezi nejvýznamnější koliformní bakterie, ale navíc je původcem velice závažných alimentárních onemocnění. Více informací je tedy uvedeno v kapitole o původcích alimentárních infekcí a intoxikací.

Rod *Enterobacter*

Patří mezi typické střevní bakterie a společně s *Escherichiemi* tvoří společenstva. Nejvíce se vyskytují ve střevním traktu, fekáliích, v kontaminované vodě, sekundárně i v mléce. Ze sacharidů vytváří plyny CO_2 a H_2 (GÖRNER, VALÍK, 2004, AMBROŽ, 1991).

Rod *Klebsiella*

Mikroorganismy vyskytující se především v trávicím traktu lidí a zvířat. Podílí se na kažení potravin, konkrétně druh *Klebsiella pneumoniae*, která je patogenní (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Rod *Proteus*

Jedná se o mikroorganismy, které se vyznačují silnými proteolytickými vlastnostmi. Vyskytují se nejčastěji v půdě, ve vodě a ve střevním traktu. Způsobují kažení potravin obsahujících bílkoviny. Oxidační deaminací aminokyselin se vytváří amoniak a ketokyseliny (GÖRNER, VALÍK, 2004, AMBROŽ, 1991).

Rod *Serratia*

Tento rod zahrnuje mikroorganismy rostoucí při teplotě 12 – 36 °C. Nachází se na rostlinách, v půdě a ve střevním traktu hmyzu. Rovněž se podílí na kažení potravin (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Rod *Citrobacter*

Jedná se o podmíněně patogenní mikroorganismus, který způsobuje střevní onemocnění zejména u dětí, rekonvalescentů a jinak oslabených jedinců, pokud je v potravinách přítomen

v množství $10^4 - 10^5$ buněk/g. Tento rod zahrnuje druhy: *C. freundii*, *C. diversus* a *C. amalonaticus*. Všechny druhy využívají citrát a pomalu zkvašují laktózu. Významným rysem je přítomnost ureázy a nepřítomnost dekarboxylázy lysinu. Druhy rodu *Citrobacter* tvoří svými biochemickými vlastnostmi přechody mezi rody *Escherichia*, *Enterobacter* a *Salmonella* (ŠILHÁNKOVÁ, 1987).

3.7.2 Termorezistentní mikroorganismy

Jak už z názvu vyplývá, tak termorezistentní mikroorganismy jsou mikroorganismy rezistentní vůči záhřevu. Termorezistentní mikroorganismy jsou schopné přežít pasteraci mléka v provozních podmínkách mlékárny, a takto se dostat až do finálních mléčných výrobků. Tento problém je významný zejména pro výrobky, které nebyly ošetřeny UHT záhřevem nebo sterilací ani v nich není růst kontaminujících mikroorganismů limitován nízkým pH. Jedná se tedy především o pasterované mléko a smetany, popř. ESL mléko, sušené mléčné výrobky, včetně kojenecké a dětské výživy (NĚMEČKOVÁ a kol., 2011). Kromě sporotvorných bakterií, jejichž spory pasteraci běžně přežívají, patří mezi termorezistentní mikroorganismy i některé nesporetné bakterie, zejména rod *Micrococcus*. Tyto bakterie mohou způsobit sensorické změny některých sýrů. Z dalších rodů jsou zastoupeny *Mycobacterium*, *Enterococcus* a některé koryneformní bakterie. Zdrojem je především dojící zařízení. Ze sporotvorných mikroorganismů jsou zastoupeny rody *Bacillus* a *Clostridium*. Oba zástupci produkují vysoce termorezistentní spory a rostou v širokém rozmezí teplot. Jejich zdrojem je hlavně půda, voda, vzduch, ale i krmivo (NAVRÁTILOVÁ, 2012).

Rod *Micrococcus*

Tento rod zahrnuje obligátní aerobní mikroorganismy s optimální teplotou růstu v rozmezí 25 – 27 °C (FOX, 2004). Všechny jsou schopny růstu v přítomnosti 5 % NaCl, čehož se využívá také při jejich stanovení. Druhy rodu *Micrococcus* se vyskytují se v různých prostředích, včetně vody, prachu a půdy. Nejvíce se vyskytují na solených potravinách, kde mohou vytvářet žluté, oranžové až růžové kolonie. Toto zbarvení je způsobeno karotenoidními barvivy, přítomnými v jejich buňkách. Tato barviva chrání buňky před letálními účinky ultrafialové složky slunečního záření, a proto se uvedené bakterie vyskytují jako častá vzdušná kontaminace (ŠILHÁNKOVÁ, 1991).

Tyto mikroorganismy mají řadu hydrolytických enzymů, které přispívají ke zrání sýrů. Druh *M. roseus* je součástí sýrařské mazové kultury (FOX, 2004).

Rod *Mycobacterium*

Tento rod zahrnuje rovné, mírně zakřivené, pomalu rostoucí aerobní tyčinky. Patogenní druhy mykobakterií způsobují různé formy tuberkulózy u zvířat i lidí (VLKOVÁ, RADA, KILLER, 2009). Mezi tyto druhy se řadí: *M. bovis*, *M. avium* ssp. *paratuberculosis* a *M. tuberculosis*. Nejnebezpečnější potravinou z hlediska přenosu mykobakterií je mléko, zejména mléko dojníc trpících bovinní paratuberkulózou – „Johnovou chorobou“ (GÖRNER, VALÍK, 2004). Jedná se sice o termorezistentní bakterie, ale řádně a kvalitně provedenou pasterací jsou spolehlivě devitalizovány (VLKOVÁ, RADA, KILLER, 2009).

Rod *Enterococcus*

Enterokoky jsou grampozitivní, fakultativně anaerobní koky, které se vyskytují samostatně ve dvojicích nebo krátkých řetězcích. Patří k termorezistentním bakteriím přežívajícím pasterační teploty. Hlavním produktem jejich metabolismu je kyselina mléčná, proto jsou zařazovány mezi homofermentativní bakterie mléčného kvašení. Významnou roli hrají enterokoky při zrání sýrů a vytváření aroma (acetaldehyd, acetoin, diacetyl). Dominantnost enterokoků v některých druzích sýrů lze přisuzovat jejich vysoké odolnosti vůči vysokým teplotám a vůči soli. Při výrobě sýrů je také užitečná hydrolyza mléčného tuku esterázami. Příznivé vlastnosti enterokoků vedly k jejich začlenění do určitých startovacích kultur - *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans* (ŠILHÁNKOVÁ, 1995). Vzhledem k tomu, že enterokoky tvoří značný podíl původní přirozeně se vyskytující mikroflóry trávicího traktu savců, uplatňují se také jako probiotika chránící organismus před choroboplodnými zárodky a příznivě působí i v dalších ohledech (zmírnění laktóзовé intolerance, snižování cholesterolu v séru, protikancerogenní aktivita). Jako probiotické přísady do potravin i krmiv se používají *E. faecium* a *E. faecalis*. Využívají se k udržení rovnováhy v trávicím traktu a k potlačování průjmů. Dalším příznivým efektem enterokoků je produkce bakteriocinů (membránově aktivní peptidy s antimikrobiální aktivitou hlavně proti příbuzným kmenům). Jsou označovány jako enterociny (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Rod *Bacillus*

Rod *Bacillus* je velmi rozsáhlý a značně rozšířený v přírodním prostředí, zejména v půdě a ve vodě, odkud se spory mohou dostávat i do ovzduší (KLABAN, 2005). Jedná se o grampozitivní peritrichní tyčinky, které mají bohaté enzymové vybavení, takže mohou rozkládat různé organické sloučeniny. Většina druhů má aktivní amylolytické enzymy, které

štěpí škrob, řada druhů má pektolytické enzymy štěpící rostlinné pektiny a některé druhy mají velmi aktivní proteolytické enzymy, které se uplatňují při aerobním a anaerobním rozkladu bílkovin. Některé druhy produkují antibiotika polypeptidové povahy, z nichž některá se pomocí těchto bakterií vyrábějí průmyslově – bacitracin (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Rod *Clostridium*

Jedná se o velmi rozsáhlý a z potravinářského hlediska velmi důležitý rod. Jeho druhy tvoří peritrichní tyčinky, které jsou grampozitivní. Rod *Clostridium* je obligátně anaerobní. Kyslík inhibuje jejich růst a po 5 – 10 minutách působení usmrcuje vegetativní buňky většiny druhů. Některé druhy jsou ke kyslíku méně citlivé a jsou schopny rozmnožování i za omezeného přístupu vzduchu. Některé druhy mají silné proteolytické schopnosti a uplatňují se při rozkladu bílkovin. Jiné druhy mají silné sacharolytické schopnosti, kromě jednoduchých cukrů využívají i škrob, a některé druhy štěpí dokonce i celulózu. Existují i takové druhy, které fixují vzdušný dusík. Při anaerobní oxidaci sacharidů tvoří příslušníci tohoto rodu velké množství plynů (CO₂, H₂), což se nepříznivě projevuje např. v sýrařství (duření sýrů) a navíc jsou klostridie nežádoucí z důvodu tvorby nepříjemně páchnoucích sloučenin, především kyseliny máselné. Některé druhy produkují velmi nebezpečné toxiny, mezi nejdůležitější patří *Clostridium botulinum* a *Clostridium tyrobutyricum* (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

3.7.3 Psychrotrofní mikroorganismy

Také bakterie chladnomilné. Jedná se o bakterie heterotrofní, které mají optimální teplotu růstu a rozmnožování okolo 20 – 30 °C, ale jsou schopné růst i při teplotách pod 5 °C (KLABAN, 2005). Při dlouhodobém skladování syrového vychlazeného mléka dochází proto k jejich velkému pomnožení a v dlouhodobě skladovaném mléce pak tvoří převážnou část z přítomných mikroorganismů. Psychrotrofní mikroorganismy mají výraznou lipolytickou a proteolytickou schopnost a mohou být proto příčinou různých chuťových, ale i technologických vad mléka a mléčných výrobků. Kromě toho pasterací se sice psychrotrofní mikroorganismy inaktivují, ale jejich enzymy proteázy a lipázy jsou termostabilní a působí na tuky i bílkoviny, jak v surovině, tak ve finálních výrobcích (GAJDŮŠEK, 1995). Do mléka přechází z vody, krmiva, výkalů, podestýlky, kůže struků, lidí a z dojícího zařízení. Zastoupeny jsou zde rody *Pseudomonas*, *Flavobacter*, *Aeromonas* a *Alcaligenes* (LUKÁŠOVÁ, 1999). Stanovují se v oblasti potravinářské a hygienické mikrobiologie u chlazených a mražených výrobků. Dále se stanovují u různých druhů vod a indikují tzv. obecné znečištění (KLABAN, 2005).

3.7.4 Kvasinky a plísně

Mikromycety se z praktického hlediska dělí na vláknité a kvasinkovité mikroorganismy. Mikroskopické houby jsou součástí životního i pracovního prostředí člověka. Jsou využívány k produkci nejrůznějších typů a druhů potravin (alkoholické nápoje, mléčné výrobky), a organických látek (enzymy, vitamíny, kyseliny), včetně antibiotik. Na druhé straně je člověk nucen potýkat se s negativními dopady působení hub, zejména pokud jde o degradaci, potravin, surovin, krmiv, dřeva apod. V neposlední řadě se jedná o nepříjemné zdravotní dopady na člověka, ať už formou infekčních onemocnění, alergií nebo otrav, včetně znehodnocení potravin mykotoxiny (MALÍŘ, 2003).

Mikroskopické houby se běžně vyskytují ve vnějším prostředí. Zdrojem kontaminace mléčné žlázy a následně mléka je zejména stelivo, krmivo a výkaly zvířat. Kvasinky a plísně se podílejí na kažení mléčných výrobků, patogenní a toxinogenní druhy mohou způsobit onemocnění člověka. Ze syrového mléka mastitidních dojnic byla izolována řada kvasinek, např. rodů *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces* nebo *Kluyveromyces*. Velice vážný je výskyt *Candida albicans*, jelikož je patogenní pro člověka i zvířata. Toxinogenní plísně (rody *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*) jsou při tepelném ošetření mléka obvykle inaktivovány. V mléce a mléčných výrobcích se mohou vyskytovat jejich sekundární metabolity, kterými jsou mykotoxiny (NAVRÁTILOVÁ, 2012).

Kvasinky

Jedná se o saprofytické mikroorganismy vyskytující se hojně v přírodním prostředí, nejčastěji na cukerných substrátech, které mohou fermentovat (KLABAN, 2005). Způsobují nežádoucí sensorické změny fermentovaných mléčných výrobků. Na povrchů sýrů se projevují tvorbou slizu a barevnými změnami (NAVRÁTILOVÁ, 2012). Jsou přítomny u člověka i u všech teplokrevných živočichů. Některé druhy vyvolávají za určitých podmínek mykotická onemocnění – např. *Cryptococcus*, jiné mají tendenci znehodnocovat potraviny či suroviny (KLABAN, 2005). V mléčných výrobcích se nejčastěji vyskytují rody *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* a *Candida* (NAVRÁTILOVÁ, 2012).

Plísně

Vláknité mikromycety jsou vícebuněčné nebo jednobuněčné eukaryotní organismy s heterotrofní výživou. Živiny získávají absorpcí z okolního prostředí. Většinou se jedná o saprofytické organismy, které plní nenahraditelnou roli destruentů v ekosystémech a podílí se tak na koloběhu látek a energie v přírodě. Řadí se do samostatné říše hub. Plísně jsou přítomny v ovzduší, půdě, vodě, na povrchu živých a odumřelých organismů, předmětů, na plochách, v krmivu, v potravinových surovinách rostlinného původu a v samotných

potravinách. Zvláště potraviny jsou z hlediska zdraví člověka velmi vhodným a potenciálně rizikovým substrátem pro osídlení, růst a rozmnožování toxinogenních plísní a následně pro produkci mykotoxinů (MALÍŘ, 2003). Nejčastěji bývají identifikovány rody *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium* a *Aspergillus* u kysaných mléčných výrobků, u sýrů a másla potom *Geotrichum* spp. (NAVRÁTILOVÁ, 2012).

3.7.5 Toxiny

Mykotoxiny mohou být v sýru přítomny v důsledku použití kontaminovaného mléka nebo mohou pocházet z plísní tvořících se na sýru během zrání a skladování. V mléce obsažené mykotoxiny pocházejí většinou z kontaminovaného krmiva. Nebezpečné jsou zejména aflatoxiny, které mohou v sýru přetrvat během výroby i zrání. Některé mykotoxiny mohou být produkovány přímo v sýrech v důsledku růstu kontaminujících mikroorganismů na povrchu sýrů. U plísňových sýrů mohou být zdrojem naočkované kultury např. u *Penicillium camembertii* byla prokázána produkce kyseliny cyklopiazonové (CPA) a *Penicillium roquefortii* rovněž vytváří mykotoxiny. Nicméně, schopnost produkovat mykotoxiny nemusí nutně znamenat, že během výroby k tomu bude docházet. Mykotoxiny byly v sýrech nalezeny vzácně a jsou izolovány pouze v případě rozsáhlého a nepřijatelného nárůstu plísní (FERNANDES, 2009).

3.7.6 Mikrobiální původci alimentárních infekcí a intoxikací

Alimentární infekce (nákazy z potravin) jsou onemocnění způsobená přítomností příslušných choroboplodných mikroorganismů v konzumované potravine či v pitné vodě, které se po vniknutí do organismu člověka s potravinou nebo pitnou vodou v něm usídlují a rozmnožují (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Staphylococcus aureus

Tento bakteriální druh je zařazován mezi významné lidské patogeny. Přibližně u třetiny lidí žije na kůži nebo na sliznicích a nevyvolává žádné zdravotní potíže. Pokud však dojde k poškození přirozené odolnosti hostitelského organismu, je tento mikrob schopen proniknout do tkání a vyvolat onemocnění jak banálního, tak i závažného charakteru, které může končit smrtí. *S. aureus* je schopen produkovat celou řadu toxických exoproteinů, faktorů virulence a především enterotoxinů. *S. aureus* je původcem mnoha alimentárních intoxikací (ŠŤASTKOVÁ, 2012). Je to fakultativně anaerobní, nepohyblivý, grampozitivní kok. Optimální teploty růstu jsou v rozmezí 7 – 48 °C, pasterační teploty nepřežívá, mražení nemá

významný vliv na životaschopnost a počet bakterií v potravině. *S. aureus* je tolerantní k vyššímu obsahu NaCl v prostředí 10 – 15 %. Má schopnost růst v rozmezí pH 4 – 10, optimální je okolo 7 (NAVRÁTILOVÁ, 2012).

Přítomnost *S. aureus* v potravinách představuje potenciální riziko pro konzumenta díky schopnosti produkovat stafylokokové enterotoxiny, které vznikají v potravině jako metabolické produkty při množení těchto bakterií (ŠTÁSTKOVÁ, 2012). Nejčastěji bývají stafylokoky kontaminovány mléčné výrobky, lahůdky, pudinky a salátové dresinky, dále pak maso, šunky, ryby a mořské plody (NAVRÁTILOVÁ, 2012). Zdrojem kontaminace ve výrobě může být surovina, prostředí nebo člověk. V průběhu výrobního procesu může být potravin kontaminována především pracovními nástroji a pracovníky potravinářských provozů. Také nevhodné podmínky skladování a manipulace s potravinami během přípravy, hlavně v domácnostech a stravovacích zařízeních, kde nejsou důsledně dodržovány zásady správné hygienické praxe, mohou negativně ovlivnit zdravotní nezávadnost potravin (ŠTÁSTKOVÁ, 2012).

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes je obávaným patogenním mikroorganismem vyskytujícím se v potravinách, nejčastěji v mlékárenských a masných výrobcích (BLAŽKOVÁ, 2005). Její výskyt v potravinách je obvykle způsoben druhotnou kontaminací. Výskyt listerií je spojován s kontaminovaným masem z jatek, mlékem apod. K infekci může dojít i přes kůži např. u veterinářů, řezníků při kontaktu s kontaminovanou surovinou (HORKÝ a kol., 2014) Onemocnění vyvolána touto bakterií, tzv. listeriózy, jsou velmi závažná a postihují specifické skupiny populace: staré lidi, děti, těhotné ženy a osoby s oslabenou imunitou. Mortalita dosahuje až 33 % z celkového počtu onemocnění. *Listeria monocytogenes* je hojně rozšířená v přírodě, ve vodě, v půdě, na rostlinách, ale i ve střevním traktu volně žijících zvířat. Mezi primárně kontaminované potraviny patří syrové mléko, syrová zelenina, maso a mléčné výrobky (BLAŽKOVÁ, 2005). *L. monocytogenes* je fakultativně anaerobní, nesporotvorná, krátká a pohyblivá tyčinka. Mikroorganismus je schopen růst v širokém rozmezí teplot od -1,5 °C až do 50 °C a toleruje pH v rozmezí 4,3 – 9,6. Chladírenské teploty jsou pro listerie příznivé, jelikož přežívají i mražení. Listerie jsou schopny tolerovat vysokou koncentraci NaCl až do 10 % i přítomnost antimikrobiálních látek (HEREDIA, 2009).

Campylobacter spp.

Jedná se gramnegativní bakterie ve tvaru tyčinek, které mají mikroaerofilní až aerobní metabolismus. Bakterie tohoto rodu se vyskytují u vodní a hrabavé drůbeže, v hovězím, vepřovém, drůbežím mase a ve vodě (VLKOVÁ, RADA, KILLER, 2009). Rod *Campylobacter* obsahuje 18 druhů, z nichž 11 může způsobit lidské onemocnění. Kampylobaktery jsou odolné vůči chladničkovým teplotám, jsou ničeny mrazem, vyschnutím, chlorováním, pasterací a kyselým pH. Bakterie rodu *Campylobacter* vyvolávají akutní střevní infekce u lidí tzv. kampylobakteriózy (HORKÝ a kol., 2014).

Salmonella spp.

Salmonely jsou gramnegativní rovné tyčinkovité, pohyblivé, fakultativně anaerobní bakterie. Jako všechny enterobakterie rotou dobře na běžných živných laboratorních médiích a jsou biochemicky velmi aktivní. Pro rozbor mlékárenských výrobků jsou důležité atypické kmeny, které zkvašují laktózu, protože na základě tohoto znaku mohou být identifikovány jako koliformní bakterie. Mezi laktózo-fermentující kmen patří *S. newington*. Optimální teplota růstu je 35 – 37 °C, tepelné maximum a minimum závisí na kmenu. Růst je možný od 5 do 47 °C. Salmonely nepřežívají pasteraci s výdrží 17 s při teplotě vyšší než 65 °C. Optimální pH je v rozmezí 6,5 – 7,5. Tolerance salmonel ke koncentraci NaCl v prostředí vzrůstá se stoupající teplotou: při optimální teplotě 37 °C se pomnožuje při 7 – 8 % NaCl v médiu (JÍČÍNSKÁ, 1995).

V sýrech mohou salmonely přežít po celou dobu garanční lhůty. Přežití podporuje nižší teplota při zrání a skladování. Během výroby a zrání sýrů salmonely mohou nejen přežít, nýbrž se i pomnožovat. Důležitým inhibujícím faktorem je tvorba kyseliny mléčné v sýru. Nejčastější příčinou salmonelózy po požití sýru byla *S. typhimurium* (JOHNSON, 1990).

Escherichia coli

Escherichia coli je fakultativně anaerobní, gramnegativní tyčinkovitá bakterie, která je součástí střevní mikroflóry lidí i zvířat. Člověku je jako součást přirozené střevní mikroflóry prospěšná, jelikož produkuje řadu látek, které brání šíření patogenních bakterií. Některé kmeny jsou schopny vyvolat onemocnění jak mírného, tak smrtelného charakteru např. hemolyticko-uremický syndrom. Na základě patogenity se *E. coli* rozděluje do 4 různých skupin: enteropatogenní, enterotoxigenní, enteroinvazivní a enterohemoragická (HEREDIA, 2009). Roste v rozsahu teplot 10 – 45 °C, optimální teplota růstu je 30 – 37 °C, avšak v mléce se

vyskytují psychrotrofní kmeny, které rostou i při nižších teplotách. Optimální pH 6,8 – 7,2. Letální je pro ni záhřev při teplotách vyšších než 64,5 °C po dobu 17 s (JIČÍNSKÁ, 1995).

Častou příčinou gastroenteritid i sporadických infekcí je syrové mléko infikované EHEC. Kmeny EHEC byly izolovány z mléka zdravých dojnic. Pro přežití *E. coli* v syrovém mléce jsou výhodná mléka s nízkými počty kontaminující mikroflóry, jelikož v mléce špatné mikrobiologické jakosti inhibují růst *E. coli* nepatogenní kontaminanty např. bakterie mléčného kvašení (JIČÍNSKÁ, 1995).

Sýry poskytují vhodné podmínky pro přežití a pomnožování EEC, protože mají dlouhé garanční doby. Infekce EEC jsou nejčastěji způsobeny konzumací sýrů. Za nejrizikovější mlékárenské výrobky jsou považovány hlavně měkké a povrchově zrající sýry z hlediska kontaminace EEC. Přežití EEC v sýrech během výroby, zrání a skladování sýrů závisí na mnoha faktorech: rychlosti prokysání, pH, typu sýrů, typu a aktivitě zákysové kultury, kmenu EEC, stupni počáteční kontaminace, teplotě a době skladování (MARTH, 1985).

3.7.7 Biogenní aminy v sýrech

Sýry představují ideální prostředí pro tvorbu biogenních aminů (BA). Nízkomolekulární biogenní aminy vznikají jako produkty metabolismu aminokyselin působením dekarboxyláz, které obsahují jako kofaktor pyridoxal fosfát a odštěpí oxid uhličitý z karboxylové skupiny, přičemž vzniká bazický biogenní amin (KOPŘIVA, 2014). Dekarboxylázy aminokyselin se u bakterií příliš nevyskytují, ale schopnost vytvářet BA byly popsány u mikroorganismů z čeledi *Enterobacteriaceae*, laktobacilů a *Enterococcus* spp. Mikroorganismy produkující dekarboxylázy mohou být součástí přirozené mikroflóry potraviny nebo se do potraviny dostanou jako kontaminanty. Koncentrace volných aminokyselin je v sýru tak nízká, že by působením dekarboxyláz vzniklo netoxické množství BA. Podmínkou tvorby BA v sýrech je proteolýza kaseinu. Nejvíce BA se vytváří v období zrání sýrů, kdy nárůst koncentrací mikroorganismů je nejvyšší. Limitujícími faktory pro vznik BA jsou: teplota, pH a koncentrace soli. Zvýšená teplota a hodnota pH při zrání vedou k vyšším koncentracím aminů, na druhou stranu vysoká koncentrace soli tvorbu aminů brzdí. Čím déle se tedy sýr skladuje při vyšších teplotách, tím více aminů obsahuje. V případě vysokého příjmu BA potravou organizmus nestačí degradovat aminy přirozenými metabolickými procesy a tím dochází k intoxikaci. Nejčastěji sledovanými BA pro jejich toxické působení jsou histamin, tyramin a 2-fenylethylamin (JANŠTOVÁ, 2012).

3.8 Vady sýrů

Během výroby sýrů se může vyskytnout řada vad, které mohou mít mikrobiologické, fyzikální či technologické příčiny. Mikrobiologické vady lze obecně rozdělit na vady způsobené kvasinkami, plísněmi, nežádoucí tvorbu plynu a nežádoucí barevné změny sýrů (VLKOVÁ, RADA, KILLER, 2009). Další vady sýrů mohou vzniknout nesprávným skladováním v sýrárnách a v maloobchodech. Vady se obecně rozdělují na vnější (vady obalu, tvaru, povrchu sýra), vnitřní (vady barvy, struktury, konzistence) a vady chuti a vůně (ŠUSTOVÁ, 2013).

Rozdělení a vznik vad sýrů:

1. Vady vnějšího vzhledu – mechanické poškození sýrů, nežádoucí povrchová mikrobiální kontaminace, nesprávný tvar a forma, poškozený obal.
2. Vady vnitřního vzhledu – nepravidelné otevření těsta u sýrů s tvorbou ok, praskliny a trhliny v těstě sýrů, časná a pozdní duření, ořechovitá oka, vady v konzistenci, vady v barvě těsta aj.
3. Vady chuti a vůně – ty jsou samozřejmě vždy nejvýznamnější, protože spotřebitel si kupuje sýr především podle chuti. Vadou může být už méně výrazná, fádňí či necharakteristická chuť, cizí příchut' (po sanitačních prostředcích) či skutečná vada chutě, jako je štiplavost, hořkost, pálivost, zatuchlost aj.
4. Vady ve složení – když není dodržen garantovaný obsah sušiny, tuku, soli apod. (KOPÁČEK, 2011).

3.9 Boj proti nežádoucím mikroorganismům

Pro dodržení mikrobiologické kvality sýrů je nutné přijmout opatření pro omezení jejich rozvoje, což znamená dodržovat přísné hygienické zásady při získávání mléka, zabezpečit účinnou pasteraci mléka určeného pro výrobu sýrů, zabránit rekontaminaci pasterovaného mléka a během výroby zabezpečit podmínky, které zaručí množení požadovaných kultur a zamezí růstu nežádoucích mikroorganismů (VLKOVÁ, RADA, KILLER, 2009).

V boji proti činnosti nežádoucích mikroorganismů v potravinářském průmyslu se používají fyzikální a chemické prostředky i jejich kombinace. Dále je zapotřebí zachovávat přísné hygienické zásady, aby nedošlo ke kontaminaci potravin patogenními či jinými bakteriemi, ani k jejich pomnožení v potravinách (ŠILHÁNKOVÁ, 1995). Pracovníci musí udržovat osobní hygienu, dbát na čistotu oděvu a během manipulace s potravinami nosit pokrývku hlavy (LUKÁŠOVÁ, 1999).

Základním předpokladem hygieny potravinářských provozů jsou četná, vhodně umístěná umyvadla s tekoucí teplou vodou, desinfekčním prostředkem, horkovzdušným osušovačem rukou nebo s jednorázovými papírovými ručníky. Pracovníci jsou povinni použít tato zařízení vždy, když k práci přistupují nebo se k ní vrací (ŠILHÁNKOVÁ, 1995).

K zajištění hygieny potravin se využívá systém HACCP, což je společný program FAO/WHO pro normalizaci potravin. Systém komplexních preventivních opatření je zaváděn do praxe pod názvem HACCP (Hazard Analysis of Critical Control Points). Charakteristika celého systému spočívá v analýze nebezpečí narušení zdravotní nebo hygienické nezávadnosti určitého potravinářského výrobku a identifikaci kritických kontrolních bodů v průběhu jakékoliv manipulace s výrobky určenými ke konzumaci. Komprda (2004) uvádí, že celý systém HACCP je možno popsat pomocí sedmi základních principů:

1. Analýza nebezpečí
2. Identifikace kritických ochranných bodů
3. Zavedení kritérií pro zvládnutí situace na CCP
4. Monitoring zavedených kritérií
5. Stanovení nápravných opatření
6. Verifikace správné funkce systému HACCP
7. Dokumentace

Vypracování tohoto systému a jeho zavedení do praxe je velmi odbornou činností, na které se musí podílet tým odborníků – hygienik, technolog a epidemiolog (HUDECOVÁ, MAJTÁN, 2002).

3.10 Bioaktivní látky

Jako bioaktivní látky se označují substance, které mají v důsledku svých fyzikálních a chemických vlastností ochranný charakter před řadou chronických a degenerativních onemocnění. K bioaktivním látkám se řadí sekundární rostlinné látky, vláknina a látky ve fermentovaných potravinách. Označení sekundární je odlišuje od bílkovin, sacharidů, tuků a vlákniny, které se tvoří v rostlině v primární látkové výměně. Bioaktivní látky jsou obsaženy pouze v určitých rostlinách v malém množství a mají podobný, i když slabší účinek než léky. V lidském organismu chrání proti rakovině a infekcím, působí protizánětlivě, snižují krevní tuky, ovlivňují krevní cukr a podporují trávení. Se stravou přijímá člověk asi 1,5 gramu těchto látek. Sekundární rostlinné látky mají různé chemické složení. Na základě jejich chemické struktury je rozdělujeme do několika hlavních skupin (STRÁNSKÝ, 2010).

Tabulka 2. Skupiny bioaktivních látek a jejich zdroje v potravinách (STRÁNSKÝ, 2010)

Karotenoidy	červené a žluté ovoce a zelenina
Fytosteriny	ořechy, semena, luštěniny
Saponiny	zelený hrášek, sója, zelené fazole
Fenolické kyseliny	zelí, celozrnná pšenice, ředkvičky, zrnková káva
Flavonoidy	žluté, červené a modré ovoce a zelenina, černý čaj
Fytoestrogeny	sója, lněné semeno, žito, pšeničné otruby
Inhibitory proteázy	luštěniny, sója, pšenice, brambory
Glukosinoláty	zelí, kapusta, řeřicha, hořčičné semeno, ředkev
Sulfidy	česnek, cibule, pórek
Monoterpeny	citrusové plody, bylinky, koření

3.10.1 Karotenoidy

Karotenoidy jsou barviva vytvářející skupinu žlutých, oranžových, červených a fialových pigmentů, které se vyskytují nejen v rostlinách, ale nacházíme je i v mikroorganismech a v živočišných organismech. Karotenoidní barviva jsou nerozpustná ve vodě, avšak v tučných a organických lipofilních rozpouštědlech rozpustné jsou. Jsou to nenasycená polyenová barviva složená z izoprenových jednotek. Z hlediska chemického je lze rozdělit na karoteny (bezokysličené uhlovodíky) a xantofyly (karotenoidní alkoholy, epoxidy, ketony, kyseliny). Používají se k přibarvování některých potravin, především jejich tukové složky (DAVÍDEK, 1983).

3.10.2 Fytosteriny

Fytosteriny (rostlinné steriny) jsou sekundární rostlinné látky, jejichž chemické složení se velmi podobá cholesterolu. Steriny jsou součástí rostlinných buněčných membrán a plní v rostlinách stejnou funkci jako cholesterol v lidském těle. Rostlinné steroly jsou přírodní složkou lidské stravy. Zdrojem jsou rostlinné oleje, obiloviny, ovoce a zelenina. Fytosteriny snižují krevní cholesterol, působí protizánětlivě a mají antikarcinogenní a antioxidační účinky (ALDINI et al., 2014).

3.10.3 Saponiny

Saponiny jsou různorodou skupinou heteroglykosidů vyskytujících se převážně v rostlinách. Množství saponinů závisí na druhu rostliny a klimatických podmínkách. Největší množství se nachází v kořenech, kůře a v rychle rostoucích částech rostlin. V nízkých koncentracích jsou saponiny přítomny i u některých mořských živočichů a bakterií. Mají hořkou chuť, detergentní a hemolytické účinky, reagují se žlučovými kyselinami, cholesterolem a 3 β - hydroxysteroidy. Ve formě koncentrátů se používají jako pěnotvorné látky, emulgátory, antioxidanty (VELÍŠEK, 2009). Tyto mýdlovité látky působí jako antibiotika a posilují imunitu (IBURG, 2010).

3.10.4 Fenolické kyseliny

Výchozí kyselinou je kyselina benzoová a její dimer hexahydroxydifenová kyselina. Fenolické kyseliny jsou přítomné v řadě potravin. Podle současných poznatků tvoří přibližně jednu třetinu polyfenolů v potravě. V naší stravě jsou fenolické kyseliny zastoupeny především hydroxyskořicovými kyselinami, převážně ve formě esterů. Nejčastěji je to kyselina kávová a její estery, dále pak kyselina ferulová. Kyselina ferulová je obvykle asociována s potravinovou vlákninou a je v ní esterovou vazbou vázána k hemicelulose. Jeden z hlavních zdrojů kyseliny ferulové jsou tak např. pšeničné otruby (5mg/g). Nejběžnějším esterem kávové kyseliny je kyselina chlorogenová, která je přítomná v řadě druhů ovoce, zeleniny a v kávě. Významný obsah chlorogenové kyseliny a jejích derivátů je rovněž v artyčoku, který v některých zemích patří k oblíbené zelenině (TRNA, TÁBORSKÁ 2015).

3.10.5 Flavonoidy

Flavonoidy jsou antioxidanty. Jsou to ve vodě rozpustné látky a nacházejí se jako barviva v zelenině, ovoci, zrninách, v listech a kůře stromů (MINDELL, 2010). V přírodě se vyskytují jak ve formě volné, tak i vázané – glykosidicky. Obě formy jsou téměř stejně barevné a stálé (DAVÍDEK, 1983). Tyto látky se vyskytují běžně v rostlinné říši v různých koncentracích. Ty, jež jsou biologicky aktivní, se nazývají bioflavonoidy (MINDELL, 2010).

3.10.6 Fytoestrogeny

Fytoestrogeny jsou přirozeně se vyskytující rostlinné fenolové sloučeniny. Vyskytují se běžně v zelí, sójových bobech, obilí, chmelu a fazolích. Svou strukturou jsou podobné přirozeným savčím estrogenům (WADEKAR et al., 2011). Nejrozšířenějšími skupinami fytoestrogenů jsou isoflavony, lignany, kumestany a stilbeny (KUNOVÁ, 2004). V rostlinách jsou přítomny především ve formě glykosidů. Množství fytoestrogenů v rostlinách se mění v závislosti

na genetických rozdílech mezi různými druhy a odrůdami rostlin. Vliv mají také faktory životního prostředí působící během růstu, forma sklizně a zpracování. Existují různé mechanismy účinku fytoestrogenů na lidský organismus, které mohou vést k estrogennímu nebo antiestrogennímu vlivu na metabolismus, a to v závislosti na řadě faktorů, např. jejich koncentraci, koncentraci endogenních estrogenů, typu apod. Vliv fytoestrogenů na lidské zdraví je předmětem intenzivního zkoumání, přičemž získané výsledky jsou často nejednoznačné. Fytoestrogeny se mohou projevovat pozitivními i negativními účinky. Sleduje se především vliv na: kardiovaskulární onemocnění, nádorová onemocnění, osteoporózu, symptomy klimakteria, angiogenenze a metabolismus estrogenů (WADEKAR et al., 2011).

3.10.7 Inhibitory proteázy

Z výživového hlediska jsou velmi významné. Jedná se o proteiny nebo polypeptidy schopné inhibovat trávicí enzymy proteázy. Klasifikují se podle duhu proteáz, které mohou inhibovat. Rozdělují se na inhibitory serinových proteáz – trypsinu, chymotrypsinu, aj. a na inhibitory sulfhydroxylových proteáz – pepsinu, thrombinu aj. Tyto látky jsou přirozenými složkami některých potravin rostlinného původu, zejména semen luštěnin, dále jsou obsaženy v obilovinách, bramborách, rajčatech aj. (VELÍŠEK, 2009).

3.10.8 Glukosinoláty

Dříve byly tyto látky považovány pouze za antinutriční látky, které snižují využití jódu v organismu, avšak koncem 20. století byly zjištěny významné antioxidační, antikarcinogenní a antimutagenní účinky těchto látek. V dnešní době je známo více než 100 glukosinolátů, které se nejvíce vyskytují v košťálové zelenině. Jedná se o skupinu sirných sloučenin, jejichž molekula je tvořená cukernou složkou, většinou D – glukózou a aglykonem. Společně s glykosinoláty je odděleně v neporušeném rostlinném pletivu enzym myrosináza, který se uvolňuje při mechanickém porušení buněk a nastává enzymová hydrolýza, během níž vznikají thiokyanáty a další látky působící proti nádorovému bujení (BULKOVÁ, 2011).

3.10.9 Sulfidy

Jedná se o těkavé látky, které se nacházejí v cibuli, česneku, pórku a chřestu. Tyto sekundární rostlinné látky se dělí na rozpustné ve vodě a v tucích. Allin označovaný jako (+)-S-allyl-L-cysteinsulfoxid je bez zápachu a vyskytuje se v česneku v koncentraci až 1,8 %. Mechanickým poškozením česnekového stroužku se dostane enzym allináza umístěný ve vakuolách do kontaktu s cytosolickým allinem, čímž se vytvoří sulfidy jako allicin. V nepoškozeném česneku je allicin přítomen jen ve stopovém množství. Hlavními účinnými

látkami těkavého česnekového oleje jsou diallyldisulfid (DADS) a diallyltrisulfid (DATS) a dále se tam nacházejí metylallyldisulfid (MADS) a metylallyltrisulfid (MATS). Tyto těkavé látky vznikají při enzymovém nebo termickém rozkladu nestabilního allicinu. Česnek je pro své mnohostranné fyziologické účinky celá tisíciletí součástí lidového léčitelství.

Antikarcinogenní účinek sulfidů (trávicí trubice, žaludek, tlusté střevo, prsa a plíce) se zatím teprve zkouší na zvířatech. V souvislosti s ochranou proti rakovině je zkoumán význam sulfidů jako antioxidantů. Kromě toho podporují sulfidy zažívání zvýšeným sliněním, sekrecí trávicích šťáv, zvýšenou činností střev a navíc ovlivňují i procesy látkové výměny, které hrají důležitou roli u srdečně-cévních onemocnění (SUKOVÁ, 2003).

3.10.10 Monoterpeny

Monoterpeny jsou acyklické, monocyklické či bicyklické C-10-isoprenoidy, což jsou látky strukturně odvozené od isoprenu. Jsou to přírodní produkty charakteristické vůně, uplatňující se v regulaci růstu, reprodukčním cyklu, obranných mechanismech a přenosu signálů u různých organismů. Přestože se vyskytují ve všech organismech, syntetizovat je dokáží pouze rostliny, bakterie a některé druhy hmyzu. Monoterpeny jsou považovány za sekundární metabolity rostlin, což jsou látky, které postrádají roli v základních rostlinných procesech. Rostlina je produkuje, aniž by je využívala jako zdroj energie nebo zásobní látky. Sekundární metabolity slouží rostlině jako detoxikační faktory nebo obranné látky. V rostlinných tkáních se monoterpeny vyskytují převážně volně, ale malou část z nich můžeme nalézt ve formě glykosidů. Monoterpeny jsou významné především tím, že zprostředkovávají interakce mezi rostlinou a prostředím, zajišťují komunikaci mezi rostlinami, chrání rostlinu před vysycháním, napadením škůdci či lákají opylující hmyz.

Význam mají monoterpeny nejen pro rostliny, ale i pro vyšší organismy. Lidé je využívají v potravinářství, kosmetice a farmacii pro své aroma nebo jako insekticidy a herbicidy pro svou toxicitu. Díky svým protinádorovým či antibakteriálním účinkům se řadí mezi tzv. „bioaktivní sloučeniny“. Monoterpenoidy (D-limonen, myrcen, naringin) omezují vývoj nádorů (DVOŘÁKOVÁ a kol., 2011).

3.10.11 Charakterizace rostlinného materiálu použitého k ošetření sýrů

Máta peprná (*Mentha piperita* L.) se používá již po tisíciletí v tradiční čínské medicíně. Díky svému éterickému oleji, který obsahuje mentol, má silně chladivý, projasňující a čistící účinek. Vyznačuje se svěží, mentolovou až ostře kořenitou vůní. Roste na vlhkých a slunných stanovištích. Rostlina je sytě zelené barvy, květy má zbarvené do fialové až purpurové barvy. Dorůstá do výšky okolo 50 cm (VEIT, 2014).

Pelyněk estragonu (*Artemisia dracunculus* L.) jsou sušené listy nebo celá nať víceleté byliny kozalce kořenného z čeledi hvězdnicovitých. Listy jsou zelené až žlutohnědé, květenství je bělavé. Pěstuje se v zemích subtropického a mírného pásma i u nás. Má silnou, aromatickou vůni a ostře nahořklou chuť. Používá se v kuchyni do pokrmů i v potravinářské výrobě (KAVINA, 1997).

Dýňový olej je ze 100 % vyroben z dýňových semen. Dýně pochází z Jižní Ameriky a Mexika. Botanicky se jedná o bobulovinu, ve vodnaté dužnině jsou uložena semena. Na výrobu oleje z dýňových semen je potřeba semena vyloupat. Poté se semena čistí, suší a dále zpracovávají. Obal semen obsahuje hodně chlorofylu a karotenu, tím je zapříčiněna tmavá barva oleje. Složení dýňového oleje: 20 % nasycených mastných kyselin (kyselina palmitová a stearová), 28 % jednoduchých nenasycených mastných kyselin (kyselina olejová), 52 % vícenenasycených mastných kyselin (kyselina linolová a linolenová) a 18 mg vitamínu E na 100 ml (IBURG, 2004).

4 MATERIÁL A METODIKA

Praktická část diplomové práce byla provedena na Ústavu agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin v mikrobiologické laboratoři v prostorách Mendelovy univerzity v Brně. Mikrobiologický experiment byl proveden u čerstvých sýrů, které byly ošetřeny třemi různými přírodními látkami – extraktem z máty peprné, pelyňku estragonu a dýňovým olejem a byly zabaleny ve třech různých atmosférách – volné, s dusíkem a s oxidem uhličitým.

4.1 Charakteristika vzorků

Analyzovány byly vzorky čerstvých sýrů vyrobené v mlékárně Kromilk, a.s. se sídlem v Kroměříži. Jednalo se o sýry nasolené, neochucené a balené ve vakuovém balení s obsahem sušiny minimálně 36 % a s obsahem tuku v sušině minimálně 60 %. Doba údržnosti byla deklarována 30 dní při teplotě skladování 4 až 8 °C. Následující den po výrobě byly čerstvé sýry dopraveny do laboratoře, kde byly ošetřeny na povrchu přírodními látkami (mátou peprnou, estragonem). Na potírání sýrů byla použita šťáva získaná na odšťavňovači Healthy Juicer (Lexen). Dalším roztokem použitým k ošetření sýrů byl bio dýňový olej (Spar Natur* pur). Na každý vzorek byly aplikovány 2 ml šťávy z bylin nebo oleje pomocí sterilní injekční stříkačky a rozetřeny po celém povrchu sýru sterilní gumovou rukavicí. Jeden vzorek sýru byl ponechán v původním stavu bez ošetření jako vzorek kontrolní. Poté byly sýry vloženy do bariérových fólií z polypropylenu a zabaleny na balicím stroji HENKOVAC 150i. Pro atmosféru v obalu byly použity vždy samostatné plyny N₂, CO₂ a volná atmosféra. Testované vzorky byly uchovávány při teplotě 8 °C po dobu 6 týdnů.

4.2 Laboratorní pomůcky

Laboratorní sklo a zkuševky používané k mikrobiologickému experimentu se před použitím vždy sterilizovaly v horkovzdušném sterilizátoru při teplotě 165 °C po dobu 60 minut. Také Erlenmayerovy baňky s živnými půdami a zkuševky s fyziologickým roztokem se sterilizovaly v parním sterilizátoru při teplotě 121 °C po dobu 20 minut.

4.3 Odběr a očkování vzorků

Před začátkem mikrobiologického experimentu bylo za sterilních podmínek odebráno 10 g jednotlivých vzorků sýrů a přeneseno do sterilního polyethylenového sáčku, do kterého se přidalo 90 ml fyziologického roztoku (8,5 g NaCl na jeden litr destilované vody). Vzorky byly homogenizovány v homogenizátoru Stomacher po dobu 60 vteřin.

U všech vzorků bylo provedeno desítkové ředění. 1 ml výchozí suspenze byl přenesen do předem připravené sterilní zkumavky s odměřenými 9 ml fyziologického roztoku. Každá zkumavka byla promíchána na přístroji Vortex po dobu 10 s.

Pro mikrobiologický experiment byla použita metoda zalití do půdy. 1 ml suspenze příslušného desetinného ředění byl naočkován na dno řádně označené sterilní Petriho misky. Od každého ředění byly naočovány 2 misky. Inokulum v Petriho misce bylo poté zalito specifickou živnou půdou. Miska se uzavřela a mírným krouživým pohybem se promíchala živná půda se vzorkem. Po úplném zatuhnutí byly misky obráceny dnem vzhůru a vloženy do příslušného termostatu, kde se za specifických podmínek teploty a času nechaly kultivovat.

Po uplynutí doby kultivace byly spočítány jednotlivé narostlé kolonie na Petriho miskách pomocí počítačky a vykážány jako KTJ/g.

4.4 Živné půdy

Živné půdy byly připravovány dle návodu předepsaného výrobcem. Pro stanovení vybraných druhů mikroorganismů bylo použito pět druhů živných půd, které selektivně podporují jejich růst.

Celkový počet mikroorganismů a psychrotrofní mikroorganismy byly kultivovány na půdě PCA se sušeným mlékem, CPM 3 dny při teplotě 30 °C a psychrotrofní mikroorganismy 10 dnů při teplotě 6,5 °C. Pro kultivaci bakterií mléčného kvašení, zejména ke stanovení kultur rodu *Lactobacillus* obsažených v mléčných výrobcích a dalších potravinářských výrobcích byl použit MRS agar a kultivace probíhala po dobu 3 dní při teplotě 37 °C. Půda může být použita ke stanovení pomalu rostoucích laktobacilů, jako jsou *Lactobacillus brevis* a *Lactobacillus fermentum*. Koliformní bakterie byly stanovovány na půdě VRBL 24 hodin při teplotě 30°C. Ke kultivaci kvasinek a plísní byl použit agar s glukózou (Chloramphenicol Glucose Agar) kvasničným extraktem a chloramenikolem, kultivace probíhala 5 dnů při teplotě 25 °C. Ke stanovení počtu enterokoků bylo použito médium Compass Enterococcus Agar, inkubace probíhala po dobu 2 dnů při 37 °C.

4.4.1 Složení živných půd

Plate count agar (PCA se sušeným mlékem)

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

Příprava:

20,5 g půdy se rozpustí v 1000 ml destilované vody za stálého míchání. Hodnota pH se stabilizuje na 7 ± 2 . Poté se živná půda přelije do tří Erlenmayerových baněk o objemu 500 ml a sterilizuje se v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 15 minut.

Složení:

trypton	5,0 g
kvasničný extrakt	2,5 g
glukóza	1,0 g
sušené odstředěné mléko	1,0 g
bakteriologický agar	12,0 g
destilovaná voda	1000 ml

MRS agar

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

Příprava:

70,3 g dehydratované půdy se rozpustí v 1000 ml destilované vody za stálého míchání. V případě potřeby se může zahřát. Poté se změří pH pomocí digitálního pH metru a upraví se na hodnotu $5,7 \pm 0,2$. K okyselení se používá kyselina octová. Následuje sterilizace v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 15 minut.

Složení:

polypepton	10,0 g
masový extrakt	10,0 g
kvasniční extrakt	5,0 g
glukóza	20,0 g
Tween 80	1,08 g
fosfát draselný	2,0 g
octan sodný	5,0 g
citrát amonný	2,0 g
síran hořečnatý	0,2 g
síran manganatý	0,05 g

bakteriologický agar	15,0 g
destilovaná voda	1000 ml

VRBL (Violet Red Bile Agar)

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

Příprava:

13,5 g VRBL se rozpustí ve 300 ml destilované vody za stálého míchání a nechá se několik minut odležet. Hodnota pH se upraví na $7,4 \pm 0,2$ při teplotě 25 °C. Půda se nesterilizuje v autoklávu, pouze se nechá po dobu 15 minut vařit.

Složení:

peptonový masový výluh	7,0 g
kvasniční extrakt	3,0 g
laktosa	10,0 g
žlučové soli	1,5 g
chlorid sodný	5,0 g
neutrální červeň	30,0 mg
krystalová violet'	2,0 mg
bakteriologický agar	12,0 g
destilovaná voda	1000 ml

Chloramphenicol Glucose Agar

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

Příprava:

40,1 g chloramfenikolu se rozpustí v 1000 ml destilované vody, pH se upraví na hodnotu $6,6 \pm 0,2$ při 25° C. Poté se půda sterilizuje v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 15 minut (ČSN ISO 7954).

Složení:

kvasniční extrakt	5,0 g
glukóza	20,0 g

chloramfenikol	0,1 g
bakteriologický agar	15,0 g
destilovaná voda	1000 ml

Compass Enterococcus Agar

Výrobce: Biokar Diagnostics, Francie

Příprava:

52,9 g dehydratované půdy se rozpustí v 1000 ml destilované vody za stálého míchání. Po rozpuštění se upaví hodnota pH na $7,5 \pm 0,2$ a půda se sterilizuje v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 15 minut.

Složení:

pepton	27,5 g
kvasniční extrakt	5,0 g
octan sodný	5,0 g
Tween 80	1,0 g
selektivní činidla	0,3 g
X-glykosid	0,1 g
agar	14,0 g
destilovaná voda	1000 ml

4.5 Výpočet

Po ukončení kultivace byly odečteny počty narostlých typických kolonií. Pro stanovení výsledného

počtu kolonií byl použit vzorec
$$N = \frac{\sum a+b+c+d}{[V \cdot (n_1+0,1 \cdot n_2)] \cdot d}$$
. Podle tohoto vzorce byl vypočítán

průměrný počet kolonií tvořících jednotky (KTJ) v 1 g vzorku.

Legenda:

a, b, c, d – počet vyrostlých kolonií na Petriho miskách při dvou po sobě jdoucích ředěních

V- objem inokula (1 ml při metodě zalití do půdy)

d- první z obou vybraných ředění

n1 a n2 – počty misek vybraných k počítání z prvního, resp. druhého ředění

4.6 Statistické zpracování dat

Statistické vyhodnocení mikrobiologické analýzy bylo provedeno pomocí programu Statistica.cz, verze 12. Vyhodnoceny byly základní statistické charakteristiky (průměr a směrodatná chyba). Rozdíly byly posuzovány pomocí jednostupňového třídění analýzy rozptylu (jednofaktorová ANOVA) včetně testování kontrastů pomocí Tukeyova testu.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

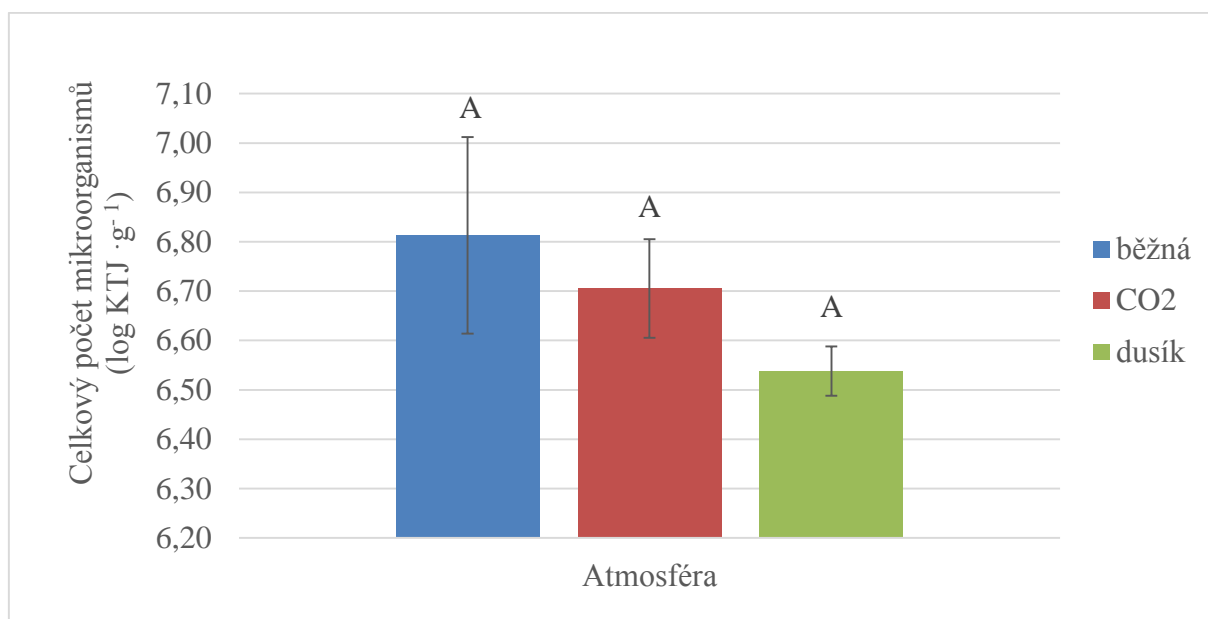
Ve vzorcích čerstvých sýrů byly stanovovány následující skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů, bakterie mléčného kvašení, koliformní bakterie, enterokoky, psychrotrofní mikroorganismy, plísně a kvasinky.

V rámci experimentu byly sledovány změny v počtech mikroorganismů u sýrů ošetřených extraktem estragonu, máty peprné a dýňovým olejem použitých při balení sýrů v závislosti na třech různých atmosférách (volné, s oxidem uhličitým a s dusíkem). Cílem bylo zjistit, zda tyto přírodní látky s antimikrobiálním účinkem mají vliv na trvanlivost čerstvých sýrů. Sýry byly skladovány při teplotě 8 °C po dobu šesti týdnů. Stanovení bylo prováděno 2., 4. a 6. týden po výrobě.

5.1 Celkové počty mikroorganismů

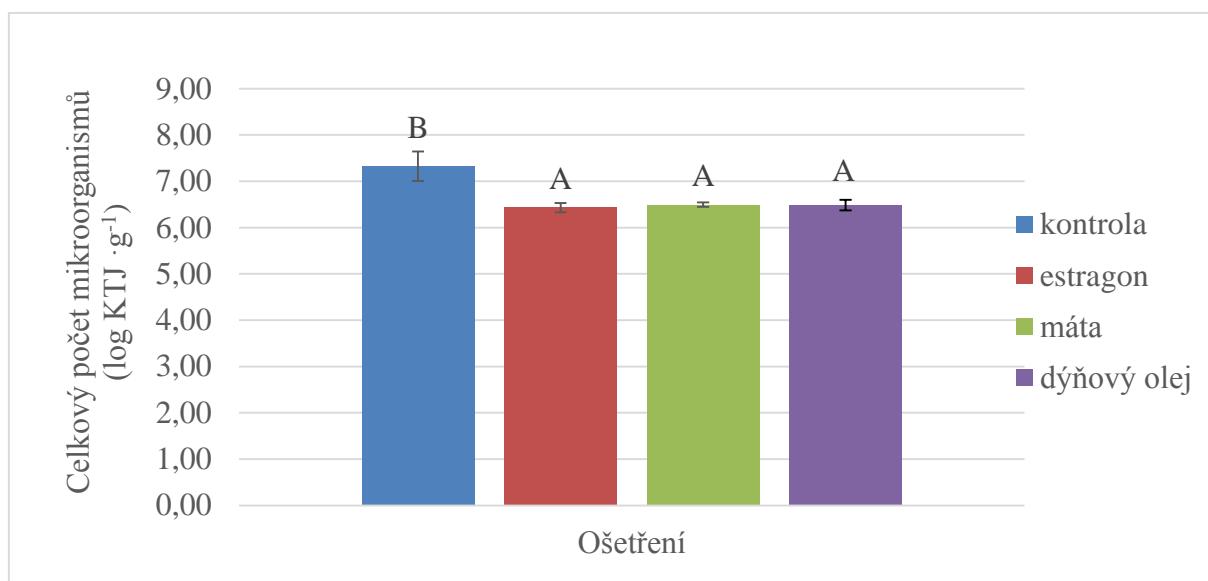
Jako celkový počet mikroorganismů (CPM) se označují všechny bakterie, plísně a kvasinky, které se vykultivují za aerobních podmínek na neselektivní nutričně bohaté půdě při teplotě 30 °C za 72 hodin za aerobních podmínek. Stanovení CPM slouží ke sledování hygienické jakosti zkoušené potraviny, suroviny nebo nápoje. CPM může být ovlivněn infikovanou mléčnou žlázou, kontaminací struků vemene nebo mléka při dojení a jeho dalším zpracování (GÖRNER, VALÍK, 2004). Zjištěná hodnota CPM v našem případě nemusí vypovídat nic o přítomnosti případných patogenních mikroorganismů ve vzorku, jelikož zahrnuje i zdraví prospěšné bakterie mléčného kvašení

Nařízení komise (ES) č. 1441/2007 o mikrobiologických kritériích pro potraviny neuvádí limit pro celkový počet mikroorganismů v čerstvých sýrech. Čerstvé sýry vyrobené z pasterizovaného mléka mají vysoký obsah vody a s tím souvisí omezená doba skladování. Během přepravy a skladování v prodejnách je nutné dodržovat a kontrolovat podmínky chlazení. K prodloužení doby trvanlivosti může pomoci zabalení sýrů do modifikované atmosféry nebo vakuového balení.



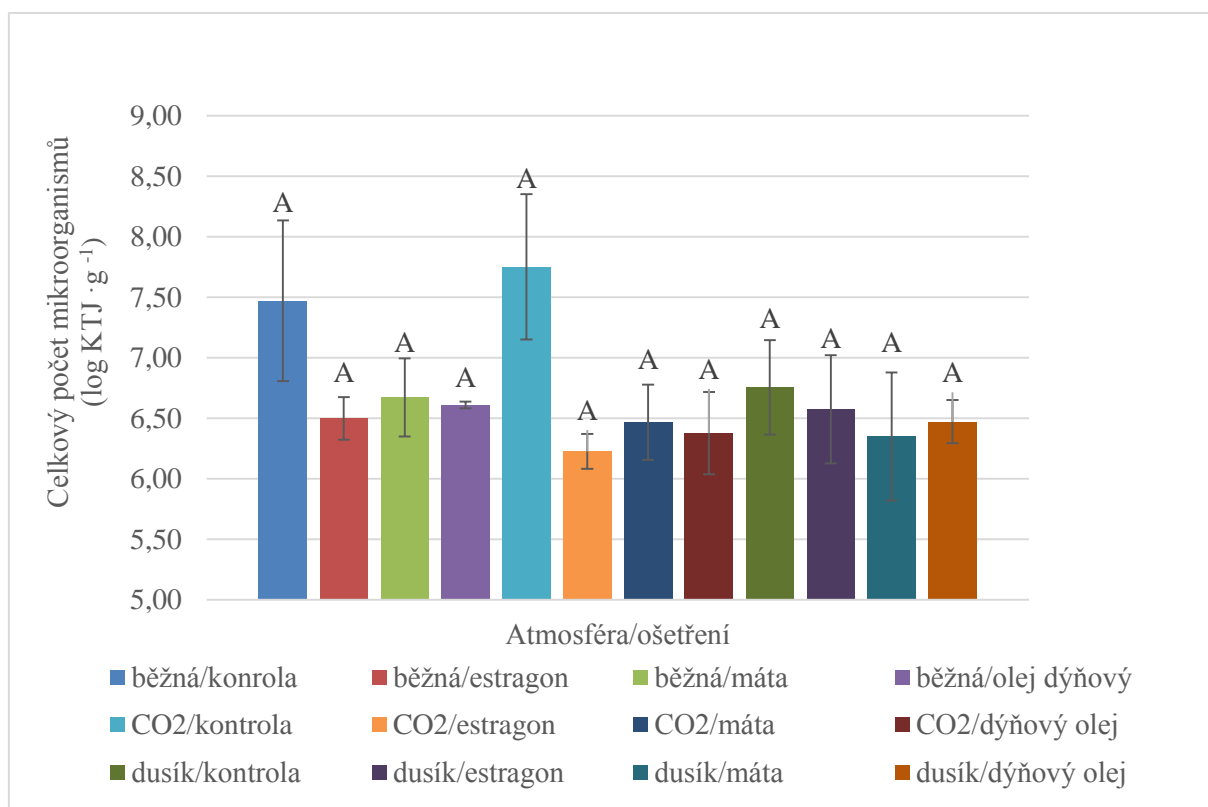
Obrázek 1. Porovnání celkového počtu mikroorganismů (log KTJ · g⁻¹) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na třech různých atmosférách – běžná, CO₂ a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

Celkové počty mikroorganismů u vzorků čerstvých sýrů v jednotlivých atmosférách se statisticky významně nelišily ($p > 0,05$), což znamená, že nebyl potvrzen účinek atmosféry na prodloužení doby trvanlivosti čerstvých sýrů. Počet mikroorganismů ve vzorku zabaleném v atmosféře běžné byl 6,82 log KTJ.g⁻¹, u vzorku baleného do atmosféry s oxidem uhličitým 6,71 log KTJ.g⁻¹ a ve vzorku zabaleném v atmosféře s dusíkem 6,54 log KTJ.g⁻¹. Jiné studie však inhibiční účinek atmosfér prokazují. Alves et. al. (2006) ve své studii porovnávali účinek atmosféry obsahující 100 % CO₂ a N₂ s atmosférou obsahující 50 % CO₂ a N₂ na prodloužení trvanlivosti mozzarely a uvádějí, že účinnější byla atmosféra s 50 % CO₂ a s 100 % N₂. Podobné účinky na strouhaný sýr mozzarella zjistili také Eliot et. al. (1998). Obě studie potvrzují inhibiční účinek CO₂ na růst patogenních mikroorganismů. K účinnějšímu prodloužení doby trvanlivosti sýrů dochází zabalením sýrů do ochranné atmosféry CO₂ při teplotě 4 °C.



Obrázek 2. Porovnání celkového počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej. Průměry označené písmeny A a B se v rámci daného faktoru (ošetření) statisticky liší ($p < 0,05$).

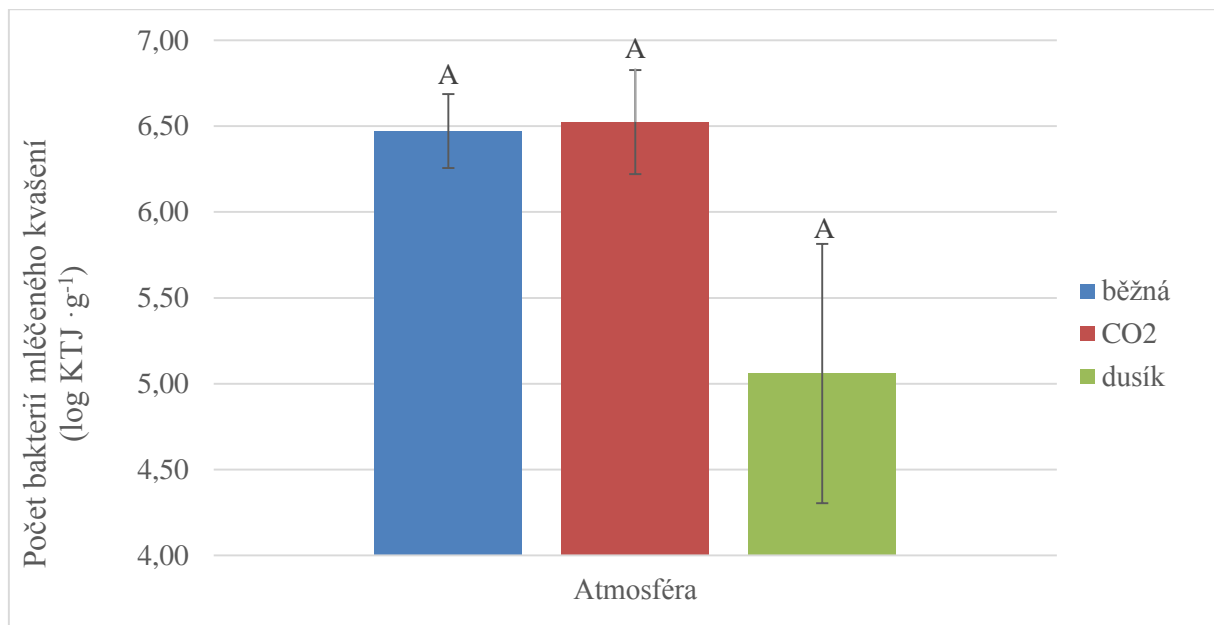
Celkové počty mikroorganismů u vzorků čerstvých sýrů ošetřených mátou peprnou, estragonem a dýňovým olejem se statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Hodnoty celkových počtů mikroorganismů u ošetřených sýrů se pohybovaly v rozmezí $6,43 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1} - 6,49 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Statisticky se však od sebe lišily ($p < 0,05$) vzorky ošetřených sýrů od vzorku kontrolního, ve kterém byla detekována nejvyšší hodnota celkového počtu mikroorganismů $7,32 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Z toho tedy vyplývá, že ošetření čerstvých sýrů rostlinnými extrakty a olejem má inhibiční vliv na celkový počet mikroorganismů. Vliv esenciálního oleje z máty peprné (*Mentha piperita* L) na celkový počet mikroorganismů zjistili ve své studii i Moosavy et. al. (2013). Uvádí, že vlivem esenciálního oleje z máty peprné dochází k výraznému snížení nebo k úplné eliminaci *Listeria monocytogenes*. Jejich studie také dokazuje vliv koncentrace NaCl a teploty na růst této bakterie. Vyšší počty byly detekovány u vzorků sýru při vyšší teplotě ($14 \text{ }^\circ\text{C}$) a vyšší koncentraci soli (15 %).



Obrázek 3. Porovnání celkového počtu mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej a třech různých atmosférách – běžná, CO₂ a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra/ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

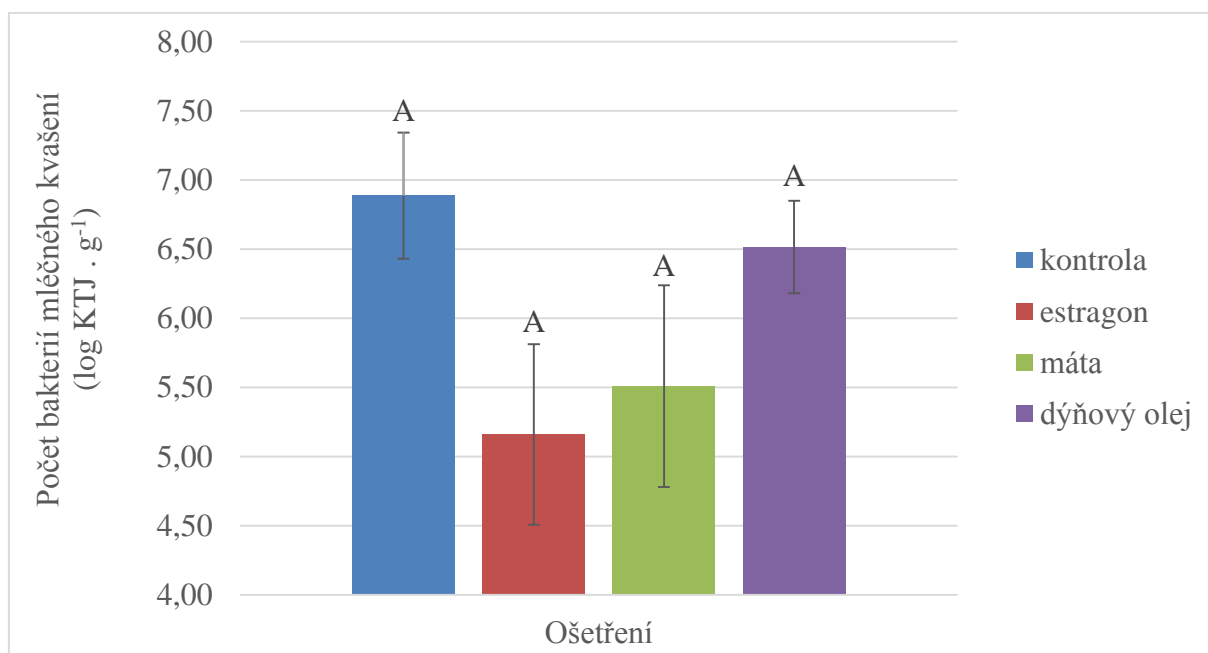
Z obrázku 3 je patrné, že se celkové počty mikroorganismů v závislosti na atmosféře a způsobu ošetření od sebe statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Z toho vyplývá, že způsob balení v atmosférách v kombinaci s ošetřením přírodními látkami nemá vliv na celkový počet mikroorganismů. Hodnoty CPM se pohybovaly v rozmezí 6,22 $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ - 7,75 $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Görner a Valík (2004) uvádí, že pomocí CPM se zjišťuje, jestli při výrobě daného produktu byla jeho mikrobiologické čistotě a správné hygienické praxi věnována dostatečná pozornost. Vyšší hodnoty celkových počtů mikroorganismů mohou být důkazem toho, že byl produkt vyroben pomocí nedostatečně čistého nebo kontaminovaného zařízení a náradí. V neposlední řadě mohou zvýšené počty těchto mikroorganismů detekovat pomnožení mikroorganismů během skladování, kdy není dodržen správný proces, chlazení, tedy správná teplota a čas.

5.2 Bakterie mléčného kvašení



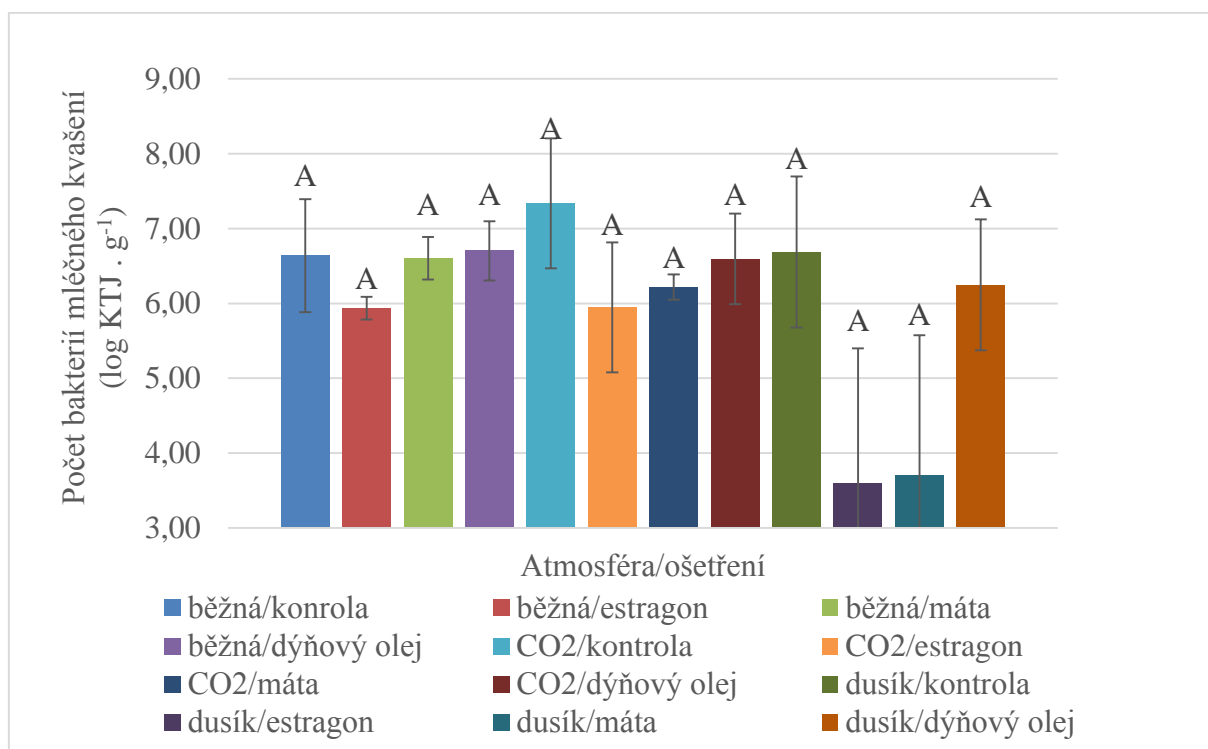
Obrázek 4. Porovnání počtu bakterií mléčného kvašení ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na třech různých atmosférách - běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

Počty bakterií mléčného kvašení u vzorků čerstvých sýrů v jednotlivých atmosférách se statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Počet bakterií mléčného kvašení ve vzorku zabaleném v běžné atmosféře byl $6,47 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$, ve vzorku zabaleném v atmosféře s oxidem uhličitým $6,52 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ a ve vzorku baleném v atmosféře s dusíkem $5,06 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Tendence k vyššímu nárůstu BMK je nepatrně viditelná u vzorku sýru zabaleného v atmosféře s oxidem uhličitým. Z těchto výsledků vyplývá, že na množství BMK v čerstvých sýrech nemá způsob balení v různých atmosférách žádný vliv. To stejné zjistili také ve své studii Eliot et. al. (1998), kteří potvrzují, že způsob balení v atmosféře s CO_2 , N_2 nebo ve vakuu nemá na počty bakterií mléčného kvašení žádný vliv.



Obrázek 5. Porovnání bakterií mléčného kvašení ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

Množství bakterií mléčného kvašení u vzorků čerstvých sýrů ošetřených mátou peprnou, estragonem a dýňovým olejem se statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Hodnoty bakterií mléčného kvašení u ošetřených sýrů se pohybovaly v rozmezí $5,16 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ - $6,88 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Tendence k inhibičnímu účinku na počet BMK byla zjištěna u vzorku ošetřeného estragonem a tendence k nárůstu těchto prospěšných bakterií vykazoval vzorek ošetřený dýňovým olejem. Podobně Gammariello et. al. (2008) sledovali ve svém výzkumu vliv rostlinných látek – tymiánu, vanilky, máty peprné a extraktu z citrusového oleje na počet bakterií mléčného kvašení v čerstvých sýrech během jejich skladování. Statisticky významně se od sebe nelišily hodnoty vzorků ošetřených tymiánem, vanilkou a mátou, ale staticky průkazný výsledek se projevil u vzorku sýru ošetřeného citrusovým olejem. Počty BMK se zvyšovaly i během chladírenského skladování. Studie však nepotvrdila statisticky průkazné rozdíly mezi kontrolním vzorkem a vzorky ošetřenými účinnými látkami. Z konečných výsledků studie tedy vyplývá, že přírodní látky nemají vliv na růst bakterií mléčného kvašení.

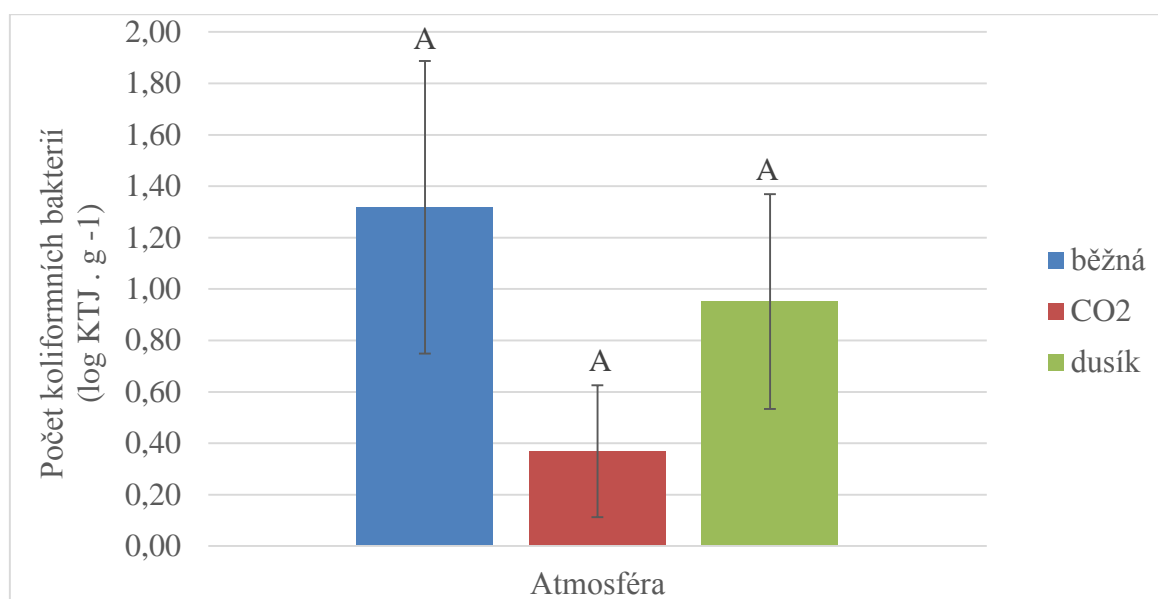


Obrázek 6. Porovnání bakterií mléčného kvašení ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej a třech různých atmosférách – běžná, CO₂ a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra/ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

Z obrázku 6 vyplývá, že se množství bakterií mléčného kvašení v závislosti na atmosféře a způsobu ošetření od sebe statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Hodnoty BMK se pohybovaly v rozmezí $3,59 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ - $7,33 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Tendence k vyššímu růstu bakterií mléčného kvašení se projevila u vzorku kontrolního, který byl zabalený do atmosféry s oxidem uhličitým.

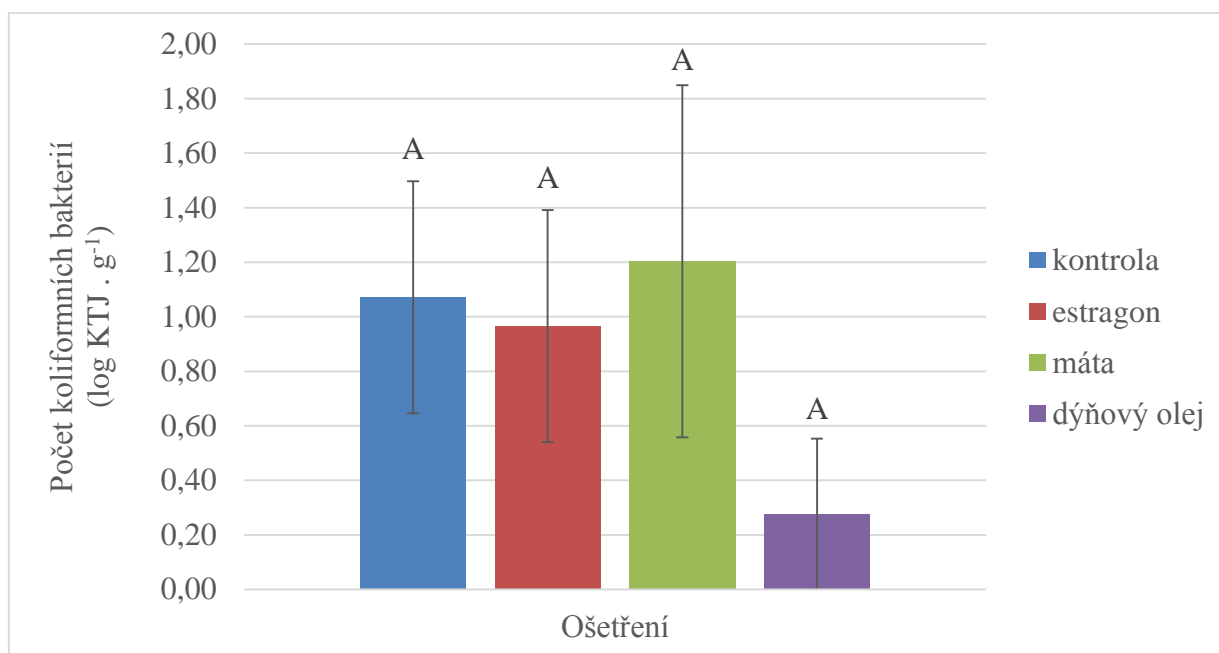
Ploková (2012) uvádí, že bakterie mléčného kvašení mají funkci technologickou, jelikož mají schopnost fermentovat substrát a dodávat tak potravině typický charakter, protektivní, neboť prodlužují dobu použitelnosti produktu a přispívají ke zvýšení jeho bezpečnosti a také probiotickou. V mléčných výrobcích je tedy žádán, co nejvyšší počet těchto zdravých prospěšných bakterií.

5.3 Koliformní bakterie



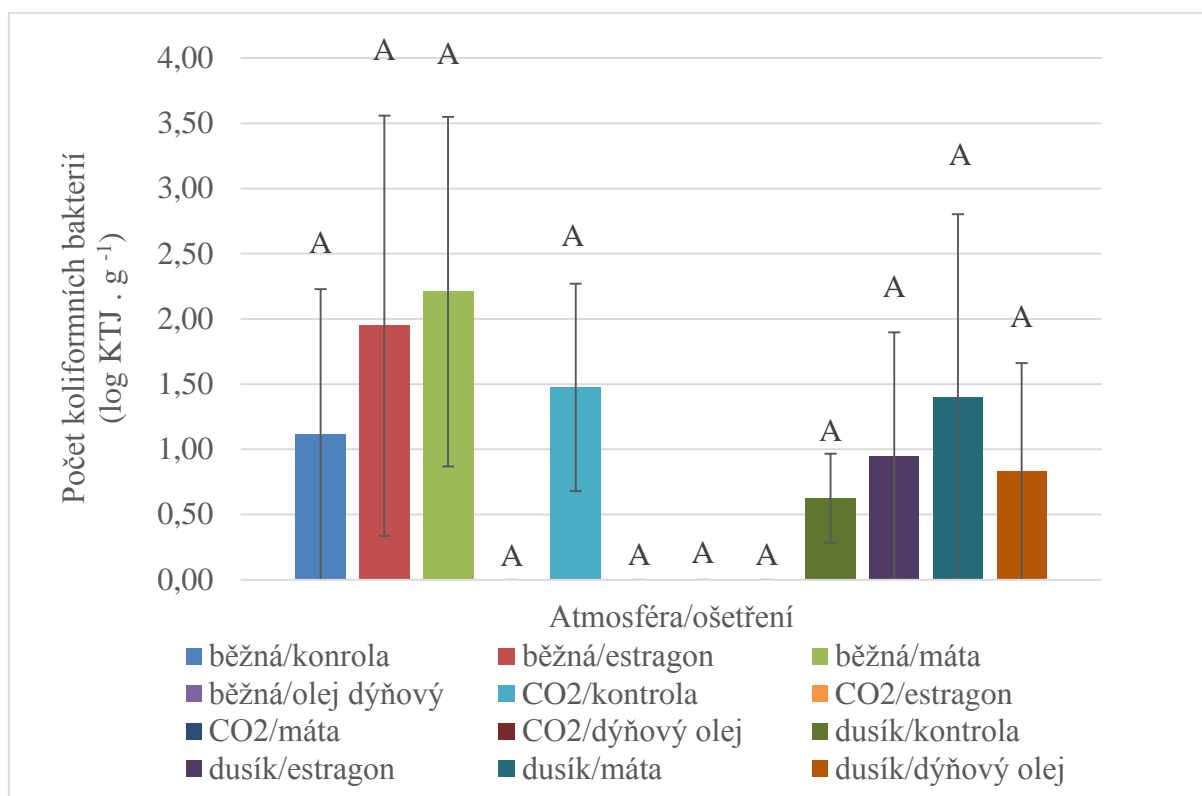
Obrázek 7. Porovnání počtu koliformních bakterií (log KTJ · g⁻¹) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na třech různých atmosférách - běžná, CO₂ a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

Počty koliformních bakterií u vzorků čerstvých sýrů v jednotlivých atmosférách se statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Počet koliformních bakterií ve vzorku sýrů zabaleného v běžné atmosféře byl 1,31 log KTJ · g⁻¹, v atmosféře s oxidem uhličitým 0,36 log KTJ · g⁻¹ a v atmosféře s dusíkem 0,95 log KTJ · g⁻¹. Tendence k nárůstu koliformních bakterií byla zjištěna ve vzorku sýru zabaleného v atmosféře běžné (1,31 log KTJ · g⁻¹) a tendence k poklesu koliformních bakterií se projevovovala u vzorku sýru zabaleného v atmosféře s oxidem uhličitým (0,36 log KTJ · g⁻¹). Del Caro et. al. (2012) ve svém výzkumu potvrzují inhibiční účinek CO₂ na růst koliformních bakterií ve vzorcích čerstvých ovčích sýrů balených ve vakuu, v běžné atmosféře a v atmosféře s CO₂. Počet koliformních bakterií v atmosféře s CO₂ nebyl vyšší než 4,0 log KTJ · g⁻¹ a u sýrů balených v běžné atmosféře a ve vakuu dosahoval hodnoty až 9,0 log KTJ · g⁻¹. Z toho vyplývá, že působením oxidu uhličitého dochází k omezení růstu koliformních bakterií v čerstvých sýrech. V České republice udává přípustné množství koliformních bakterií v čerstvých sýrech Nařízení EP a Rady (ES) 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny 10² KTJ/ g.



Obrázek 8. Porovnání počtu koliformních bakterií (log KTJ · g⁻¹) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

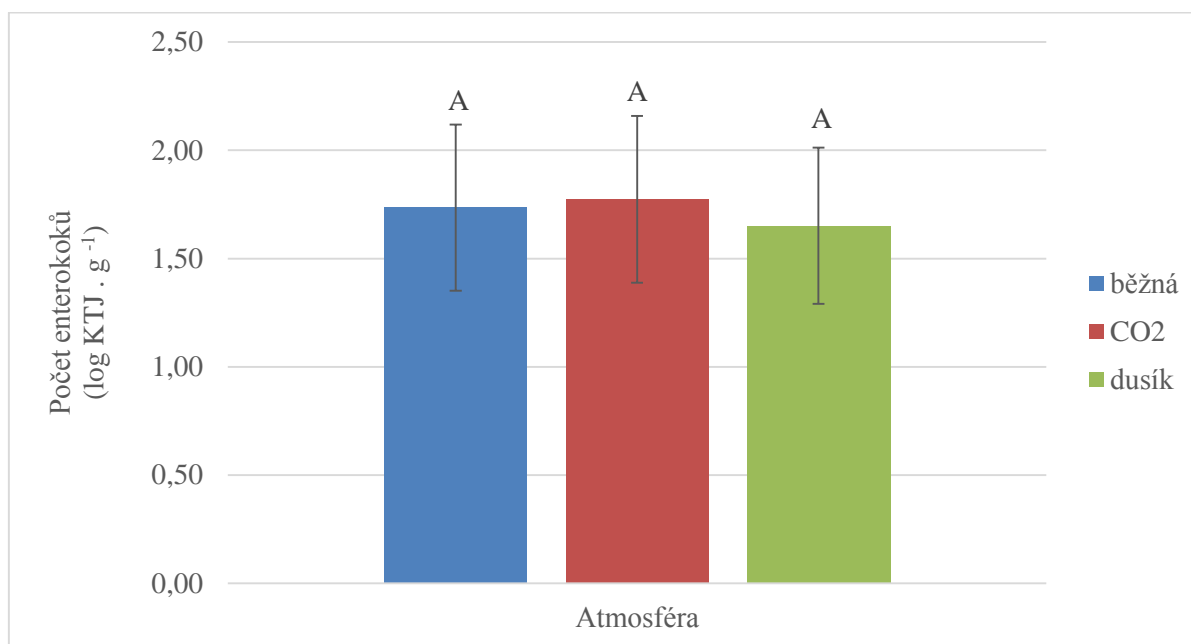
Počty koliformních bakterií u vzorků čerstvých sýrů ošetřených mátou pepnou, estragonem a dýňovým olejem se statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Hodnoty koliformních bakterií u ošetřených sýrů se pohybovaly v rozmezí 0,27 log KTJ · g⁻¹ – 1,20 log KTJ · g⁻¹. U dýňového oleje se projevila tendence k inhibičnímu účinku, jelikož u tohoto vzorku byla naměřená hodnota 0,27 log KTJ · g⁻¹ a naopak tendence k nárůstu koliformních bakterií byla detekována u vzorku ošetřeného extraktem z máty pepné s hodnotou 1,20 log KTJ · g⁻¹. Podobný experiment provedli Yossa et. al. (2012) se vzorkem špenátu, kde byl sledován vliv kyseliny skořicové, která patří mezi přírodní antioxidanty a je obsažená ve formě esterů v četných přírodních pryskyřicích. Yossa et. al. (2012) uvádí, že působení kyseliny skořicové má vliv na nárůst počtu koliformních bakterií ve vzorcích špenátu. Počet koliformních bakterií ve vzorku špenátu ošetřeného kyselinou skořicovou oproti kontrolnímu vzorku byl vyšší o více než 2 log KTJ · g⁻¹. Koliformní bakterie jsou indikátory rekontaminace a nedostatečné hygieny při výrobním procesu, proto je cílem snižovat počty těchto bakterií v potravinách na minimum, které udává Nařízení EP a Rady (ES) 2073/2005.



Obrázek 9. Porovnání počtu koliformních bakterií ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej a třech různých atmosférách – běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra/ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

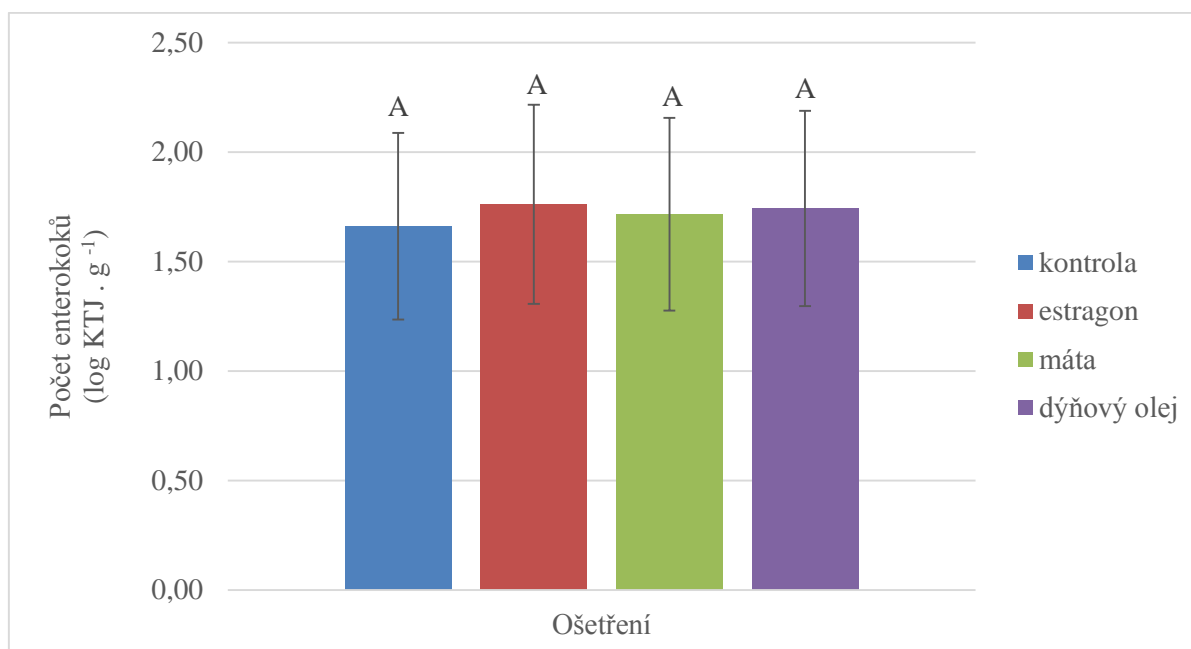
Z obrázku 9 vyplývá, že se počty koliformních bakterií v závislosti na atmosféře a způsobu ošetření od sebe statisticky významně nelišily ($p > 0,05$), z čehož vyplývá, že způsob balení v atmosférách v kombinaci s ošetřením přírodními látkami nemá vliv na počty těchto bakterií. Hodnoty koliformních mikroorganismů se pohybovaly v rozmezí $2, 20 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ – $0 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Tendence k potlačení růstu těchto bakterií se projevila u vzorku ošetřeného dýňovým olejem v kombinaci se zabalením do běžné atmosféry a vzorků ošetřených estragonem, mátou peprnou, dýňovým olejem a zabalených v atmosféře s oxidem uhličitým. Fattouch et. al. (2007) a Lanciotti et. al., (2004) uvádějí, že antimikrobiální vlastnosti přírodních látek z rostlin jsou uznávány po celá staletí, ale vědecké výzkumy jejich účinky prověřují teprve posledních 30 let. V dnešní době roste zájem o hledání nových antimikrobiálních látek pro využití při výrobě potravin s účelem prodloužit jejich dobu trvanlivosti a zajistit inhibici růstu patogenních mikroorganismů, mezi které koliformní bakterie patří.

5.4 Enterokoky



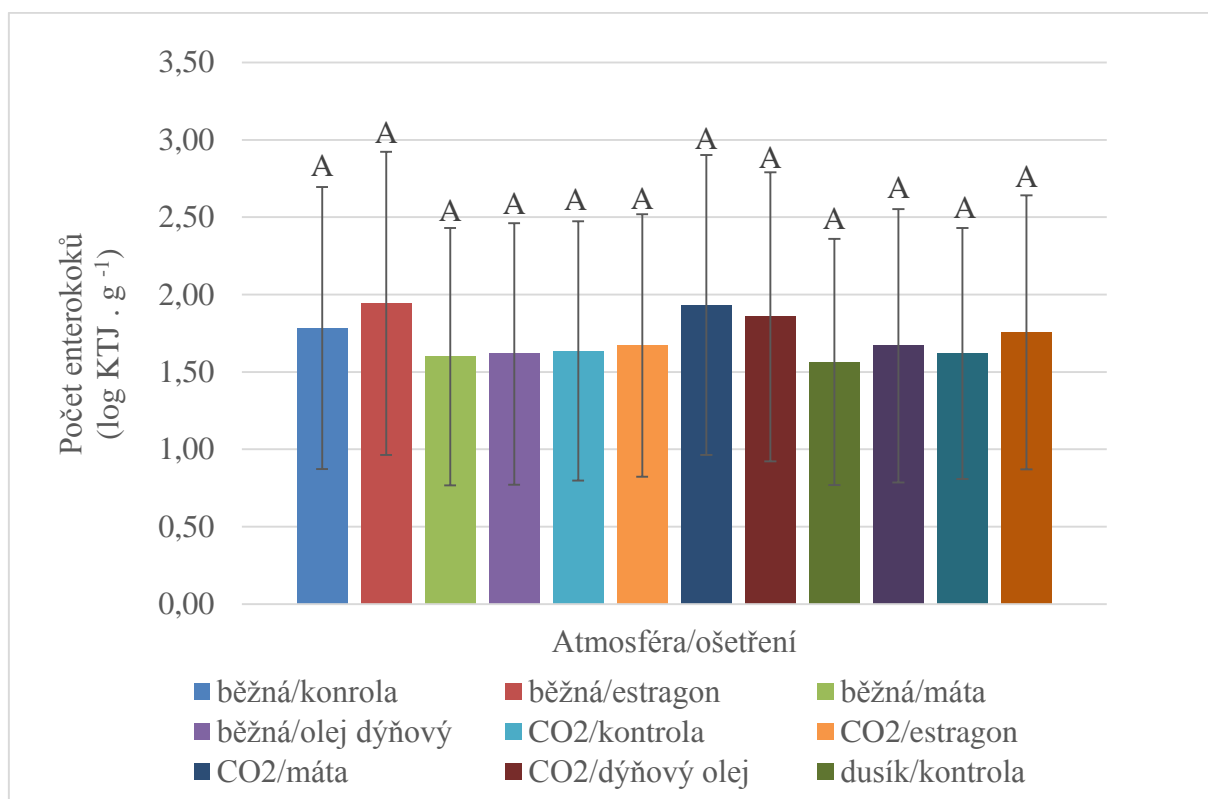
Obrázek 10. Porovnání počtu enterokoků ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na třech různých atmosférách - běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

Počty enterokoků u vzorků čerstvých sýrů v jednotlivých atmosférách se statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Počet enterokoků ve vzorku zabaleném v atmosféře běžné byl $1,73 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$, v atmosféře s oxidem uhličitým $1,77 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ a s dusíkem $1,65 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Rozdíly v počtech byly minimální, avšak tendence k prodloužení trvanlivosti čerstvých sýrů byla zjištěna u vzorku sýru zabaleného do atmosféry s oxidem uhličitým. Vliv CO_2 na prodloužení trvanlivosti sýrů prokázali ve své studii také Kirkin et. al. (2013), jejichž výsledky prokázaly, že atmosféry s obsahem oxidu uhličitého mají pozitivní vliv na mikrobiologickou kvalitu čerstvých sýrů ve srovnání s kontrolním vzorkem a vzorkem zabaleným v aerobní atmosféře. Atmosféry s vyšším obsahem oxidu uhličitého inhibují nejen enterokoky, ale také plísně a kvasinky. V další studii bylo pozorováno, že vysoké hladiny oxidu uhličitého inhibují růst enterokoků v čerstvých kozích sýrech, v sýru mozzarella a v syrovátkových sýrech. Tyto výsledky uvádí Temiz, et. al. (2009).



Obrázek 11. Porovnání počtu enterokoků ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

Počty enterokoků u vzorků čerstvých sýrů ošetřených mátou peprnou, estragonem a dýňovým olejem se statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Počty enterokoků se pohybovaly v rozmezí $1,66 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ - $1,76 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$, tedy na nízké hranici. Inhibiční účinek přírodních látek na enterokoky zjistila také Mašková (2008), která ve svém výzkumu, ve kterém se zabývala inhibičním účinkem koření na enterokoky, potvrdila antimikrobiální účinek hřebíčku a červené papriky na tuto skupinu mikroorganismů. Antimikrobiální vlastnosti hřebíčku na enterokoky testovali také Agaoglu et. al. (2006) a potvrdili, že právě hřebíček vykazuje velmi dobrý inhibiční efekt na uvedený druh mikroorganismů. Další studie, kterou provedli Capuzzo et. al. (2013) potvrdila antimikrobiální vlastnosti éterického oleje izolovaného z mrkve. Hlavní účinnou složkou je karotol, který byl velmi účinný proti *E. faecalis*.



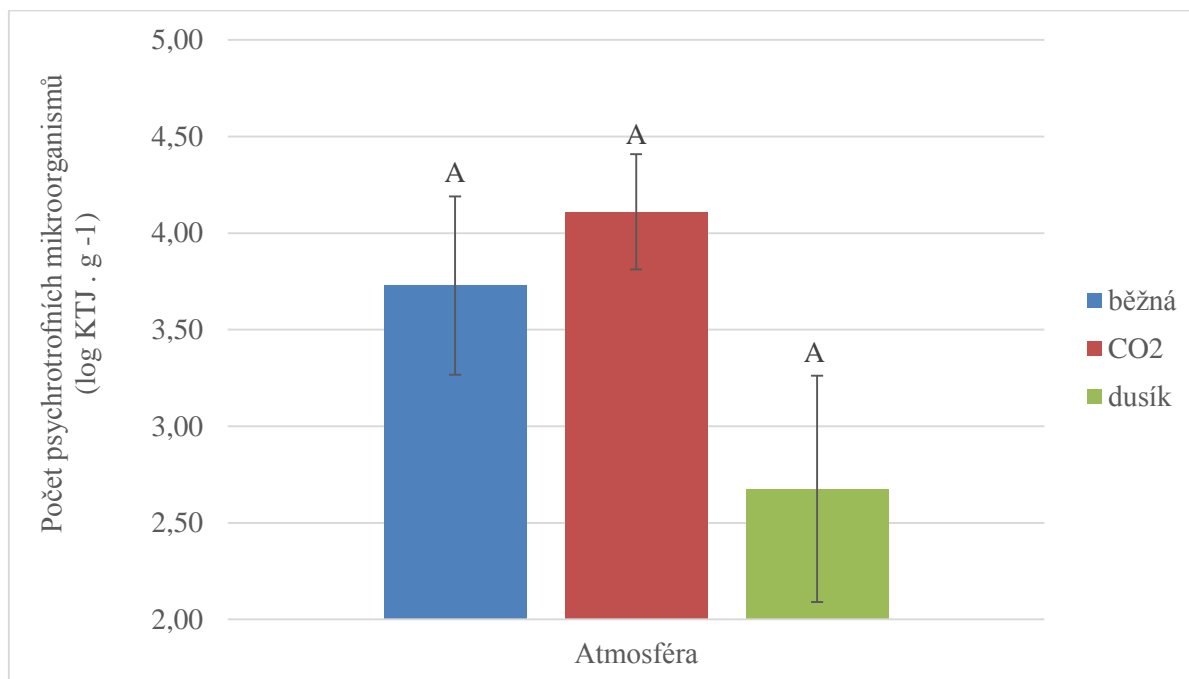
Obrázek 12. Porovnání počtu enterokoků ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej a třech různých atmosférách – běžná, CO₂ a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra/ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

Z obrázku 12 je patrné, že se počty enterokoků v závislosti na atmosféře a způsobu ošetření od sebe statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Hodnoty enterokoků se pohybovaly v rozmezí 1,56 – 1,94 $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Tendence k nejnižšímu růstu byl pozorován u kontrolního vzorku sýrů zabaleného v atmosféře s dusíkem. Vliv atmosfér v kombinaci s přírodními látkami vykazujícími antimikrobiální účinky zjišťovali také Bevilacqua et. al. (2007), kteří zkoumali možnost, jak prodloužit trvanlivost salátu Caprese pomocí modifikované atmosféry (65:30:5 N₂:CO₂:O₂) v kombinaci s thymolem, který je obsažen v tymiánu. Došli k pozitivnímu účinku modifikované atmosféry v kombinaci s thymolem, jelikož trvanlivost salátu byla prodloužená o 8 dní bez negativních dopadů na sensorické vlastnosti. Počty enterokoků byly po celou dobu výzkumu víceméně stejné. Během skladování nebyla statisticky prokázána vzrůstající tendence enterokoků.

Počet enterokoků v čerstvých sýrech není v Nařízení Komise č. 1441/2007 o mikrobiologických kritériích pro potraviny, ani v ČSN 56 96 09 limitován. Gelsomino et. al. (2002) uvádí, že výskyt enterokoků v mléku a sýrech byl dlouho považován

za výsledek nehygienických podmínek během procesu získávání a zpracování mléka, přímo jako kontaminace fekáliemi a nepřímo byl jejich výskyt spojován s kontaminovaným zdrojem vody, dojitím zařízením a sběrnými tanky. Na druhou stranu Ebringer (2002) píše, že enterokoky hrají důležitou úlohu při zrání sýrů a vytváření jejich aroma, pravděpodobně v důsledku rozkladu bílkovin, lipolýzy, rozkladu kyseliny citrónové jako produktu diacetylu, acetonu a jiných důležitých prchavých látek, čím přispívají k jejich typické chuti a aroma.

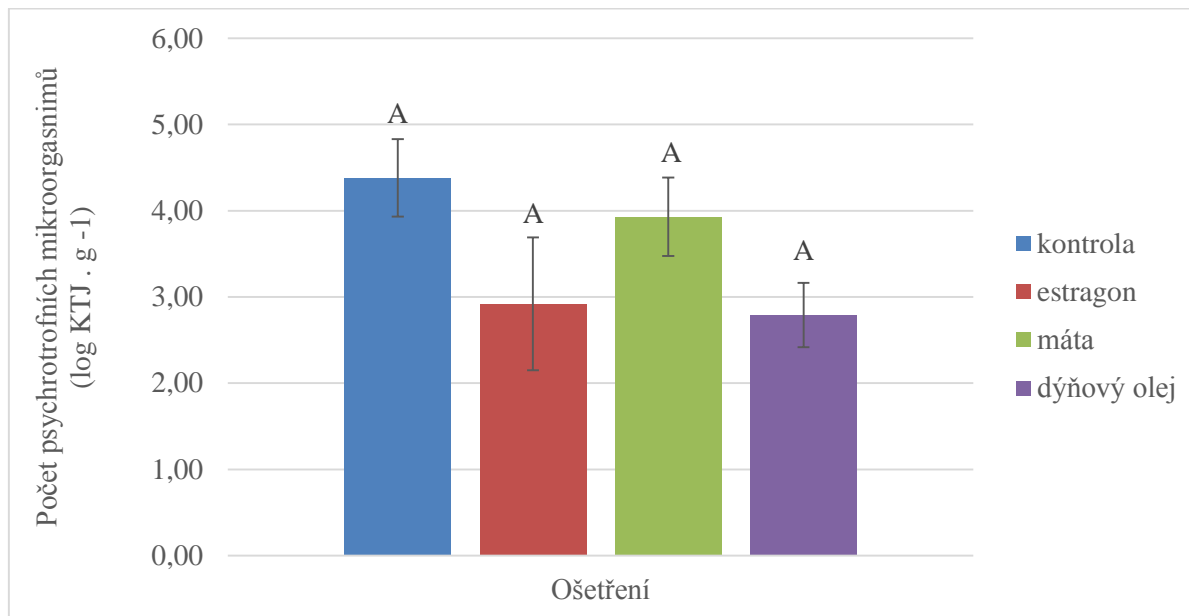
5.5 Psychrotrofní mikroorganismy



Obrázek 13. Porovnání počtu psychrotrofních mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na třech různých atmosférách - běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

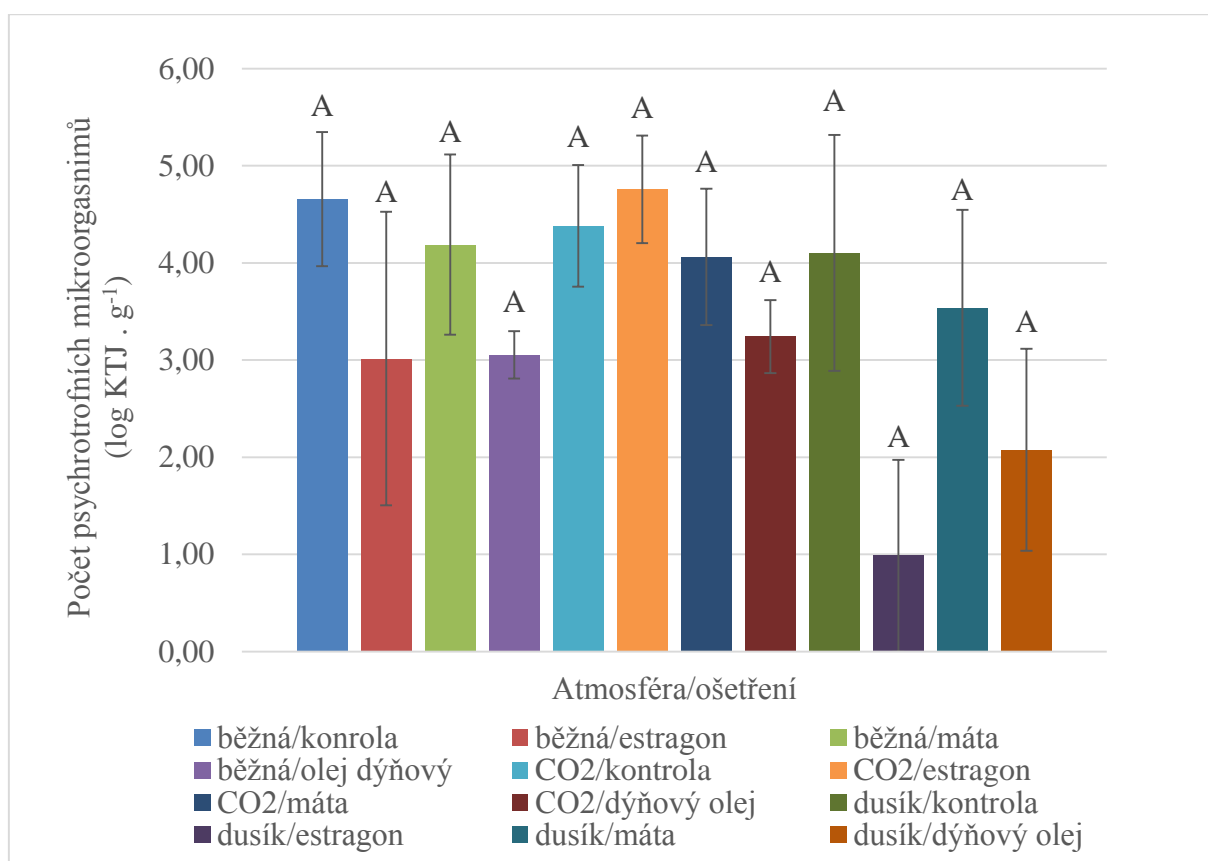
Počty psychrotrofních mikroorganismů ve vzorcích čerstvých sýrů v jednotlivých atmosférách se statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). V atmosféře s oxidem uhličitým byla zaznamenána tendence k nárůstu počtu psychrotrofních organismů dle naměřené hodnoty $4,11 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Zatímco hodnota $2,67 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ byla ukazatelem tendence k poklesu počtu psychrotrofních mikroorganismů v čerstvých sýrech působením dusíku. Dermiki et. al. (2008), ve svém výzkumu potvrdili, že přítomnost oxidu uhličitého přispívá k významnému nárůstu počtu psychrotrofních mikroorganismů ve vzorcích sýrů. Zatímco Eliot et. al. (1998) zjistili, že atmosféra CO_2 nemá žádný vliv na růst psychrotrofních mikroorganismů.

Lze to vysvětlit tím, že počet těchto mikroorganismů se zvyšuje snížením teploty u vzorků sýrů. Počty psychrotrofních mikroorganismů byly nižší u vzorků skladovaných při teplotě 4 °C a naopak vyšší hodnoty byly zjištěny u vzorků skladovaných při teplotě 7 °C.



Obrázek 14. Porovnání počtu psychrotrofních mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

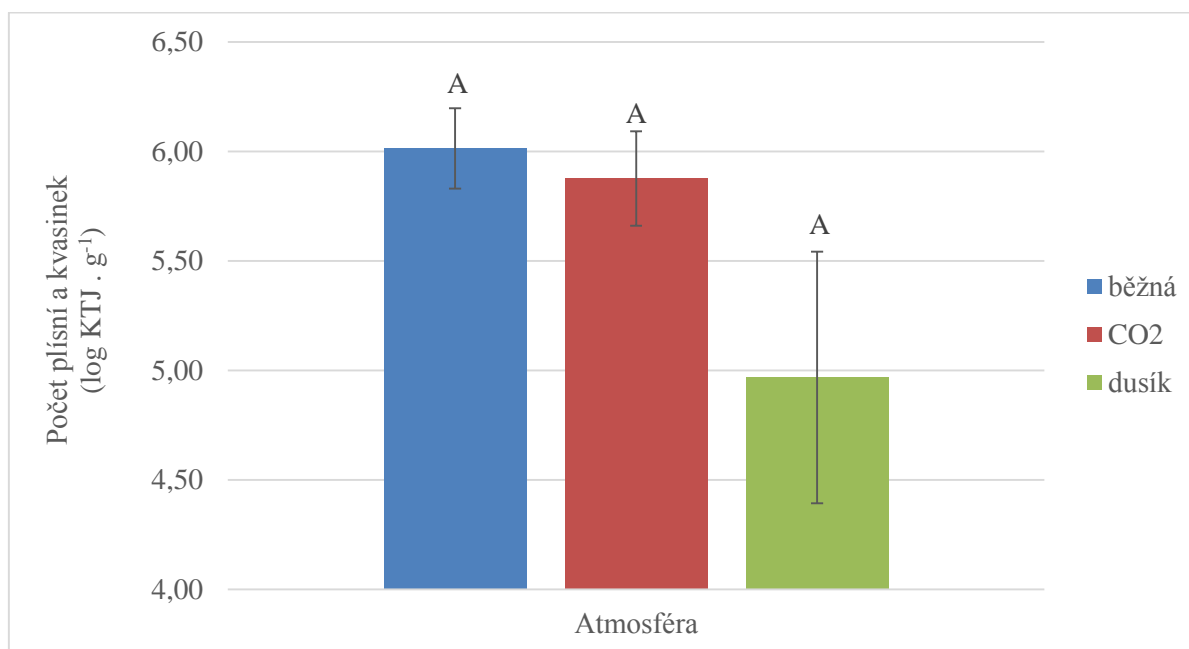
Obsahy psychrotrofních mikroorganismů u vzorků čerstvých sýrů ošetřených mátou peprnou, estragonem a dýňovým olejem se statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Z výsledků vyplývá, že ošetření těmito látkami nemá vliv na růst psychrotrofních mikroorganismů v čerstvých sýrech. Tendence k inhibičnímu účinku byla nejvíce detekována u vzorku sýru ošetřeného dýňovým olejem ($2,79 \log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$). Podobný experiment zjišťující antimikrobiální účinnost extraktu skořice na vzorky mléka provedli také Capuzzo et. al. (2013) a ani v jejich výzkumu se vliv této látky na počet psychrotrofních mikroorganismů, konkrétně na rod *Pseudomonas*, *Bacillus spp.* a *Acinetobacter*, nepotvrdil.



Obrázek 15. Porovnání počtu psychrotrofních mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej a třech různých atmosférách – běžná, CO₂ a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra/ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

Z obrázku 15 je patrné, že se počty psychrotrofních mikroorganismů v závislosti na atmosféře a způsobu ošetření od sebe statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Počty psychrotrofních mikroorganismů se pohybovaly v rozmezí 0,98 – 4,75 $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. U vzorku sýru ošetřeného estragonem a zabaleného v atmosféře s dusíkem se projevila nejvíce tendence k omezení růstu těchto bakterií. Počet psychrotrofních mikroorganismů poskytuje základní informace o stupni mikrobiální kontaminace a rekontaminace surovin, finálních výrobků a prostředí provozoven. Navrátilová a kol. (2012) uvádí, že se nejčastěji v mléce nachází *Pseudomonas fluorescens* (> 50 %), méně často potom *P. fragi*, *P. putida* nebo *P. aeruginosa*. Z dalších psychrotrofních bakterií jsou z mléka izolovány gramnegativní tyčinky rodů *Acinetobacter*, *Psychrobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Achromobacter* a *Shewanella putrefaciens*. V malém množství se v mléce mohou vyskytovat i psychrotrofní kmeny *Bacillus spp.*, zejména druhů *B. coagulans*, *B. circulans*, *B. cereus* a *B. subtilis*.

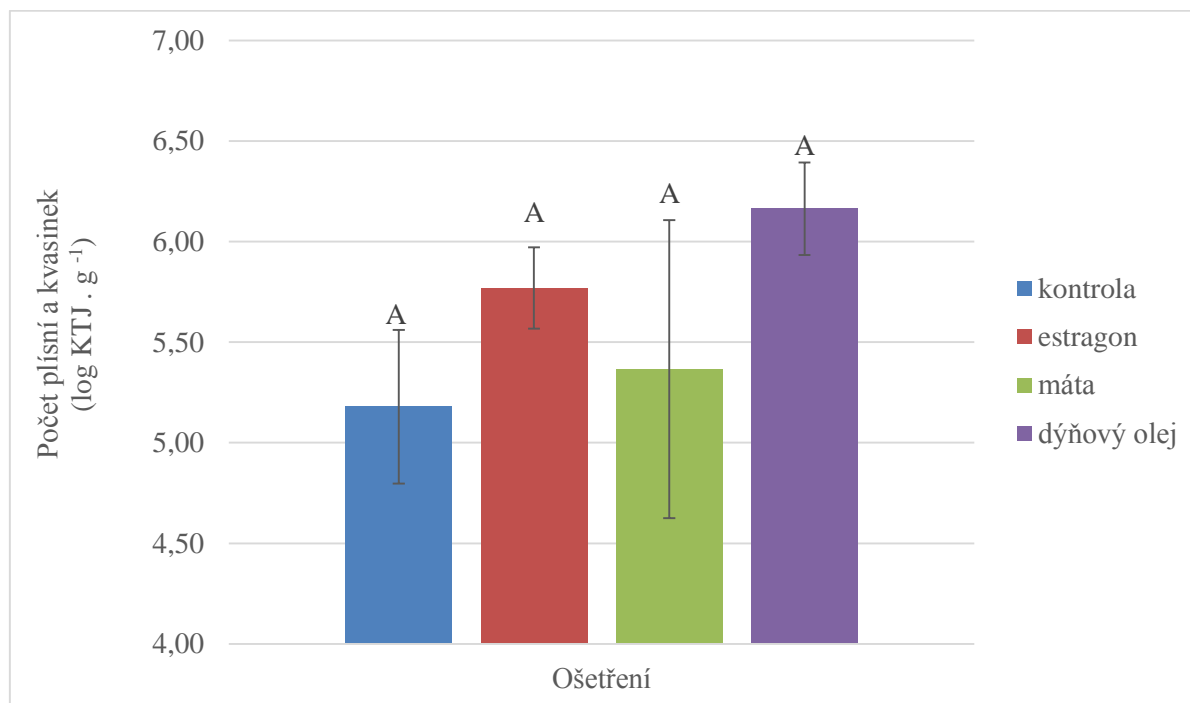
5.6 Plísňe a kvasinky



Obrázek 16. Porovnání počtu plísňí a kvasinek ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na třech různých atmosférách - běžná, CO₂ a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

Počty plísňí a kvasinek u vzorků čerstvých sýrů v jednotlivých atmosférách se statisticky významně nelišily ($p > 0,05$), a to tedy nepotvrzuje inhibiční vliv atmosféry s obsahem CO₂ ani N₂ na růst plísňí a kvasinek. Počet plísňí a kvasinek ve vzorku sýru zabaleném v běžné atmosféře byl 6,01 $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$, v atmosféře s oxidem uhličitým 5,87 $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$ a ve vzorku zabaleném v atmosféře s dusíkem 4,96 $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Jiné studie naopak potvrzují pokles plísňí a kvasinek vlivem těchto atmosfér. Del Caro et al. (2012) ve studii uvádí, že počty plísňí a kvasinek ve vzorcích čerstvých ovčích sýrů byly na tak nízké úrovni, což potvrdilo inhibiční účinek CO₂ na tuto skupinu mikroorganismů. Podobný účinek prokázali také Olivares et. al. (2012), kteří ve studii uvádí, že počty plísňí a kvasinek ve vzorcích sýrů Mozzarella zůstaly na přijatelné a kontrolované úrovni, což také vypovídá o inhibičním účinku atmosféry s obsahem N₂ a CO₂. Ougi et. al. (2007) pozorovali vliv atmosféry běžné a atmosfér s různým procentuálním obsahem oxidu uhličitého a dusíku na množství kvasinek ve strouhaném sýru typu čedar. Množství kvasinek bylo výrazně odlišné od sýru baleného v běžné atmosféře od sýru baleného v atmosféře obsahující CO₂ a N₂. V jejich studii byl opět potvrzen inhibiční účinek oxidu uhličitého. Eliot et. al. (1998), zaznamenali úplnou inhibici růstu kvasinek v sýru mozzarella, který byl zabalen v atmosféře obsahující (10 % CO₂ a 90 % N₂, 50 % CO₂ a 50 % N₂) a skladován při teplotě 10 °C po dobu 8 týdnů.

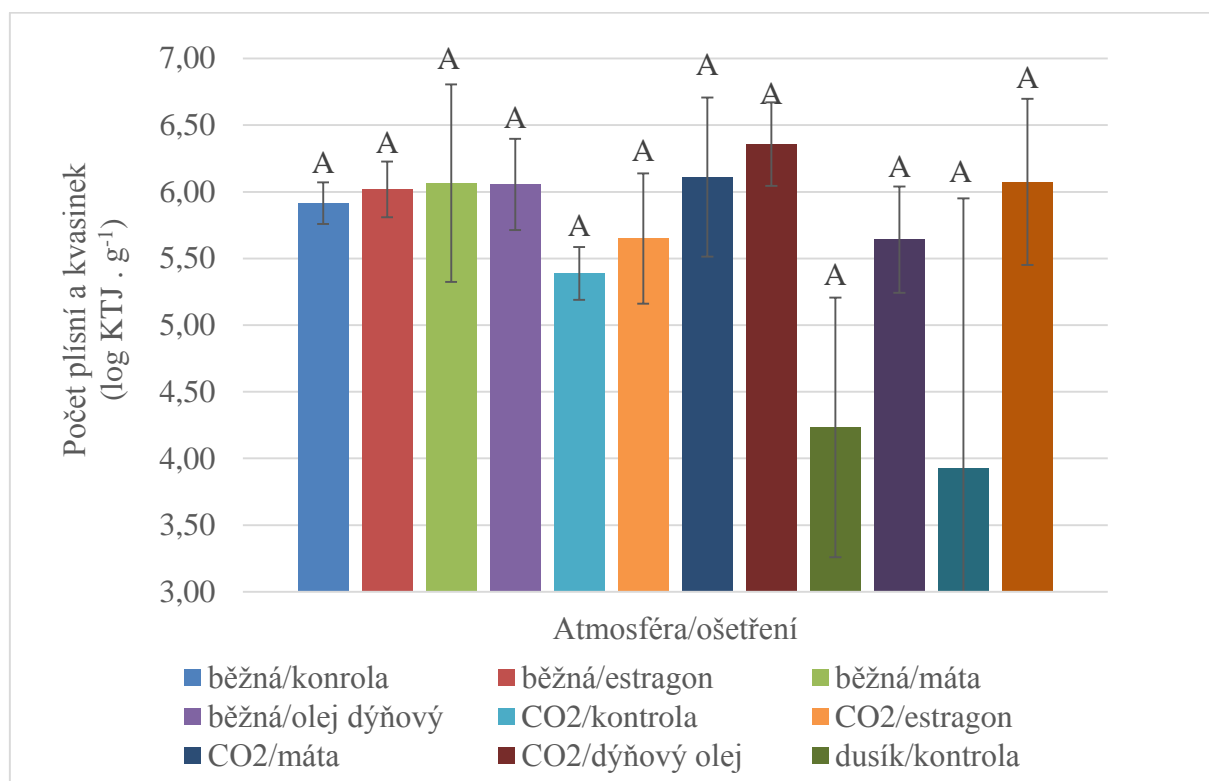
Nicméně Alves et. al. (1996), zjistili, že modifikované atmosféry s obsahem 100 % CO₂ a 50 % CO₂/50% N₂ mají účinek opačný, protože v tomto případě došlo k nárůstu kvasinek až na hodnotu 7 log KTJ.g⁻¹.



Obrázek 17. Porovnání počtu plísní a kvasinek (log KTJ · g⁻¹) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

Obsahy plísní a kvasinek u vzorků čerstvých sýrů ošetřených mátou peprnou, estragonem a dýňovým olejem se statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Tendence k vyššímu růstu a množení této skupiny mikroorganismů byl pozorován u vzorku ošetřeného dýňovým olejem (6,16 log KTJ · g⁻¹) a tendence k omezení růstu byla zjištěna u vzorku sýru ošetřeného mátou peprnou (5,36 log KTJ · g⁻¹). Inhibiční vliv přírodních antimikrobiálních látek na růst plísní a kvasinek v čerstvých sýrech popisují ve studii El-aziz et. al. (2012), kteří prokázali antimikrobiální účinek zázvoru. Zázvor obsahuje sloučeniny – gingerol a shogaol, které vykazují antimikrobiální aktivitu. V kontrolním vzorku sýru, který nebyl ošetřen zázvorem, se začaly kvasinky a plísně objevovat již v druhém týdnu, ale u vzorků sýrů ošetřených extraktem ze zázvoru nebyly pozorovány po celou dobu skladování. Tuto skutečnost potvrdili také Ficker et. al. (2003), kteří ve své studii zkoumali antimikrobiální aktivitu rostlinných extraktů včetně zázvoru ve vzorcích sýrů a dospěli k závěru, že extrakt ze zázvoru vykázal jeden z nejsilnějších účinků na potlačení růstu plísní a kvasinek. Během skladování nebyly zjištěny

zvýšené počty plísní a kvasinek ani koliformních bakterií. V průběhu skladování se může projevit účinek kyselosti, která se během skladování v sýrech zvyšuje.



Obrázek 18. Porovnání počtu plísní a kvasinek ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej a třech různých atmosférách – běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra/ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$).

Z obrázku 18 vyplývá, že se počty plísní a kvasinek v závislosti na atmosféře a způsobu ošetření od sebe statisticky významně nelišily ($p > 0,05$). Počty plísní a kvasinek se pohybovaly v rozmezí 3,92 – 6,35 $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$. Tendence k vyššímu počtu těchto mikroorganismů se projevila u vzorku sýru ošetřeného dýňovým olejem a uloženém v atmosféře s oxidem uhličitým (6,35 $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) a tendence k omezení růstu byl zaznamenán u vzorku ošetřeného mátou peprou a zabaleného v atmosféře s oxidem uhličitým (3,92 $\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$). Navrátilová (2012), uvádí, že plísně a kvasinky působí kažení mléčných výrobků. Jsou-li přítomny v syrovém mléce, dochází k jejich účinné devitalizaci pasterací. Jejich růst na povrchu sýrů se projevuje tvorbou slizu a barevnými změnami. Nejčastěji se v mléčných výrobcích vyskytují rody *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* a *Candida*. Výskyt plísní v mléčných výrobcích se projevuje tvorbou typických kolonií na jejich povrchu a vznikem sensorických změn. Nejčastěji bývá u sýrů identifikován rod *Geotrichum spp.*

ČSN 56 9609 z roku 2008 udává nejvyšší mezní hodnotu kvasinek u potravin určených k přímé spotřebě s výjimkou potravin, kde jsou takové mikroorganismy součástí kulturní mikroflóry (do této kategorie patří také čerstvé sýry) v řádu 10^7 a nejvyšší mezní hodnotu plísní jako růst plísní viditelný pouhým okem.

6 ZÁVĚR

V poslední době je velký zájem a snaha nacházet nové způsoby ošetření sýrů přírodním způsobem s cílem prodloužit jejich trvanlivost. Provádí se mnoho studií, které prověřují účinnost rostlinných látek s antimikrobiální aktivitou, aby se nemusely do potravin přidávat látky chemické povahy, o které je ze strany spotřebitelů stále menší zájem.

V této diplomové práci byl zjišťován účinek atmosféry s obsahem dusíku a oxidu uhličitého a přírodních látek z estragonu, máty peprné a dýňového oleje na trvanlivost čerstvých sýrů při skladovací teplotě 8 °C. V rámci experimentu bylo stanovováno šest skupin mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů, bakterie mléčného kvašení, koliformní bakterie, enterokoky, psychrotrofní mikroorganismy, plísně a kvasinky ve vzorcích čerstvých sýrů.

Předpokládali jsme vliv oxidu uhličitého a dusíku na prodloužení doby trvanlivosti u těchto sýrů, jelikož obě atmosféry se vyznačují inhibičním působením na patogenní skupiny mikroorganismů. Vliv atmosfér na trvanlivost těchto sýrů se statisticky neprojevil ani u jedné skupiny mikroorganismů. Z toho vyplývá, že způsob balení čerstvých sýrů do atmosféry s oxidem uhličitým nebo dusíkem neměl při této skladovací teplotě a délce skladování na jejich trvanlivost žádný vliv.

Dále jsme předpokládali, že trvanlivost čerstvých sýrů se prodlouží ošetřením mátou peprou, estragonem nebo dýňovým olejem. Zde se statisticky prokázal vliv všech způsobů ošetření na snížení celkového počtu mikroorganismů oproti kontrolním vzorkům. Počty BMK nebyly výrazně negativně ovlivněny druhem atmosféry ani ošetřením přírodními látkami, to lze považovat za pozitivní zjištění, protože BMK jsou v sýrech žádoucí. Množství BMK se v sýrech pohybovalo v rozmezí $10^5 - 10^8$ KTJ . g^{-1} . Koliformních bakterií a enterokoků bylo stanoveno malé množství, což je pozitivní výsledek. U sýrů je důležité, aby počty těchto bakterií byly nízké. Nařízení EP a Rady (ES) 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny povoluje přípustné množství koliformních bakterií 10^2 KTJ . g^{-1} v nezrajících měkkých sýrech (čerstvých sýrech) vyrobených z pasterizovaného či silněji tepelně ošetřeného mléka nebo z pasterizované či silněji tepelně ošetřené syrovátky, což v našem experimentu nebylo překročeno. Počet enterokoků v čerstvých sýrech není v Nařízení Komise č. 1441/2007 o mikrobiologických kritériích pro potraviny, ani v ČSN 56 96 09 limitován. Mohou se ale významně podílet spolu s koliformními bakteriemi na tvorbě biogenních aminů. Psychrotrofní mikroorganismy byly detekovány v rozmezí $10^2 - 10^5$ KTJ . g^{-1} , statisticky se neprokázal vliv druhu atmosféry nebo ošetření na inhibici této skupiny mikroorganismů. Výskyt těchto

organismů je ukazatelem nízké úrovně hygieny při výrobě sýrů. Poslední stanovovanou skupinou byly plísně a kvasinky. Tato skupina se v čerstvých sýrech zabalených do atmosféry i ošetřených přírodními látkami vyskytovala až na výjimky ve vysokých počtech, přičemž kvasinky dominovaly nad plísněmi. U sýrů ošetřených přírodními látkami, zejména dýňovým olejem dosahovala hodnota až 10^6 KTJ \cdot g⁻¹. Viditelný plísňový porost nebyl detekován u žádného vzorku. Proto lze usuzovat, že na sýrech se nacházely pouze spory plísní, které byly inhibovány zvolenými podmínkami skladování a ošetřením a vyklíčily až v optimálních podmínkách při vlastní analýze.

7 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

- ANDĚL, Michal., 2012: *Sýry a tvarohy ve výživě*. Praha: Česká technologická platforma pro potraviny, 31 s. ISBN 978-80-905096-2-7.
- ALDINI R, MICUCCI M, CEVENINI M, FATO R, BERGAMINI C, et al. 2014: *Antiinflammatory Effect of Phytosterols in Experimental Murine Colitis Model: Prevention, Induction, Remission Study*. PLoS ONE 9(9): e108112. doi:10.1371/journal.pone.0108112
- BERESFORD, Tom P, Nora A FITZSIMONS, Noelle L BRENNAN a Tim M COGAN. Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*. 2001, vol. 11, 4-7, s. 259-274. DOI: 10.1016/S0958-6946(01)00056-5. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694601000565>
- BLAŽKOVÁ, M. a kol., 2005: *Nebezpečný patogen a jeho detekce v potravinách*. Chemické listy, (99), 467–473.
- ČSN 56 9609: Pravidla správné hygienické a výrobní praxe – Mikrobiologická kritéria pro potraviny
- DAVÍDEK, Jiří, Gustav JANÍČEK a Jan POKORNÝ, 1983: *Chemie potravin: učebnice pro vys. školy chemickotechnologické*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 629 s.
- DEL CARO, ALESSANDRA, ANNA M SANGUINETTI, COSTANTINO FADDA, GAVINO MURITTU, ANGELA SANTORU a ANTONIO PIGA, 2012: Extending the shelf life of fresh ewe's cheese by modified atmosphere packaging. *International Journal of Dairy Technology*. Vol. 65, issue 4, s. 548-554. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2012.00866.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1471-0307.2012.00866.x>
- DERMIKI, Maria, Athina NTZIMANI, Anastasia BADEKA, Ioannis N. SAVVAIDIS a Michael G. KONTOMINAS, 2008: Shelf-life extension and quality attributes of the whey cheese “Myzithra Kalathaki” using modified atmosphere packaging. *LWT - Food Science and Technology*, vol. 41, issue 2, s. 284-294. DOI: 10.1016/j.lwt.2007.02.014. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643807001041>
- DOSTÁLOVÁ, Jana a Pavel KADLEC, 2014: *Potravinářské zbožíznalství: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 425 s. ISBN 978-80-7418-208-2.

- DVOŘÁKOVÁ, Marcela, Irena VALTEROVÁ a Tomáš VANĚK, 2011: Monoterpeny v rostlinách. *Chemické listy* [online]. Praha: Česká společnost chemická, č. 105, s. 839-845 [cit. 2015-03-11]. Dostupné z:http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_11_839-845.pdf
- EBRINGER, L., 2002: *Enterococci in foods - Functional and safety aspects*. Praha, Bratislava, Bulletin Československé společnosti mikrobiologické. s.87-92. ISSN 0009-0646.
- EL-AZIZ, Mahmoud, Sahar MOHAMED a Faten SELEET, 2012: Production and Evaluation of Soft Cheese Fortified with Ginger Extract as a Functional Dairy Food. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* [online]. Vol. 62, issue 2, s. - [cit. 2015-04-09]. DOI: 10.2478/v10222-011-0046-0. Dostupné z:<http://www.degruyter.com/view/j/pjfn.2012.62.issue-2/v10222-011-0046-0/v10222-011-0046-0.xml>
- FERNANDES, Rhea, 2009: *Microbiology handbook: dairy products*. Leatherhead: Leatherhead Publishing, 173 s. ISBN 978-1-905224-62-3.
- FOX, P. 2004: *Cheese: chemistry, physics, and microbiology* /. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier, 617 s. ISBN 0-12-263652-x1.
- GAJDŮŠEK, S., 1995: *Mikrobiologické požadavky na kvalitu mléka a čistící a dezinfekční postupy při procesu dojení*. In: Sborník ze semináře "Hygiena získávání mléka.", VÚCHS Rapotín, s. 12-17.
- GAJDŮŠEK, Stanislav., 2003: *Laktologie*. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 78 s. ISBN 80-7157-657-3.
- GREIFOVÁ, M., GREIF, G., LEŠKOVÁ, E., MÉRIOVÁ, K., 2003: Enterokoky - ich hodnotenie v mliekarenskej technológii. *Mliekarstvo* 34 č. 2, p. 42 - 45.
- GYAWALI, R., & IBRAHIM, S. A., 2012: Impact of plant derivatives on the growth of foodborne pathogens and the functionality of probiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95(1), 29-45. doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s00253-012-4117-x>
- GELSOMINO, R. VANCANNEYT, M. COGAN, T. M. et al., 2002: Source of enterococci in a farmhouse raw-milk cheese. In: *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 68, 2002, p. 3560-3565.
- GÖRNER, Fridrich a L'ubomír VALÍK, 2004: *Aplikovaná mikrobiológia požívatin: princípy mikrobiológie požívatin, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho pôvodu,*

ktorých zárodky sú prenášané požívatinami. Vyd. 1. Bratislava: Malé Centrum, 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

- HEREDIA, Norma, Irene WESLEY a Santos GARCÍA., 2009: *Microbiologically safe foods*. Hoboken: John Wiley & Sons, 667 s. ISBN 978-0-470-05333-1.
- HORKÝ, Pavel, Šárka HOŠKOVÁ a Marie BALABÁNOVÁ., 2014: *Škodlivé mikroorganismy v zemědělství*. V Brně: Mendelova univerzita, 35 s. ISBN 978-80-7375-965-0.
- HUDECOVÁ, Daniela a Viktor MAJTÁN, 2001: *Mikrobiológia I*. 1. vyd. Bratislava: Vydavateľstvo STU, 189 s. ISBN 80-227-1663-4.
- IBURG, Anne., 2004: *Lexikon octů a olejů: původ, chuť, použití, recepty*. 1. vyd. Dobřešovice: Rebo Productions, 299 s. ISBN 80-7234-382-3.
- JANŠTOVÁ, Bohumíra., 2012: *Technologie mléka a mléčných výrobků*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 141 s. ISBN 978-80-7305-635-3.
- JIČÍNSKÁ, Eva a Jana HAVLOVÁ, 1996: *Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích*. Vyd. 1. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 106 s. ISBN 80-85120-47-x.
- JOHNSON, E.M. et al., 1990: *J. of Food Protection*, 53, s. 441-519
- KADLEC, Pavel, Karel MELZUCH a Michal VOLDŘICH., 2009: *Co byste měli vědět o výrobě potravin? Technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 536 s. ISBN 978-80-7418-051-4.
- KADLEC, Pavel, Karel MELZUCH a Michal VOLDŘICH., 2012: *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 569 s. ISBN 978-80-7418-145-0.
- KAVINA, Josef., 1997: *Zbožiznalství potravinářského zboží pro 3. ročník středních odborných učilišť a integrovaných středních škol učebního oboru prodavač - prodavačka, zaměření pro potravinářské zboží a pro smíšené zboží: [64-60-2/02]*. 1. vyd. Praha: IQ 147, 335 s.
- KIRKIN, Celale, Gurbuz, GUNES a Meral, KILIC-AKYILMAZ, 2013: Preservation of precut white cheese by modified atmosphere packaging. *International Journal of Dairy Technology*. DOI: 10.1111/1471-0307.12082. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/1471-0307.12082>
- KLABAN, Vladimír., 2005: *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*. 1. české vyd. Praha: Galén, 654 s. ISBN 80-7262-341-9.

- KNĚŽ, Václav., 1960: *Výroba sýrů: určeno technikům a předním dělníkům v podnicích mlékárenského průmyslu a jako učební pomůcka studentům na průmyslové škole mlékárenské a v závodních školách práce*. 2., dopl. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 377 s.
- KOPÁČEK J., 2011: Vady sýrů a faktory, které je ovlivňují. *Potravinářská revue*, 3/2011, 100 s.
- KOPŘIVA, Vladimír., 2014: *Vybrané kapitoly z biochemie potravin*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 200 s. ISBN 978-80-7305-677-3.
- LUKÁŠOVÁ, Jindra., 1999: *Hygiena a technologie produkce mléka*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 101 s. ISBN 80-85114-53-4.
- LUKÁŠOVÁ, Jindra., 2001: *Hygiena a technologie mléčných výrobků*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 180 s. ISBN 80-7305-415-9.
- MALÍŘ, František a Vladimír OSTRÝ., 2003: *Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. Vyd. 1. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 349 s. ISBN 80-7013-395-3.
- MARTH, E. H., 1985: Pathogens in milk and milk products. In: *Standart methods for the Examination od Dairy products*. Washington, s.43
- MAŠKOVÁ, Hana., 2008: *Koření - sortiment, účinné látky, antimikrobiální aktivita* [online]. Brno, [cit. 2015-04-08]. Diplomová práce. Mendelova univerzita.
- MINDELL, Earl a Hester MUNDIS., 2010: *Nová vitaminová bible: vitaminy, minerální látky, antioxidanty, léčivé rostliny, doplňky stravy, léčebné účinky potravin i léky používané v homeopatii*. Vyd. 3. Praha: Ikar, 572 s. ISBN 978-80-249-1419-0.
- MOOSAVY, Mir-Hassan, Saber ESMAEILI a Ehsan MOSTAFAVI., 2013: Antibacterial Effect of Mentha spicata Essential Oil on Listeria monocytogenes in Traditional Lighvan Cheese. *Journal of Food Safety*. Vol. 33, issue 4, s. 509-514. DOI: 10.1111/jfs.12083. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/jfs.12083>
- NAVRÁTILOVÁ, Pavlína., 2012: *Hygiena produkce mléka*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 129 s. ISBN 978-80-7305-624-7.
- Nařízení EP a Rady (ES) 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny
- Nařízení komise (ES) č. 1441/2007 o mikrobiologických kritériích pro potraviny
- NĚMEČKOVÁ, I., M. SCHMIDTOVÁ, H. ROHACKÁ a P. ROUBAL., 2011: Metody stanovení a charakterizace termorezistentních mikroorganismů v mléce. *Mlékařské*

listy: zpravodaj. Praha.: Výzkumný ústav mlékárenský, č. 125, s. 1-3. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2011/125_s_i-iv.pdf

- OLIVARES, M.L., G.A. SIHUFE, M.L. CAPRA, A.C. RUBIOLO a S.E. ZORRILLA. 2012: Effect of protective atmospheres on physicochemical, microbiological and rheological characteristics of sliced Mozzarella cheese. *LWT - Food Science and Technology*. Vol. 47, issue 2, s. 465-470. DOI: 10.1016/j.lwt.2012.02.008. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643812000850>
- OYUGI, EVONNE a ELNA M BUYS., 2007: Microbiological quality of shredded Cheddar cheese packaged in modified atmospheres. *International Journal of Dairy Technology* [online]. Vol. 60, issue 2, s. 89-95 [cit. 2015-04-09]. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2007.00315.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1471-0307.2007.00315.x>
- PAVELKA, Antonín., 1996: *Mléčné výrobky pro vaše zdraví*. Vyd. 1. Brno: Litera, 105 s. ISBN 80-85763-09-5.
- PERRICONE, Marianne, Ersilia ARACE, Maria R. CORBO, Milena SINIGAGLIA a Antonio BEVILACQUA., 2015: Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2015-02-09, vol. 6, s. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00076. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fmicb.2015.00076/abstract>
- SEYDLOVÁ, R., 2010: Hygienická kvalita mléka v ekologických chodech v ČR. *Mlékařské listy: zpravodaj*. Praha.: Výzkumný ústav mlékárenský, č. 123, s. 7-10. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2010/123_s_vii-x.pdf
- SINGH, PREETI, ALI ABAS WANI, A A, KARIM a HORST-CHRISTIAN LANGOWSKI. 2012: The use of carbon dioxide in the processing and packaging of milk and dairy products: A review. *International Journal of Dairy Technology*. Vol. 65, issue 2, s. 161-177. DOI: 10.1111/j.1471-0307.2011.00744.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1471-0307.2011.00744.x>
- SMIT, Gerrit., 2003: *Dairy processing: improving quality*. 1st publ. Cambridge: Woodhead Publishing, 546 s. ISBN 0-8493-1758-4.
- STRÁNSKÝ, Miroslav a Lydie RYŠAVÁ., 2010: *Fyziologie a patofyziologie výživy*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita, Zdravotně sociální fakulta, 182 s. ISBN 978-80-7394-241-0.

- SUKOVÁ, Irena., 2003: Přednosti a nedostatky sulfidů. In: *Agro navigátor* [online]. [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=1&typ=1&val=15018&ids=413>
- ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila., 1991: *Mikrobiologie*. Praha
- ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila., 1995: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 2. vyd., ve VP 1. vyd. Praha: Victoria Publishing, 361 s. ISBN 80-85605-71-6.
- ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila., 2002: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Vyd. 3., opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. Praha: Academia, 363 s. ISBN 80-200-1024-6.
- ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila., 1987: *Mikrobiologické zkoumání potravin*. 1. vyd. Praha: Vydala VŠCHT v Čs. redakci VN MON, 104 s.
- ŠŤASTKOVÁ, Zora, KARPÍŠKOVÁ, Renata. A kol., 2012: Možnosti detekce stafylokokových enterotoxinů. *Chemické listy* (106), 745–749.
- ŠUSTOVÁ, Květoslava a Vladimír SÝKORA., 2013: *Mlékárenské technologie*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova univerzita, 223 s. ISBN 978-80-7375-704-5.
- TRNA J., TÁBORSKÁ E., *Přírodní polyfenolové antioxidanty*. [on – line 11.3.2015] Dostupné z: www.med.muni.cz/biochem/seminare/prirantiox.rtf
- VEIT, Myriam., 2014: *Léčivá kosmetika z přírody: jak si vyrobit hojivé masti, oleje a esence*. 1. vyd. Praha: Grada, 199 s. ISBN 978-80-247-4586-2.
- VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ., 2009: *Chemie potravin 2: [Investice do rozvoje vzdělávání, reg.č.: CZ1.07/2.2.00/15.0084]*. Rozšířené a přepracované 3. vyd. Tábor: OSSIS, 623 s. ISBN 978-80-86659-17-6.
- VLKOVÁ, Eva, Vojtěch RADA a Jiří KILLER., 2009: *Potravinářská mikrobiologie*. 2. vyd. V Praze: Česká zemědělská univerzita, 168 s. ISBN 978-80-213-1988-2.
- WADEKAR, R., MAITRI, S., UJJWAL B., SAGAR B., KALPANA P., 2011: Plant Derived Phytoestrogens : A Comprehensive Review, *Journal of Pharmacy Research*, 3806-3810 , vol.4, ISSN 0974-6943. Dostupné z: <http://web.a.ebscohost.com.proxy.mzk.cz/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=25&sid=2fe7a5ab-86e8-41c3-91b3-6dcfa6167159@sessionmgr4002&hid=4109>
- YOSSA, N., PATEL, J., MILLNER, P., & LO, Y. M., 2012: Essential oils reduce escherichia coli O157:H7 and salmonella on spinach leaves[dagger]. *Journal of Food Protection*, 75(3), 488-96. Retrieved from <http://search.proquest.com/docview/1015033895?accountid=12552>

8 SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ

Seznam tabulek

Tabulka 1. Rozdělení sýrů (Podle přílohy č. 2 k Vyhlášce Ministerstva zemědělství ČR č.77/2003 Sb. ve znění pozdějších předpisů)..... 17

Tabulka 2. Klasifikace přírodních sýrů podle konzistence ve vztahu k obsahu vody v tukuprosté hmotě sýra (Podle přílohy č. 2 k Vyhlášce Ministerstva zemědělství ČR č.77/2003 Sb. ve znění pozdějších předpisů)..... 17

Tabulka 3. Klasifikace přírodních sýrů podle obsahu tuku v sušině (Podle přílohy č. 2 k Vyhlášce Ministerstva zemědělství ČR č.77/2003 Sb. ve znění pozdějších předpisů)..... 18

Tabulka 4. Výsledky z 1. stanovení..... 77

Tabulka 5. Výsledky z 2. stanovení..... 77

Tabulka 6. Výsledky z 3. stanovení..... 77

Seznam obrázků

Obrázek 1. Porovnání celkového počtu mikroorganismů ($\log KTJ \cdot g^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na třech různých atmosférách – běžná, CO₂ a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 45

Obrázek 2. Porovnání celkového počtu mikroorganismů ($\log KTJ \cdot g^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej. Průměry označené písmeny A a B se v rámci daného faktoru (ošetření) statisticky liší ($p < 0,05$). 46

Obrázek 3. Porovnání celkového počtu mikroorganismů ($\log KTJ \cdot g^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej a třech různých atmosférách – běžná, CO₂ a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra/ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 47

Obrázek 4. Porovnání počtu bakterií mléčného kvašení ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na třech různých atmosférách - běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 48

Obrázek 5. Porovnání bakterií mléčného kvašení ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 49

Obrázek 6. Porovnání bakterií mléčného kvašení ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej a třech různých atmosférách – běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra/ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 50

Obrázek 7. Porovnání počtu koliformních bakterií ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na třech různých atmosférách - běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 51

Obrázek 8. Porovnání počtu koliformních bakterií ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 52

Obrázek 9. Porovnání počtu koliformních bakterií ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej a třech různých atmosférách – běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra/ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 53

Obrázek 10. Porovnání počtu enterokoků ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na třech různých atmosférách - běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 54

Obrázek 11. Porovnání počtu enterokoků ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 55

Obrázek 12. Porovnání počtu enterokoků ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej a třech různých atmosférách – běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra/ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 56

Obrázek 13. Porovnání počtu psychrotrofních mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na třech různých atmosférách - běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra) statisticky významně neliší ($p > 0,05$)..... 57

Obrázek 14. Porovnání počtu psychrotrofních mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$)..... 58

Obrázek 15. Porovnání počtu psychrotrofních mikroorganismů ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej a třech různých atmosférách – běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra/ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 59

Obrázek 16. Porovnání počtu plísní a kvasinek ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na třech různých atmosférách - běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra) statisticky významně neliší ($p > 0,05$)..... 60

Obrázek 17. Porovnání počtu plísní a kvasinek ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 61

Obrázek 18. Porovnání počtu plísní a kvasinek ($\log \text{KTJ} \cdot \text{g}^{-1}$) ve vzorcích čerstvých sýrů v závislosti na různých způsobech ošetření – máta, estragon, dýňový olej a třech různých atmosférách – běžná, CO_2 a dusík. Průměry označené písmeny A se v rámci daného faktoru (atmosféra/ošetření) statisticky významně neliší ($p > 0,05$). 62

9 SEZNAM ZKRATEK

MRL	maximální limit reziduí
NaOH	hydroxid sodný
PSB	počet somatických buněk
Ca	vápník
Mg	hořčík
TAG	triacylglyceroly
NSLAB	nezákysové bakterie mléčného kvašení
BMK	bakterie mléčného kvašení
CPM	celkový počet mikroorganismů
ESL	extended shelf life
EEC	enteropatogenní <i>Escherichia coli</i>
EHEC	enterohemoragická <i>Escherichia coli</i>
BA	biogenní aminy
HACCP	hazard analysis and critical control points
CCP	critical control points
DADS	diallyldisulfid
DATS	diallyltrisulfid
MADS	metylallyldisulfid
MATS	metylalyltrisulfid
N ₂	dusík
CO ₂	oxid uhličitý

10 PŘÍLOHY

Tabulka 4. Výsledky z 1. stanovení

vz. č.	Identifikace	CPM		BMK		Koliformní b.		Enterokoky		Psychrotrofní m.		Mikromycety	
		KTJ	log	KTJ	log	KTJ	log	KTJ	log	KTJ	log	celkem	log
1	Obyč., 8°C, norm., 1c	12863636	7,1094	3268182	6,5143	ND in 10 ⁻¹		ND in 10 ⁻¹		1897	3,2781	1688600	6,2275
2	Obyč., 8°C, CO2, 1c	5000000	6,6990	1927273	6,2849	532	2,7259	ND in 10 ⁻¹		1836	3,2639	119200	5,0763
3	Obyč., 8°C, N2, 1c	2000000	6,3010	722727	5,8590	15	1,1761	ND in 10 ⁻¹		50	1,6990	195	2,2900
4	Estragon, 8°C, norm., 1c	3500000	6,5441	1672727	6,2234	5	0,6990	ND in 10 ⁻¹		25000	4,3979	782300	5,8934
5	Estragon, 8°C, CO2, 1c	1080000	6,0334	1809091	6,2575	ND in 10 ⁻¹		ND in 10 ⁻¹		10750	4,0314	209850	5,3219
6	Estragon, 8°C, N2, 1c	14545455	7,1627	275000	5,4393	700	2,8451	ND in 10 ⁻¹		909	2,9586	84000	4,9243
7	Máta, 8°C, norm., 1c	20772727	7,3175	1780000	6,2504	100	2,0000	ND in 10 ⁻¹		283	2,4518	45792	4,6608
8	Máta, 8°C, CO2, 1c	12272727	7,0889	186364	5,2704	ND in 10 ⁻¹		ND in 10 ⁻¹		455	2,6580	118400	5,0734
9	Máta, 8°C, N2, 1c	1000000	6,0000	145455	5,1627	ND in 10 ⁻¹		ND in 10 ⁻¹		50	1,6990	99600	4,9983
10	Olej, 8°C, norm., 1c	3636364	6,5607	954545	5,9798	ND in 10 ⁻¹		ND in 10 ⁻¹		3182	3,5027	288450	5,4601
11	Olej, 8°C, CO2, 1c	11363636	7,0555	256818	5,4096	ND in 10 ⁻¹		ND in 10 ⁻¹		1335	3,1255	839500	5,9240
12	Olej, 8°C, N2, 1c	5454545	6,7368	59091	4,7715	ND in 10 ⁻¹		ND in 10 ⁻¹		1136	3,0554	68000	4,8325

Tabulka 5. Výsledky z 2. stanovení

vz. č.	Identifikace	CPM		BMK		Koliformní b.		Enterokoky		Psychrotrofní m.		mikromycety	
		KTJ	log	KTJ	log	KTJ	log	KTJ	log	KTJ	log	celkem	log
1	Obyč., 8°C, norm., 1c	3500245	6,5441	250000	5,3979	ND in 10 ⁻²		995	2,9978	267000	5,426511	580909	5,764108
2	Obyč., 8°C, CO2, 1c	59545455	7,7748	4636364	6,6662	ND in 10 ⁻²		591	2,7716	267273	5,426955	216000	5,334454
3	Obyč., 8°C, N2, 1c	2727273	6,4357	318182	5,5027	ND in 10 ⁻²		123	2,0899	407273	5,609886	209090	5,320333
4	Estragon, 8°C, norm., 1c	1500000	6,1761	772727	5,8880	ND in 10 ⁻²		1345	3,1287	ND in 10 ⁻³		544545	5,736034
5	Estragon, 8°C, CO2, 1c	1363636	6,1347	790909	5,8981	ND in 10 ⁻²		568	2,7543	700000	5,845098	103245	5,013869
6	Estragon, 8°C, N2, 1c	7272727	6,8617	227273	5,3565	ND in 10 ⁻²		1014	3,0060	ND in 10 ⁻³		500234	5,699173
7	Máta, 8°C, norm., 1c	2272727	6,3565	2500000	6,3979	ND in 10 ⁻²		623	2,7945	30772	4,488156	2260000	6,354108
8	Máta, 8°C, CO2, 1c	1500000	6,1761	1363636	6,1347	ND in 10 ⁻²		1059	3,0249	55000	4,740363	1311000	6,117603
9	Máta, 8°C, N2, 1c	454545	5,6576	909090	5,9586	ND in 10 ⁻²		318	2,5024	5455	3,736795	5909101	6,771521
10	Olej, 8°C, norm., 1c	4545455	6,6576	21818180	7,3388	ND in 10 ⁻²		709	2,8506	455	2,658011	1160000	6,064458
11	Olej, 8°C, CO2, 1c	1095454	6,0396	24590909	7,3908	ND in 10 ⁻²		905	2,9566	455	2,658011	1520000	6,181844
12	Olej, 8°C, N2, 1c	3509090	6,5452	62590909	7,7965	ND in 10 ⁻²		264	2,4216	ND in 10 ⁻³		6364405	6,803758

Tabulka 6. Výsledky z 3. stanovení

vz. č.	Identifikace	CPM		BMK		Koliformní b.		Enterokoky		Psychrotrofní m.		mikromycety	
		KTJ	log	KTJ	log	KTJ	log	KTJ	log	KTJ	log	celkem	log
1	Obyč., 8°C, norm., 1c	573636364	8,7586	100863636	8,0037	2194	3,341	227	2,3560	184091	5,265033	565000	5,752048
2	Obyč., 8°C, CO2, 1c	601050000	8,7789	1144500000	9,0586	50	1,699	136	2,1335	28636	4,456912	570000	5,755875
3	Obyč., 8°C, N2, 1c	34090909	7,5326	500000078	8,6990	5	0,699	400	2,6021	100065	5,000282	123182	5,090547
4	Estragon, 8°C, norm., 1c	6000000	6,7782	500000	5,6990	139900	5,146	501	2,6998	44545	4,648799	2666667	6,425969
5	Estragon, 8°C, CO2, 1c	3227272	6,5088	481818	5,6829	ND in 10 ⁻¹		182	2,2601	25006	4,398044	4100000	6,612784
6	Estragon, 8°C, N2, 1c	500000	5,6990	ND in 10 ⁻⁵		ND in 10 ⁻¹		100	2,0000	ND in 10 ⁻³		2000023	6,301035
7	Máta, 8°C, norm., 1c	2200000	6,3424	14636364	7,1654	42400	4,627	100	2,0000	422727	5,62606	15113636	7,179369
8	Máta, 8°C, CO2, 1c	1363636	6,1347	17727272	7,2486	ND in 10 ⁻¹		591	2,7716	60909	4,784681	13818184	7,140451
9	Máta, 8°C, N2, 1c	24545454	7,3900	ND in 10 ⁻⁵		16000	4,204	227	2,3560	150023	5,176158	ND in 10 ⁻⁴	
10	Olej, 8°C, norm., 1c	4090909	6,6118	6181818	6,7911	ND in 10 ⁻¹		100	2,0000	1000	3	4420000	6,645422
11	Olej, 8°C, CO2, 1c	1090909	6,0378	9636364	6,9839	ND in 10 ⁻¹		409	2,6117	8727	3,940865	9259091	6,966568
12	Olej, 8°C, N2, 1c	1363636	6,1347	1500000	6,1761	309	2,49	700	2,8451	1500	3,176091	3863642	6,586997