

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



Mikrobiologická kvalita mléka pro výrobu sýrů

Bakalářská práce

Autor práce: Jan Korous

Vedoucí práce: Ing. Veronika Legarová, Ph.D.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Mikrobiologická kvalita mléka pro výrobu sýrů“ jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 15.4.2016

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval paní Ing. Veronice Legarové, Ph.D. za její odborné vedení a rady, které mi poskytovala během mého vypracování této bakalářské práce a rovněž děkuji za čas, který věnovala konzultacím.

Mikrobiologická kvalita mléka pro výrobu sýrů

Souhrn

Tato bakalářská práce pojednává o mikrobiální kvalitě mléka pro výrobu sýrů, dále informuje o složení mléka, o postupech jeho zpracování i postupech využívajících se při výrobě sýrů.

Složení mléka se liší podle živočišného druhu. U všech druhů mlék je primárním cukrem laktóza, jejíž obsah se pohybuje okolo 4-8 %. Nejčastěji zastoupenými tuky jsou triacylglyceroly a nejdůležitější bílkovinou mléka je kasein, vyskytující se ve třech frakcích (α , β a κ). Mléko obsahuje také množství minerálních látek a vitamínů. Nejdůležitější minerální látkou v mléce je vápník, který hraje významnou roli v produkci sýra. Mléko je svým složením vhodným prostředím pro růst mikroorganismů (*Pseudomonas*, *Enterobacter*, atd.), které mohou kontaminovat syrové mléko. I přes toto riziko se neošetřené mléko používá při výrobě sýrů, protože dosahují rozmanitějších struktur a chutí. Většina sýrů se však vyrábí z mléka ošetřeného. Nejčastěji se využívá tepelného ošetření, hlavně pasterizace a ultratepelné ošetření (UHT). Tyto postupy slouží k zahubení mikroorganismů v mléce a mají ho tak učinit nezávadným. Někdy ale dochází k opětovné kontaminaci mléka po ošetření, případně k přežití spor ve vegetativním stádiu. Tyto spory se mohou stát činnými ve vhodných podmínkách, např. při výrobě sýrů.

Sýry lze rozdělit podle mnoha kritérií (způsob srážení, obsah vody, obsah tuku v sušině). Pro výrobu sýrů jsou velmi důležité mikroorganismy, které se používají jako startovací kultury u ošetřených mlék. Mezi tyto kultury patří termofilní sýrařské kultury (zást. *Lactobacillus casei*), jež se používají pro sýry měkké a s vysokodohříváním sýřeninou. Kultury propionového kvašení (zást. *Propionibacterium freudenreichii*) se používají při výrobě sýrů s tvorbou ok v těstě. Mezofilní bakterie (zást. *Lactobacillus lactis*) se využívají jako kultura pro sýry s nízkodohříváním sýřeninou. V praxi se můžeme setkat s dalšími kulturami. Důležitým procesem při výrobě sýrů je sýření, kdy dochází k vysrážení tuků pomocí enzymů (chymozin, pepsin). Po vysrážení se sýřenina krájí za vzniku křehkých zrn, ze kterých se vylučuje syrovátka. Pro její lepší vylučování se využívá

dohřívání, které proces usnadňuje. V průběhu výroby se vyžívá sůl, která reguluje aktivitu mikroorganismů a enzymů a také zlepšuje chuť výsledného produktu. Sýr se nechává zrát a opět dochází k biochemickým procesům. V průběhu zrání vznikají unikátní charakteristiky sýrů.

Klíčová slova: mikrobiologie, mléko, sýr, sýrařské kultury, úpravy mléka

Mikrobiological quality of milk for cheese production

Summary

This bachelor thesis is focused on microbiological quality of milk for cheese production. Besides that, it informs about the composition of milk and the processes in cheese production.

The composition of milk differs between animal species. Lactose is the main sugar of milk, with content about 4-8 %. The majority of fat found in milk is triacylglycerol type. Casein is the most important protein, which occurs in three fractions (α , β a κ). Milk also contains various minerals and vitamins. The most important mineral is calcium, which plays an important role in cheese production. The milk composition is a suitable environment for the growth of microorganisms (*Pseudomonas*, *Enterobacter*, etc.), that can contaminate raw milk. Despite this risk, the raw milk is commonly used for cheese production, because it gives the cheese better structure and taste compared with the treated milk. However, the majority of cheeses are manufactured from the treated milk. In most cases, the milk is treated by heat, especially by pasteurization and ultrahigh temperature. These procedures kill microorganisms in milk. In some cases, milk can be contaminated again after the treatment or by inactive spores that survived the treatment. They can become active under favourable conditions, for example during cheese making.

Cheeses can be divided into groups by several criteria (type of coagulation, water content or fat content in dry matter). Starting cultures are used during cheese making from treated milk. Thermophilic starting culture *Lactobacillus casei* is used for manufacturing of

soft cheeses and cheeses with high-heated curd. Cheeses with holes are made by fermentation (*Propionibacterium freudenreichii*). Mesophilic bacteria *Lactobacillus lactis* are used for production of cheeses with low-heated curd. There are many other cultures used in cheese making. Another important process during a cheese making is coagulation. During this process, the milk fat is coagulated by enzymes (chymosin, pepsin). After the coagulation, the curd is cut and forms soft grains, which exude whey. The grains are often heated for the better whey secretion. Salt is used during the cheese production to slow the activity of microorganisms and enzymes and it also gives better taste to the final product. Cheese is then let to age, during this period of time, biochemical processes occur and unique characteristics of the cheese are gained.

Keywords: altering of milk, cheese, cheese cultures, mikrobiology, milk

Obsah

1 Úvod	10
2 Cíl práce	11
3 Literární rešerše	12
3.1 Vznik mléka	12
3.2 Druhy mléka	13
3.3 Složení mléka	14
3.3.1 Laktóza.....	16
3.3.2 Bílkoviny	16
3.3.2.1 Kasein	16
3.3.2.2 Syrovátkové bílkoviny.....	17
3.3.3 Nebílkovinné dusíkaté látky	17
3.3.4 Tuky	17
3.3.5 Minerální látky.....	18
3.3.6 Vitaminy	18
3.4 Mikroflóra syrového mléka	18
3.4.1 Gramnegativní psychrotrofní bakterie	18
3.4.1.1 <i>Pseudomonas</i> spp.	18
3.4.1.2 Enterobakterie.....	19
3.4.1.2.1 <i>Escherichia coli</i>	19
3.4.1.3 Další psychrotrofní bakterie	19
3.4.2 Grampozitivní bakterie	20
3.4.2.1 Spory tvořící bakterie	20
3.4.2.2 Bakterie tvořící kyselinu mléčnou.....	20
3.4.3 Mikrobiologické výhody syrového mléka	21
3.4.4 Mikrobiální nevýhody syrového mléka	21
3.4.5 Alimentární nákazy spojené s konzumací sýrů ze syrového mléka.....	22
3.5 Zpracování mléka.....	22
3.5.1 Pasterizace	23
3.5.1.1 Šetrná pasterizace	23
3.5.1.2 Dlouhodobá pasterizace.....	24
3.5.1.3 Vysoká pasterizace	24
3.5.2 Použití oxidu uhličitého	24

3.5.3	Separace	24
3.5.4	Homogenizace	25
3.5.5	UHT	25
3.5.6	Další způsoby ošetření mléka	26
3.5.7	Chlazení mléka	27
3.6	Mikroflóra v mléce po úpravách	27
3.6.1	Kontaminace po ošetření mléka.....	27
3.6.2	Znečištění mléka ošetřeného UHT	28
3.7	Dělení sýrů	28
3.7.1	Dělení podle způsobu srážení	29
3.7.1.1	Kyselé sýry	29
3.7.1.2	Sladké sýry	29
3.7.1.3	Tavené sýry	29
3.7.2	Dělení podle obsahu vody.....	29
3.7.2.1	Čerstvé sýry	29
3.7.2.2	Sýry měkké.....	30
3.7.2.3	Polotvrdé sýry.....	30
3.7.2.4	Tvrdé sýry.....	30
3.7.3	Dělení podle obsahu tuku	30
3.8	Podmínky při výrobě sýrů.....	30
3.8.1	Termofilní sýrařské kultury	31
3.8.2	Kultury propionového kvašení.....	31
3.8.3	Kultury pro sýry s nízkodohřívanou sýřeninou	32
3.8.3.1	<i>Lactobacillus lactis</i>	32
3.8.3.2	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	33
3.8.4	Kultury pro sýry zrající pod mrazem	33
3.8.5	Plísňové kultury	34
3.8.6	Kvasinky	34
3.8.6.1	<i>Debaryomyces hansenii</i>	34
3.8.7	Funkce sekundární flóry	35
3.9	Postupy při výrobě sýrů.....	36
3.9.1	Acidifikace.....	36
3.9.2	Sýření	37
3.9.3	Krájení koagulátu.....	38
3.9.4	Ošetření sýřeniny	38
3.9.5	Dohřívání sýřeniny	39

3.9.6	Zrání sýra	39
3.9.7	Solení	40
3.9.8	Vliv soli na mikroorganismy	40
4	Závěr.....	42
5	Seznam literatury	43

1 Úvod

Mléko a mléčné výrobky tvoří důležitou složku lidské potravy. Díky obsahu vápníku, laktózy, minerálních látek, bílkovin a vitamínů se jedná o významné a zdravé potraviny. Mléko je součástí lidské stravy již od narození, a to v podobě mateřského mléka. V dalších obdobích svého života člověk pokračuje v konzumaci mléka, nejčastěji kravského, které je velmi často používáno k produkci dalších mléčných výrobků. V menší míře se používá mléko kozí, ovčí a bývolí, převážně na výrobu sýrů.

Při výrobě sýrů mikrobiální kvalita mléka ovlivňuje chuť, tvar, vůni a složení finálního výrobku. Potřebné kvality mléka se dosahuje jeho ošetřením (nejčastěji tepelným) a dodržáním hygienických podmínek v průběhu výroby. Pro správné zrání sýrů z ošetřeného mléka se přidávají čisté mlékařské kultury, které zajišťují požadované biochemické pochody. V případě použití syrového (tj. neošetřeného) mléka jako vstupní suroviny se dbá na zvýšenou kontrolu jeho kvality a v dalších fázích výroby se sleduje správný průběh zrání.

Tato práce se zaměřuje na popis mikrobiální kvality mléka pro produkci sýrů, a to jak na mikroorganismy přirozeně se v mléce vyskytující, tak i na mikroorganismy, které se do mléka dostávají v průběhu jeho zpracování.

2 Cíl práce

Cílem této kompilační bakalářské práce je vypracování literární rešerše zaměřené na mikrobiologickou kvalitu mléka určeného pro výrobu sýrů. Dále si práce klade za cíl posoudit chemické a mikrobiologické složení mléka a jeho vhodnost k výrobě sýrů. V neposlední řadě pojednává o základních postupech používaných při výrobě sýrů.

3 Literární rešerše

3.1 Vznik mléka

Mléko vzniká v mléčných žlázách savců, které se vyvíjejí převážně v době puberty a zcela dokončují svůj vývoj až v období březosti. Tvorba mléka začíná těsně před porodem. Sekreční alveolus je základní funkční jednotkou, která v mléčné žláze tvoří mléko. Několik alveolů spojených dohromady a obklopených vrstvou pojivové tkáně je označeno jako lobulus neboli lalůček.

Vývody a mlékovody mají funkci skladovací a s množstvím nahromaděného mléka zvětšují svou velikost. K vytlačení mléka dochází pomocí myoepiteliálních (košíčkových) buněk. Tyto buňky stlačují alveoly a vývody, to způsobí vytlačení mléka do mléčných kanálků. Dále mléko pokračuje do mlékojemu, který se skládá ze dvou částí, žlázové a strukové. Část mléčné žlázy, ze které se mléko vydojuje, nebo je vysáváno mládětem se nazývá struk.

Struk má na svém vrcholu strukový kanálek, ovládaný hladkosvalovým svěračem. Uzavření tohoto kanálku je velmi důležité. Zabraňuje nejen výtoku mléka, ale také brání vzniku mastitidy, zánětu mléčných žláz. Záněty mléčných žláz jsou vyvolávány nejčastěji mikrobiální infekcí.

Část složek mléka se syntetizuje přímo v buňkách mléčných alveolů, další jsou odebírány přímo z krve. Mnoho prekurzorů složek mléka se tvoří v játrech a krví je transportováno k alveolárním buňkám. Pro správnou funkci mléčné žlázy je nutné její dostatečné prokrvení. Vemenem musí protéci 500 l krve, aby vzniknul jeden litr mléka. Vznik bílkovin (z aminokyselin krevní plazmy) a jejich sekrece je lokalizována v mléčné žláze. Tvorba a sekrece tuků se odehrává ze 75 % v mléčné žláze. Mléčný tuk vzniká převážně z kyseliny máselné a kyseliny octové. Kyselina octová zde dominuje a přímo ovlivňuje, jak vysokou tučnost bude mléko mít. Při tvorbě a sekreci cukrů hraje důležitou roli glukóza, jež se do mléčné žlázy dostává z krve, avšak její určitá část se zde syntetizuje. Výsledným cukrem v metabolismu sacharidů je laktóza (Bouška a kol., 2006).

3.2 Druhy mléka

Mléko můžeme rozdělit podle jeho původu. Nejčastěji se konzumuje mléko kravské, kozí, ovčí, bývolí a velbloudí. Spektrum živočišných druhů produkujících mléko je mnohem širší, ale jejich mléko se konzumuje v zanedbatelném množství. Jednotlivé druhy mléka se liší svým chemickým složením, protože mléko slouží primárně jako výživa pro mláďata různých živočišných druhů, které mají různé nároky na živiny. Složení mléka může být ovlivněno potravou, kterou zvíře přijímá a prostředím, ve kterém se nachází, ale také fází laktace (Mašek, 1995).

Mlezivo (colostrum) produkuje kráva prvních pět až sedm dní po otelení a je nezbytné pro zajištění plnohodnotné výživy narozených telat. Mlezivo je nažloutlé, hořkoslané, husté, lepkavé a varem se sráží (díky vyššímu podílu globulinů). Obsahuje vysoké procento bílkovin (15-18 %), zejména albuminů a globulinů a minerálních látek (zvláště soli Mg). V mlezivu se vyskytují rovněž imunoglobuliny, jejichž obsah rychle klesá, v průběhu prvních 24 hodin z 10 % až na 0,1 % (Štolc a kol. 1999).

Zralá mléka vznikají 3 až 5 dní po otelení, vyznačují se stálým složením a jsou již plně vhodná pro další zpracování. Tato mléka můžeme podle obsahu kaseinových bílkovin dále rozdělit na kaseinová a albuminová. Většina kaseinu se nachází ve formě fosfoproteinu (např. α_{s1} , α_{s2} , β a κ kasein). Fosfor je zde přítomen ve formě kyseliny fosforečné, která je esterově vázána na bílkovinu. Kaseinová mléka jsou produkována přežvýkavci a kasein v nich tvoří 75 % podílu bílkovin, zbylých 25 % tvoří albumin a globulin. Albuminové mléko je produkováno monogastry (např. prase domácí) a obsahuje méně než 75 % kaseinu (Bouška a kol. 2006).

3.3 Složení mléka

Tabulka 1: Složení kravského mléka (převzato z Bouška a kol., 2006, upraveno autorem)

Složky mléka	Jednotky	Zralé mléko
Sušina	%	12,6
Tuk	%	3,6
Bílkoviny	%	3,2
Kasein	%	2,6
Laktóza	%	6,9
Vápník	mg/g	122
Fosfor	mg/g	119
Hořčík	mg/g	12
Draslík	mg/g	152
Železo	mg/g	0,08
Měď	mg/g	0,06

V tabulce 1 a 2 je uvedeno chemické složení kravské a kozího mléka. Jak se patrné, příliš se neliší množstvím bílkovin, rozdíly lze nalézt v ostatních složkách (Fantová a kol., 2010).

Tabulka 2: Složení kozího mléka (převzato z Fantová a kol., 2010, upraveno autorem)

Složky mléka	Jednotky	Zralé mléko
Sušina	%	13,12
Tuk	%	4,1
Bílkoviny	%	3,3
Kasein	%	2,5
Laktóza	%	4,7
Vápník	mg/g	130
Fosfor	mg/g	159

Hořčík	mg/g	16
Draslík	mg/g	181
Sodík	mg/g	41
Železo	mg/g	0,05
Měď	mg/g	0,04

V tabulce 3 můžeme vidět, že se ovčí mléko významně liší od mléka kravského i koziho. Obsahuje vysoký podíl laktózy v sušině a poměrně velké množství tuku. Také množství vyprodukovaného mléka za jednu laktaci je v případě ovcí výrazně nižší. Další komplikací je skutečnost, že s dojením je možné začít až po odstavení jehněte, což zkracuje časový interval, ve kterém lze mléko získávat pro potřeby mlékárenského průmyslu (Horák a kol., 2012).

Tabulka 3: Složení ovčího mléka (převzato z Horák a kol., 2012, upraveno autorem)

Složky mléka	Jednotka	Zralé mléko
Sušina	%	19,9
Tuk	%	7,9
Bílkoviny	%	6,2
Kasein	%	4,2
Laktóza	%	4,9
Popeloviny	%	0,9
Vápník	mg/g	193
Fosfor	mg/g	158
Hořčík	mg/g	18
Draslík	mg/g	136
Sodík	mg/g	44
Železo	mg/g	0,08
Měď	mg/g	0,04

3.3.1 Laktóza

Laktóza neboli mléčný cukr, je nejvýznamnější sacharid vyskytující se v mléce. Je to disacharid tvořený molekulou glukózy a galaktózy vzájemně spojených β -1-4 glykosidickou vazbou (Kramer-Priesch and Kiefer, 2009). Kromě laktózy, se zastoupením 4-8 % celkové hmotnosti, se v mléce vyskytují také další sacharidy, např. glukóza, galaktóza. Jejich množství je však malé. Laktóza jako hlavní mléčný cukr slouží jako indikátor kvality a nezávadnosti mléka. Snížený obsah laktózy může poukazovat na mastitidu zvířat (Nollet and Tolda, 2009).

3.3.2 Bílkoviny

Bílkoviny jsou dusíkaté makromolekuly skládající se z aminokyselin a představují nejkompexnější složku mléka. Vzhledem k jejich významu je jim věnována největší pozornost. Jako bílkoviny mléka jsou tradičně označovány všechny dusíkaté látky v mléce, stanovitelné pomocí Kjeldahlovy metody. Okolo 5 až 7 % z celkového dusíku v mléce pochází z nebílkovinných dusíkatých látek. Proto se v praxi rozlišuje hrubá a celková bílkovina, pro rozlišení jsou používány názvy hrubá neboli celková bílkovina (tj. dusík z bílkovinných a nebílkovinných dusíkatých látek vynásobený faktorem 6,37) a čistá bílkovina (Simeonová a kol., 2003).

3.3.2.1 Kasein

Kasein je hlavní bílkovinou mléka, syntetizovaný mléčnou žlázou. Jedná se o komplex frakcí fosfoproteinů, u kterých je známa jejich primární i sekundární struktura. Základními frakcemi kaseinu jsou α , β a κ -kasein, ostatní frakce kaseinu se označují jako deriváty. α a β frakce kaseinu jsou velmi citlivé na obsah vápníku v mléce, v jeho přítomnosti se sráží ve formě vápenatých solí. Proti vysrážení je chráněna přítomnost κ -kaseinu. Působením enzymu chymosinu dochází ke štěpení κ -kaseinu, který tím ztrácí svůj ochranný vliv na ostatní frakce. Volný kasein lze srážet zředěnou kyselinou, ať již vytvořenou v průběhu mléčného kysání či přidanou do mléka. Obou těchto způsobů se využívá při výrobě sýrů, a hovoříme o tzv. kyselém srážení působením kyselin nebo sladkém srážení kaseinu pomocí enzymu chymozinu (Simeonová a kol., 2003).

3.3.2.2 Syrovátkové bílkoviny

Jako syrovátkové neboli sérové bílkoviny se označuje část proteinů, která zůstává v roztoku (syrovátce) po vysrážení kaseinu syřidlem nebo kyselinou. V kravském mléce, stejně jako v mléce ostatních přežvýkavců, představují syrovátkové bílkoviny asi 17 až 20 % z celkových bílkovin. U monogastričních zvířat je tento podíl výrazně vyšší. Syrovátkové bílkoviny mají vyšší nutriční hodnotu než kasein. Ze syrovátky je lze vysrážet např. zahřátím v kyselém prostředí. Nejdůležitějšími zástupci této skupiny látek je β -laktoglobulin (s obsahem okolo 50 %) a α -laktalbumin (podíl cca 25 %) (Simeonová a kol., 2003).

3.3.3 Nebílkovinné dusíkaté látky

Nebílkovinné dusíkaté látky jsou strukturně i funkčně různorodé sloučeniny, které zůstávají v roztoku po vysrážení veškerých bílkovin. Většinou se jedná o produkty metabolismu. Největší podíl těchto látek tvoří močovina. Její obsah může kolísat mezi 30 a 80 % nebílkovinných dusíkatých látek, nejčastěji se pohybuje kolem 50 %. Dále jsou v mléce přítomny volné aminokyseliny, peptidy, kyselina močová, kreatin, kreatinin, kyselina orotová, nukleotidy, vitaminy skupiny B, amoniak atp. Obecně se jedná o sloučeniny obsahující ve své molekule dusík a mající molekulovou hmotnost pod $500 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ (Simeonová a kol., 2003).

3.3.4 Tuky

Tuky (lipidy) jsou jednou z nejdůležitějších složek mléka z pohledu ekonomického, nutričního a senzorického. Triacylglyceroly tvoří 97-98 % veškerého tuku, což z nich dělá hlavní složku tuků v mléce. Zbylá procenta jsou tvořena diacylglyceroly, monoacylglyceroly, volnými mastnými kyselinami, steroly a fosfolipidy. Triacylglyceroly mohou mít rozmanité složení, díky třem hydroxy skupinám, na které se vážou esterovou vazbou různé typy mastných kyselin. V mléce lze nalézt až 400 různých mastných kyselin a jejich množství je ovlivněno fází laktace a potravou. Pouze 14 z tohoto množství mastných kyselin se nachází v koncentraci vyšší než 1 % (Nollet et al., 2009).

Lipidy se v mléce vyskytují ve formě tukových kuliček, které se liší svou velikostí (Park, 2009).

3.3.5 Minerální látky

Minerální látky (vápník, hořčík, draslík) se v mléce vyskytují vázané ve formě fosforečnanů, chloridů, uhličitanů a citrátů. Vápník se dále významně váže na kasein a z hlediska výživy má největší význam (vliv na stavbu kostí a zubů). Mléko obsahuje také malé množství železa, chlóru, manganu, zinku a jódu (Mašek, 1995).

3.3.6 Vitaminy

Mléko obsahuje vitaminy rozpustné v tucích (A, D, E, K), ale také vitaminy rozpustné ve vodě (B1, B12, C). Vitaminy se dostávají do mléka převážně prostřednictvím krmiva. V zimních obdobích obsahuje mléko menší množství vitaminů, zejména skupiny A, B a C, protože sušená krmiva jsou na tyto vitaminy chudá (Mašek, 1995).

3.4 Mikroflóra syrového mléka

3.4.1 Gramnegativní psychrotrofní bakterie

Růst psychrotrofních bakterií je problémem při skladování mléka při nízkých teplotách, což je dnes standardním postupem v moderním potravinářském průmyslu. Během svého růstu tyto bakterie produkují tepelně stabilní enzymy proteázy a lipázy, které způsobují štěpení proteinů a lipidů (Tamime, 2009).

3.4.1.1 *Pseudomonas* spp.

Bakterie rodu *Pseudomonas* jsou pohyblivé gram-negativní tyčinky se schopností růstu při teplotách těsně pod bodem mrazu, přestože jejich optimální teplota pro růst je okolo 25-30 °C. Tento rod reprezentují druhy s krátkým generačním cyklem kolem teplot 0-7 °C, který může být ještě kratší v přítomnosti kyslíku. Generační cyklus nejrychleji rostoucích psychrotrofních *Pseudomonas* spp. izolovaných ze syrového mléka trvá 8-12 h při teplotě 3 °C a 5,5-10,5 h při teplotách v rozmezí 3 až 5 °C. I v případě kontaminace mléka pouze jedinou kolonií, je tato rychlost růstu dostačující pro jeho znečištění v průběhu 5 dnů při těchto teplotách. Asi polovina *Pseudomonas* spp. jsou fluorescenčního typu, charakterizované

produkcí pigmentu během růstu. *Pseudomonas fluorescens* a *Pseudomonas fragi* jsou běžní znečišťovatelé mléka (Tamime, 2009).

3.4.1.2 Enterobakterie

Mikroflóra v mléce je z 5-33 % zastoupena enterobakteriemi. Tyto mikroorganismy jsou malé, pohyblivé, gramnegativní tyčinky. Optimální teplota jejich růstu bývá vyšší než 30 °C, což je výrazně vyšší než u *Pseudomonas*. Dobře se však dokáží adaptovat na nízké teploty. Koliformní bakterie patřící do této skupiny jsou schopny fermentovat laktózu, což je doprovázeno produkcí kyselin a plynů, při teplotě 32 °C během 48 h. Zástupci rodu *Enterobacter* a *Klebsiella* jsou nejčastěji spojovány se znečištěním, nicméně *Escherichia coli* roste málokdy do té míry, aby způsobila znečištění (Tamime, 2009).

3.4.1.2.1 *Escherichia coli*

Buňky *E. coli* jsou tvořeny krátkými tlustými tyčinkami se zaoblenými konci a jsou opatřeny bičíky (obvykle 4 až 6). Vyskytují se většinou jednotlivě, výjimečně po dvou nebo v krátkých řetězcích. Nikdy netvoří spory, jen někdy vytvářejí pouzdra. Jsou fakultativně anaerobní. Rostou v kyselém i alkalickém prostředí a optimum jejich růstu je při pH 7,6 a teplotě 37 °C. *E. coli* štěpí glukosu, laktózu, fruktózu, galaktózu, xylózu, arabinózu, manit i glycerol. Zkvašováním cukrů se vytváří plyn a organické kyseliny (kys. mléčná, octová, mravenčí a propionová), tím se řadí mezi tzv. heterofermentativní mléčné bakterie. *Escherichia coli* je střevní saprofyt, tvoří přirozenou a užitečnou mikroflóru zažívacího traktu člověka i zvířat. Při snížené tělesné odolnosti může však způsobovat různá onemocnění (záněty). Při mikrobiální kontrole v potravinářském průmyslu je důležitým indikátorem fekálního znečištění a zanedbávání hygienických a sanitačních předpisů a nařízení (Tvrdouš, 1978).

3.4.1.3 Další psychrotrofní bakterie

Mezi další psychrotrofní bakterie vyskytující se v mléce patří *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes* a *Chromobacterium*. Stejně jako v případě

Pseudomonas se jedná o gramnegativní tyčinky schopné růst za nízkých teplot. *Acinetobacter* a *Psychrobacter* mají pouze malou možnost znečistit mléko, jelikož se množí při nízkých teplotách pomaleji, než ostatní psychrotrofové. To je důvodem, proč jsou často potlačeny například rodem *Pseudomonas* spp (Tamime, 2009).

3.4.2 Grampozitivní bakterie

3.4.2.1 Spory tvořící bakterie

Mezi bakterie tvořící spory v mléce patří převážně *Bacillus* spp. Optimální teplota růstu pro většinu rodů bakterií *Bacillus* se pohybuje mezi 20 a 40 °C, pro některé (např. *Bacillus stearothermophilus*) může být tato teplota vyšší. Z těchto důvodů je lag fáze psychrotrofních *Bacillus* při teplotě 2-7 °C delší, než je tomu u *Pseudomonas* spp, ačkoli spory tvořící psychrofilové se mohou stát dominantními v mikroflóře mléka při teplotě 10 °C. Nejčastěji izolovanými druhy rodu *Bacillus* v mléce jsou *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. subtilis* a *B. megaterium*. Tyto pohyblivé, gram-pozitivní, sporující tyčinkové mikroorganismy jsou příčinou mnoha proteolytických defektů. *B. cereus* je běžným kontaminantem mléka, je přítomen ve více jak 80 % vzorků syrového mléka. Výskyt mikroorganismů se významně liší podle ročního období, největší počet organismů v zásobách mléka se nachází na konci léta a začátkem podzimu. To poukazuje na to, že ke kontaminaci dochází již na farmách. *B. cereus* zapříčiňuje zhoršení chuti mléka a nežádoucích pachů. *Clostridium* spp. jsou přítomny v čerstvém mléce pouze v malém množství, pro zjištění jejich počtu je nutné použít speciální techniky. Jejich populace v mléce rovněž závisí na ročním období. V mírném pásmu se v mléce nachází vyšší množství bakterií v zimních měsících než v letních. Jedním z důvodů je ustájení dojníc v zimním období, při kterém dojnice leží na sporami kontaminovaném podloží a s vyšší pravděpodobností zkonsumují siláž obsahující spory (Tamime, 2009).

3.4.2.2 Bakterie tvořící kyselinu mléčnou

Při skladování při vyšších teplotách dochází ke kontaminaci syrového mléka bakteriemi mléčného kvašení, které mohou přerůst psychrotrofní bakterie. K tomu může dojít také v případě inhibice růstu gramnegativních aerobních mikroorganismů. Tato situace

nastává v případech, kdy je mléko skladováno na farmách a transportováno v nechlazených kontejnerech. Převážně v teplých obdobích dochází ke kontaminaci ještě před příjezdem do mlékárny. Na této kontaminaci se podílejí nejčastěji druhy *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* a *Pediococcus*. *Lactococcus lactis* je hlavním druhem způsobujícím kontaminaci mléka při teplotách od 10 do 37 °C. Při těchto podmínkách je schopen produkovat kyseliny způsobující okyselení mléka. Některé izolované enterokoky mohou růst již při teplotách kolem 7 °C a mají detekovatelnou proteolytickou aktivitu. Tyto mikroorganismy tvoří jen malou část mikroflóry v syrovém mléce. Jejich množství však může být mnohem vyšší v pasterizovaném mléce, díky jejich rezistenci vůči pasterizaci (Tamime, 2009).

3.4.3 Mikrobiologické výhody syrového mléka

Sýry vyrobené z neošetřeného mléka se vyznačují lepší a výraznější chutí v porovnání se sýry vyrobenými z pasterizovaného mléka. Tyto chuťové vlastnosti jsou přičítány větší pestrosti mikroorganismů, jako jsou například: *Lactococcus* spp. *Lactobacillus* spp. *Leuconostoc* spp. a *Enterococcus* spp. Dále má pasterizace nepříznivý vliv na obsah některých látek v mléce se přirozeně vyskytujících (inhibice přírodních makrobiotik, deaktivace proteáz a lipáz). Tyto látky v syrovém mléce zlepšují výrazně sensorickou kvalitu produktu. Syrové mléko obsahuje nestabilní sloučeniny, např. karboxylové kyseliny, estery a alkoholy, které vznikají působením fermentace mléčných komponentů mikrobiálními kulturami. Sýry ze syrového mléka se mohou lišit také svou strukturou, to však záleží na složení mikroorganismů a na sezónních podmínkách. Mikrobiální diverzita syrového mléka je jeden z faktorů umožňující výrobu mnoha variant sýrů s různými sensorickými charakteristikami (chuť, textura), které chybí v sýrech z pasterizovaného mléka (Yoon et al., 2016).

3.4.4 Mikrobiální nevýhody syrového mléka

Přestože byla již prokázána mikrobiologická bezpečnost syrového mléka, toto téma zůstává nadále kontroverzní. Sýry vyrobené z nepasterizovaného mléka nejsou stále považovány za bezpečné, jelikož je zde stále riziko kontaminace mléka na farmách či v průběhu výroby sýrů. Bylo provedeno mnoho studií srovnávajících sýry vyrobené z mléka

syrového a z mléka ošetřeného. Nákazy zapříčiněné konzumací sýru byly zaznamenány v obou případech. Studie probíhaly v období mezi lety 1973 a 2006. Podle výsledků se v sýrech nejčastěji vyskytují bakterie *Brucella melitensis*, *Campylobacter* spp., *Coxiella burnetii*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Mycobacterium bovis*, *Salmonella*, *S. aureus* a *Streptococcus* spp. Bakterie *E. coli*, *B. melitensis*, *Campylobacter* spp., *C. burnetii*, *M. bovis* a *Streptococcus* spp. byly nalezeny pouze v sýru vyrobeném ze syrového mléka a *Clostridium* spp. byly naopak nalezeny pouze v sýru z mléka ošetřeného. Přestože vegetativní buňky *Clostridium* spp. jsou v mléce usmrceny pasterizací, jejich termorezistentní endospory zůstávají ve vegetativním stádiu (Yoon et al., 2016).

3.4.5 Alimentární nákazy spojené s konzumací sýrů ze syrového mléka

Podle výzkumu (Yoon et al., 2016) jsou čerstvé a krátce zrající sýry vyrobené na farmách ve Švédsku mikrobiologicky nezávadné, přestože v nich lze nalézt bakterie *E. coli* a endotoxiny produkované *S. aureus*. Studium více než 100 vzorků norských sýrů z neošetřeného mléka odhalilo častou kontaminaci *S. aureus* bez vyvolání nákazy. Na druhou stranu, mexické sýry z neošetřeného mléka (např. Panela, Adobera) byly často kontaminovány bakteriemi *Salmonella*, *E. coli* a *L. monocytogenes* a konzumace těchto sýrů zapříčinila množství alimentárních nákaz. Bylo také nahlášeno mnoho případů nákazy připisované konzumaci sýru Queso. Hlavním důvodem je, že tento tradiční sýr hispánské komunity nespĺňuje 60 denní zrací lhůtu v USA, a proto je mnoho sýrů tohoto typu nelegálně dováženo z Mexika do USA (Yoon et al., 2016).

3.5 Zpracování mléka

Výroba prakticky veškerých typů mlék a mléčných produktů zahrnuje tepelné ošetření. Takovéto ošetření má za cíl inaktivaci enzymů, dosažení chemických změn, ale hlavně usmrcení mikroorganismů. Do jaké míry se podaří dosáhnout těchto výsledků, záleží na intenzitě ošetření. Intenzita se posuzuje podle použité teploty a doby jejího trvání. Z hlediska výroby je vhodné nalézt hranici mezi vratnými a nevratnými změnami, které ošetření způsobuje. Tepelné ošetření se musí provádět obezřetně, aby nedošlo k znehodnocení mléka, např. ke ztrátě nutriční hodnoty nebo inaktivaci inhibitorů bakterií (Walstra et al., 1999).

3.5.1 Pasterizace

Pasterizací se rozumí záhřev mléka na teplotu obvykle pod 100 °C, při kterém dochází k usmrcení převážné části vegetativních forem mikroorganismů a zároveň jen k minimálním chemickým změnám suroviny, které bývají provázeny změnami chuti či nutričních hodnot. Základní cíle pasterizace jsou:

1. zajištění zdravotní nezávadnosti mléka,
2. zvýšení trvanlivosti suroviny či výrobku, kterého je dosaženo: zničením většiny vegetativních buněk kontaminujících mikroorganismů a iniciací nebo snížením aktivity nativních, případně bakteriálních enzymů.

Podmínky tepelného ošetření, při kterých je dosaženo spolehlivého usmrcení všech patogenních mikroorganismů, odpovídají podmínkám pro inaktivaci nativního mléčného enzymu alkalické fosfatázy.

Zvýšení trvanlivosti mléka pasterizací není určeno jen zvolenými podmínkami záhřevu, ale také rozsahem kontaminace suroviny a charakterem kontaminujících mikroorganismů. Pasterizací by se mělo dosáhnout snížení počtu mikroorganismů pod 1000 JTK/ml a inaktivace mléčné lipázy pod 1 % její původní aktivity. V praxi se pasterizace mléka realizuje několika způsoby. Jedná se o šetrnou, dlouhodobou a vysokou pasterizaci (Kadlec a kol., 2012).

3.5.1.1 Šetrná pasterizace

Šetrná pasterizace probíhá při 72 °C po dobu 15 sekund. Tento typ pasterizace je indikovaný inaktivací alkalické fosfatázy a zachováním aktivity laktoperoxidázy a je dosahováno pasterizačního efektu nad 99,9 %. Přežívající sporotvorné organismy a některé termorezistentní bakterie např: z rodu *Micrococcus* se mohou v mléce pomalu rozvíjet. K inaktivaci enzymů dochází jen částečně. Chuť a vlastnosti mléka jsou ovšem ovlivněny jen minimálně. Protože denaturace syrovátkových bílkovin nastává jen asi do 15 %, jsou zachovány bakteriostatické vlastnosti mléka a trvanlivost výrobku se zvyšuje (Kadlec a kol., 2012).

3.5.1.2 Dlouhodobá pasterizace

Dlouhodobá pasterizace probíhá při 63 °C po dobu 30 minut. Vzhledem k dlouhé době záhřevu se používá jen výjimečně při šaržovém zpracování mléka v malokapacitním měřítku (Kadlec a kol., 2012).

3.5.1.3 Vysoká pasterizace

Vysoká pasterizace se odehrává při 85 °C po dobu 5 sekund. Podle účelu se někdy používají i vyšší teploty (nad 100 °C), nebo delší doba záhřevu (až několik minut). Vysoká pasterizace je indikována inaktivací laktoperoxidázy a je dosahováno vyššího pasterizačního efektu (nad 99,9 %). Dochází také k inaktivaci většiny enzymů, s výjimkou mléčné proteázy (plazminu) a některých bakteriálních (psychrotrofních) proteáz a lipáz. Nastává zde více než 50 % denaturace sérových bílkovin, přeměna rozpustného Ca na koloidní formu a zničení bakteriostatických vlastností mléka. Všechny tyto procesy se projevují na změně chuti mléka (tzv. vařivá příchut') (Kadlec a kol., 2012).

3.5.2 Použití oxidu uhličitého

Další metodou ošetření mléka je použití oxidu uhličitého. Přidání oxidu uhličitého o koncentraci 20-30 mM prodlužuje jeho životnost kombinací několika mechanismů, které potlačují mikroorganismy v mléce. První z nich je vytlačení kyslíku a jeho nahrazení oxidem uhličitým. Dochází k rozpouštění oxidu uhličitého, což snižuje pH mléka a ovlivňuje tak gramnegativní aeroby. Zároveň dochází k potlačení metabolických pochodů mikroorganismů a tvorbě enzymů. V minulosti bylo navrženo, aby tato metoda byla použita v souvislosti s prodloužením trvanlivosti pasterizovaného mléka, ale objevily se obavy, že přidání oxidu uhličitého by umožnilo produkci toxinů *Clostridium botulinum*. Další studie však nenašly spojitost mezi použitím oxidu uhličitého a zvýšenou tvorbou botulinu (Fernandes, 2008).

3.5.3 Separace

Další metodou úpravy mléka je separace. Mléko se nejdříve přefiltruje a následně přečistí odstředováním na čistících separátorech. Využívá se zde rozdíl hmotností suspendovaných částic pomocí centrifugy. Odstředěné částičky mohou obsahovat velké

množství mikroorganismů, kterých je nutné se zbavit. Může také dojít k rozdělení shluků bakterií vedoucí k nárůstu počtu kolonií. Tento postup též umožňuje standardizaci mléka, kdy lze smetanu, která se usazuje na okrajích separátoru, doplnit zpět do mléka (Fernandes, 2008).

3.5.4 Homogenizace

Základním cílem homogenizace mléka je zmenšení velikosti tukových kuliček pod 1 μm . Při takovéto velikosti se minimalizuje riziko vystávání mléčného tuku při skladování. Homogenizace je dosaženo protlačením mléka pod velkým tlakem skrz úzkou štěrbinu homogenizační hlavy. Ke tříštění tukových kuliček dochází vlivem vysoké smykové rychlosti a náhlým poklesem rychlosti toku za štěrbinou. Při homogenizaci je nutné, aby tuk byl v kapalném stavu, což vyžaduje teplotu nejméně 35 °C. Obvykle se používá při homogenizaci teplota mezi 55-80 °C. Po homogenizaci je v mléce obsaženo 100-1000 krát více tukových kuliček než na začátku. Obsah bílkovin je důležitý pro správnou homogenizaci, jelikož proteiny tvoří nové obaly, které brání opětovnému spojování tukových kuliček. Výsledná velikost tukových kuliček je závislá na konstrukci homogenizační hlavy (Kadlec a kol., 2012).

3.5.5 UHT

Ultratepelným ošetřením mléka (UHT-z anglického ultra-high temperature) se rozumí záhřev mléka na 130-150 °C po dobu 2-8 sekund. Při ultratepelném ošetření mléka se usmrtí všechny mikroorganismy včetně spor. Ve světě je známa řada postupů ultratepelného ošetření mléka. V našich podmínkách se používá tzv. uperizace. Pro ni je charakteristické, že potřebné teploty se dosahuje tak, že se do protékajícího mléka vhání předehřátá vodní pára. Kondenzací páry se dosáhne rychlého záhřevu, kondenzát se však dostává do mléka a ředí ho. Mléko je proto vstříkováno ihned při dosažení potřebné teploty do vakuové komory, kde se z něj prudkým poklesem tlaku a teploty odpaří stejné množství vody, které jej předtím zředilo. Ultratepelné ošetření mléka inhibuje enzymy obsažené v syrovém mléce. V ČR se již nepoužívá klasická sterilace, která spočívala v záhřevu nad 100 °C s delší dobou výdrže. Ultra tepelně ošetřené mléko má ve srovnání s mlékem klasicky sterilovaným jen velmi málo pozměněny vlastnosti a biologické hodnoty (Kavina, 1996).

3.5.6 Další způsoby ošetření mléka

Z důvodu krátké trvanlivosti konvenčně pasterizovaného mléka a nechtěných organoleptických změn v mléce, které bylo vystaveno velmi vysokým teplotám, jsou snahy o nalezení vhodných alternativních postupů, kterými by bylo dosaženo lepší kvality a delší trvanlivosti produktu. Některé z následujících alternativních procesů jsou již zavedeny v mlékárnách v Severní Americe a Evropě.

Mikrofiltrace využívá keramické membránové filtry v kombinaci s HTST (high temperature/short time) pasterizačním procesem s cílem odstranit většinu bakterií z mléka. Tím dochází k významnému prodloužení trvanlivosti mléka oproti konvenčním mlékům. Tuk z mléka se před filtrací odstraňuje, je separátně ošetřen a po proběhnutí celého procesu je vrácen zpět do mléka. Mléko produkované touto metodou je již komerčně dostupné v několika zemích a jeho trvanlivost je až 20 dní.

Baktofugací se nazývá proces, který využívá centrifugaci k odstranění bakterií z mléka (včetně endospor). V sýrařství se používá již několik let pro minimalizaci kontaminace sporami klostridií, které způsobují defekty v tvrdých sýrech s vysokým pH. Část oddělená centrifugací obsahuje většinu mikroorganismů, které jsou v mléce přítomny. Ty mohou být sterilizovány separátně a poté navráceny do mléka, které je konvenčně pasterizováno, pro obnovení jeho složení. Mléko ošetřené tímto způsobem by mělo mít trvanlivost minimálně 30 dní.

Ošetření mikrovlnami funguje na principu dielektrického ohřevu pomocí polarizačních efektů na určité frekvenci vln (300 MHz-300 GHz) v nevodiči. Tato metoda se již nějakou dobu používá v komerční výrobě pro pasterizaci mléka, jelikož dosahuje požadované úrovně bezpečnosti. Zpracování surového mléka nepřetržitou mikrovlnou pasterizací o 2450 MHz přinášelo již negativní výsledky, jelikož bylo dosahováno teploty 82,2 °C.

Další metody, které mohou být použity při zpracování mléka, jsou například: vysokotlaké zpracování, ultrazvukové ošetření, ultra vysokotlaká homogenizace (UHPH) a ošetření pulzně elektrickým polem (PEF) (Fernandez, 2008).

3.5.7 Chlazení mléka

Pro dosažení plného účinku tepelného ošetření je nezbytné mléko po ohřevu rychle zchladit. Pasterizované mléko se chladí na 4-6 °C, uperizované mléko pouze na 10 °C. Pasterizované mléko má po vychlazení trvanlivost několik dnů. Mléko ultratepelně ošetřené má za předpokladu sterilního naplnění výrobku do sterilního obalu (tzv. aseptického balení) trvanlivost až půl roku (Kavina, 1996).

3.6 Mikroflóra v mléce po úpravách

Mléko po tepelném ošetření může obsahovat spory grampozitivních bakterií. Jedná se nejčastěji o *Bacillus* spp., *Clostridium* a organismy, jejichž vegetativní buňky jsou odolné vůči vysokým teplotám, např. *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* a *Alcaligeny*. Nejčastějším důvodem znečištění mléka po ošetření jsou mikroorganismy tvořící spory, jelikož většina ostatních není schopna množení v chladném prostředí. Některé druhy rodu *Bacillus* se množí dokonce i při 2 °C (např. *Bacillus cereus* a *Bacillus circulans*). Pokud teplota stoupne na 7-8 °C, *Bacillus cereus* je schopen se velmi rychle množit a produkovat znečištění způsobené lecithinázou fosfolipidů v tukových kuličkách. Dochází k produkci malých částic, zůstávajících na povrchu mléka. Dále mohou vznikat hořké skvrny v důsledku infikování mléka druhem *Bacillus* spp. Zničení těchto organismů není snadné a úroveň kontaminace je variabilní podle ročního období, kdy nejvyšší množství spor je přítomno v období mezi dubnem a zářím (Fernandes 2008).

3.6.1 Kontaminace po ošetření mléka

Většinu kontaminace mléka po ošetření způsobují gramnegativní bakterie, které mají určitou odolnost vůči dezinfekci a jsou schopné tvořit své kolonie na povrchu pasterizovaného mléka.

Převládají *Enterobacter*, *Cronobacter* a *Citrobacter*, ale gramnegativní psychrotrofové, převážně *Alcaligenes*, *Klebsiella*, *Acinetobacter* a *Flavobacter*, jsou v případě znečištění významnější. Jejich schopnost se množit v nízkých teplotách jim dává velkou výhodu oproti ostatním bakteriím a činí je tím nebezpečnější. Znečištění gramnegativními psychrotrofními bakteriemi zapříčiňuje změnu chuti, často popisovanou jako nečistou nebo

ovocnou. To je výsledkem proteolýzy a lipolýzy. Čas zkažení záleží na počtu a složení mikroflóry a dále na teplotě skladování. Mléko vyrobené za správných hygienických podmínek v moderním zařízení by mělo mít trvanlivost 10 dnů v chlazeném prostředí (Fernandez, 2008).

3.6.2 Znečištění mléka ošetřeného UHT

Ke znečištění produktů ošetřených UHT technologií dochází většinou kontaminací po procesu. Znečištění způsobené bakteriemi vysoce resistantních na teplo, které přežily ve formě spor (*Bacillus*) je velmi vzácné, nesmí však být přítomno velké množství spor. Stále častěji dochází k selhání sterilizace způsobené bakteriemi *Bacillus sporothermodurans*. Znečištění po procesu je většinou způsobeno selháním integrity plnícího systému nebo špatným balením. V tomto případě může dojít ke kontaminaci produktu, a to organismy z ovzduší. Hlavním problémem spojeným s UHT procesem jsou vysoce teplotně rezistentní mimobuněčné proteolytické a lipolytické mikrobiální enzymy. Ty jsou produkovány psychrotrofními organismy rostoucími v syrovém mléku. Jedná se hlavně o produkty *Pseudomonas*, *Acinetobacter* a *Achromobacter* bakterií schopných přežít tepelný proces, i přestože jsou všechny ostatní životaschopné buňky usmrceny. V průběhu dlouhodobého skladování jsou nebezpečím proteolytické enzymy, které mohou způsobit trpkou chuť mléka (Fernandez, 2008).

3.7 Dělení sýrů

Mnoho autorů se pokoušelo klasifikovat sýry. Některé systémy byly zaměřeny na výrobní postupy, na konzistenci sýrů nebo druh kůry. Jiné zase posuzovaly sýry z hlediska na obsahu tuku či vody. Některé systémy byly dokonce založeny na tom, jak silně je sýr cítit. Existuje velké množství druhů sýrů, které lze zařadit hned do několika kategorií (Ridgwayová, 2001).

3.7.1 Dělení podle způsobu srážení

3.7.1.1 Kyselé sýry

Kyselé srážení probíhá v kyselém prostředí, ve kterém klesá disociace karboxylových skupin aminokyselin. Snižuje se tedy celkový negativní náboj kaseinových micel, a tím i odpudivé síly mezi nimi. Současně dochází k přeměně koloidního fosforečnanu vápenatého na rozpustou formu, která se z kaseinových micel uvolňuje. Výsledkem je pokles koloidní stability např. při tepelném ošetření mléka. Při dosažení isoelektrického bodu kaseinu (pH 4,6) kaseinové micely agregují a dochází ke srážení mléka (Kadlec a kol., 2012).

3.7.1.2 Sladké sýry

Sladké sýry se vyrábí sladkým srážením mléka, které je způsobeno hydrolýzou κ -kaseinu, který pozbývá své ochranné funkce. Poté v přítomnosti vápenatých iontů dochází ke spojování kaseinových micel vápníkovými můstky, což vede k tvorbě gelu. Využití specifické proteolýzy κ -kaseinu pomocí syřidlových enzymů (hlavně chymosinu) je základním postupem pro výrobu sýrů (Kadlec a kol., 2012).

3.7.1.3 Tavené sýry

Tavené sýry se od ostatních skupin sýrů ve výrobě významně liší tím, že jejich výroba neprobíhá z čerstvého mléka, ale z již zralých sýrů. Výchozí surovinu představuje jeden, či více druhů sýrů. Sýrová hmota se rozemele, přidají se tavící soli a směs se zahřeje (Iburg, 2004).

3.7.2 Dělení podle obsahu vody

3.7.2.1 Čerstvé sýry

Čerstvé sýry jsou konzumovány již několik dní po jejich výrobě a nemají tak čas ke zrání. Většina z nich se používá k vaření pro zlepšení struktury a chuti pokrmu, protože absorbují tuk a aroma ostatních ingrediencí. Čerstvé sýry nemají žádnou kůrku, proto je jejich textura a barva stejná uvnitř i vně. Oproti tvrdým sýrům mají poměrně vysoký obsah vlhkosti, což je důvodem jejich krátké trvanlivosti. Bývají často posypané bylinkami, kořením nebo

oříšky. Čerstvé sýry musí být zkonsumovány do několika dnů, jinak je nutná jejich konzervace solí či olejem. Mikrobi v mléce nemají čas k přeměně cukrů v mléce na mléčné kyseliny. Tuk a proteiny jsou téměř nedotčené. Z těchto důvodů je chuť sýrů mírná, lehce citrónová nebo kyselá, pouze s náznaky flóry a minimálními rozdíly v souvislosti s používaným druhem mléka (Harbutt, 1999).

3.7.2.2 Sýry měkké

Za měkké se považují sýry s obsahem sušiny do 45 %. Sýry tohoto typu by měly být konzumovány brzy. Zástupcem této skupiny sýrů je brynza (Michelson, 2010).

3.7.2.3 Polotvrdé sýry

Polotvrdé sýry mají obsah vody nižší, pohybuje se kolem 55-61,9 %. Proces zrání je delší než u měkkých sýrů. Jedním ze zástupců z této skupiny sýrů je čedar (Dostálová a kol., 2014).

3.7.2.4 Tvrdé sýry

Do této kategorie se řadí sýry splňující dvě podmínky. Sýr nesmí obsahovat více jak 34 % vody a zároveň se obsah tuku musí pohybovat kolem 50 %. Příkladem toho druhu sýrů je parmezán (Kitchen, 2008).

3.7.3 Dělení podle obsahu tuku

Další způsob dělení je podle obsahu tuku v sušině. Podle tohoto kritéria se sýry rozdělují na sýry vysokotučné, plnotučné, polotučné, nízkotučné a odtučněné. Vysokotučné sýry mají obsah tuku nad 60 %. Plnotučné sýry obsahují více jak 45 % tuku. Polotučné již obsahují jen 25 % tuku. Sýry nízkotučné již obsahují 10 % a odtučněné obsahují méně jak 10 % tuku ve své sušině (Dostálová a kol., 2014).

3.8 Podmínky při výrobě sýrů

Výroba sýrů záleží hlavně na původním složení mléka a na specifických mikroorganismech, které jsou do mléka přidávány. Změny, které probíhají při výrobních

procesech, mohou být předpovězeny v rámci biologických limitů. Růst a aktivita mikroorganismů je však ovlivněna časem, teplotou, obsahem soli, pH, nutričními potřebami a dalšími faktory během jejich dozrávání. Různé druhy bakterií se mohou vyvíjet ve stejnou dobu. Růst jedné skupiny bakterií může zlepšit podmínky pro další, ale metabolické produkty většiny mikroorganismů z celkového pohledu spíše inhibují jejich růst, dokonce ho mohou zcela zastavit. Některé tyto pochody jsou důležité pro získání určitých chutí některých druhů sýrů. Počet bakterií v sýrech ze syrového a ošetřeného mléka není přímo úměrný jejich nezávadnosti a bezpečnosti. Například přítomnost koliformních bakterií by se neměla používat jako index sanitace, neboť rychlost růstu a úmrtí koliformních bakterií je nepředvídatelná v průběhu zrání sýra. U zrajících sýrů je nebezpečí nákazy po konzumaci sýru vyšší než u ostatních produktů (Marth, 1978).

3.8.1 Termofilní sýrařské kultury

Mezi termofilní sýrařské kultury patří: *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbruecki* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbruecki* subsp. *lactis*, *Lactobacillus helveticus* a *Lactobacillus casei*.

Optimální kultivační teplota těchto kultur je 40-45 °C, jen *Lbc. casei* má optimální teplotu 30 °C. Kultury se používají při výrobě sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou při teplotě 51-55 °C (ementál, parmazán), termofilního kyselého mléka, měkkých sýrů a tvarohu. Kromě fermentace laktózy na kyselinu mléčnou mají i mírnou proteolytickou aktivitu a spolu s reziduální aktivitou syřidlových enzymů ovlivňují chuť, vůni a reologické vlastnosti sýrů (Janštová a kol. 2012).

3.8.2 Kultury propionového kvašení

Jde o bakterie rodu *Propionibacterium* (*P. freudenreichii*, *P. freudenreichii* subsp. *Shermanii*). Jsou náročné na kultivační medium, proto se v mlékárnách používají k přímému zaočkování mléka. Propionibakterie jsou značně termorezistentní, snesou koncentraci soli v sýru 2-3 %, jejich optimální pH pro růst je 6,5-7,0. Optimální teplota růstu je sice 30-32 °C, ale snesou dohřívání sýřeniny do 55 °C po dobu jedné hodiny. Používají se nejčastěji při výrobě sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou a sýrů s tvorbou ok v těstě. Působením propionibakterií vznikají v těstě sýrů pravidelná oka, vytvořená CO₂ vzniklým při fermentaci

laktátu. Současně vzniká kyselina propionová, octová a z kaseinu uvolněný prolin. Propionibakterie produkují i vitamin B12. V ementálských sýrech žijí v symbióze s bakteriemi termofilního zákysu (Janštová a kol. 2012).

3.8.3 Kultury pro sýry s nízkodohřívanou sýřeninou

Pro sýry holandského typu (eidam, gouda) se používá mezofilní kultura s proteolytickou aktivitou o složení: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *Diacetylactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbruecki* subsp. *lactis*.

Pro sýry čedarového typu se používá speciální čedarová kultura, která se vyznačuje odolností vůči soli (až do 6,5 %), vysokou 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 (čedarizaci). Jako základní kultury se používají *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, na urychlení proteolýzy pak *Lactobacillus helveticus* příp. *Enterococcus durans* (Janštová a kol. 2012).

3.8.3.1 *Lactobacillus lactis*

Buňky tohoto grampozitivního mikroorganismu tvoří dlouhé tenké tyčinky, vyskytují se jednotlivě nebo ve dvojicích. Optimální teplota jejich růstu je 40 °C, s minimem mezi 18 až 22 °C a maximem 50 °C. Produkuje levotočivou kyselinu mléčnou až do koncentrace 1,6 %. Rozkládají pomalu bílkoviny a zkvašují laktózu, maltózu a částečně sacharózu. Mléko sráží za 4 až 6 hodin a netvoří plyn. Produkuje také antibiotikum nisin. Tvoří charakteristické bílé až bíložedé kolonie. Všechny bakterie z rodu *Lactobacillus* se dají souhrnně charakterizovat těmito obecnými znaky:

1. tvarově jsou to nejčastěji dlouhé tenké tyčinky
2. jsou grampozitivní
3. jsou nepohyblivé
4. netvoří spory
5. jsou to zpravidla fakultativní anaeroby
6. při zkvašování cukrů tvoří hlavně mléčnou kyselinu

7. až na ojedinělé případy netvoří katalasu

8. špatně rostou na jednoduchých umělých živných půdách.

Podle enzymové činnosti je dělíme na homofermentativní, které enzymem laktázou vytváří hlavně kyselinu mléčnou a vedlejší zplodiny jsou pouze ve stopovém množství, a na heterofermentativní, které svými enzymy vytvářejí vedle mléčné kyseliny ještě větší množství octové kyseliny, oxidu uhličitého, ethanolu aj. *Lactobacillus lactis* je důležitou složkou mikroflóry mléka a sýrů. Uplatňuje se v čistých mlékárenských kulturách pro výrobu mléčných nápojů, sýrů, tvarohu apod (Tvrdoň, 1978).

3.8.3.2 *Lactobacillus acidophilus*

Tyto buňky tyčinkovitého tvaru se vyskytují jednotlivě, ve dvojicích nebo i v krátkých řetězcích. Jsou grampozitivní, avšak ve starých kulturách mohou být i gramnegativní. Optimální teplota jejich růstu je 37 °C a jsou mikroaerofilní. Tvoří rychle inaktivní kyselinu mléčnou v množství 1,2 až 1,6 %. Mléko sráží za 3 až 4 hodiny. Kyselinu mléčnou tvoří z glukózy, galaktózy, sacharózy, laktózy a maltózy. Působí silně antagonisticky proti hnilobné mikroflóře. *Lactobacillus acidophilus* se vyskytuje v mikroflóře sýrů s vysoko dohřívanou sýřeninou a je důležitou složkou mikroflóry jogurtů a jiných mléčných výrobků. Tvoří typickou mléčnou střevní mikroflóru lidí, v jejichž stravě je více laktózy a dextrinu (Tvrdoň, 1978).

3.8.4 Kultury pro sýry zrající pod mrazem

Sýry této skupiny jsou charakteristické mazem, který se za aerobních podmínek tvoří na jejich povrchu (romadúr, dezertní, limburský, krkonošský, pivní sýr). Kromě základní mezofilní kultury bakterií mléčného kysání se používá také tzv. mazová kultura. Typické složení mazové kultury je: *Brevibacterium linens*, *Micrococcus roseus*, *Torulopsis candida*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida utilis*.

Kvasinky za přítomnosti vzdušného kyslíku oxidují organické kyseliny vzniklé při prokysávání, čímž snižují kyselost povrchu sýra k neutrálnímu bodu. Jsou také zdrojem vitaminů skupiny B. *Brevibacterium linens* na odkyseleném povrchu dobře roste, proteolytickými enzymy způsobuje aerobní zrání, tomu napomáhá *M. roseus* a další mikroorganismy. Spolu se podílí na tvorbě aromatu a chuti. *Brevibacterium linens* je přísně

aerobní, s optimální teplotu růstu 20-30 °C, je halotolerantní (snese až 4 % NaCl). Produkuje inhibující látky proti *Cl. botulinum*, *B. cereus*, *S. aureus*, některým kvasinkám a plísním (Janštová a kol. 2012).

3.8.5 Plísňové kultury

Plísňové kultury během zrání sýrů způsobují změny tuků a bílkovin. Štěpné produkty a metabolity přispívají k tvorbě charakteristických vlastností sýrů. Mezi tyto kultury patří např. *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti*, *Penicillium caseicolum*, *Penicillium nalgiovense*, *Penicillium viridicatum*, *Penicillium chrysogenum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Geotrichum candidum*.

Modrozelená plíseň *Penicillium roqueforti* se používá při výrobě sýrů s plísní v těstě (Roquefort, Stilton, Gorgonzola, Niva). Plíseň je méně náročná na přístup kyslíku, ale jeho koncentrace nesmí klesnout pod 5 %, snáší 4-5 % NaCl v hmotě sýra. Tyto vlastnosti umožňují růst v dutinách sýra. Camembertská kultura obvykle obsahuje *Penicillium camemberti* a *P. caseicolum* a používá se při výrobě sýrů s bílou plísní na povrchu, kultura má výraznou proteolytickou a lipolytickou aktivitu (Janštová a kol. 2012).

3.8.6 Kvasinky

Kvasinky jsou používány jako startovací kultura u měkkých a některých zrajících sýrů. Působí pozitivně na zrání a získávání aromatu. Pět druhů kvasinek převládá u bílých plísňových sýrů. Jsou to *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, *K. marxianus* var. *marxianus*, *D. hansenii*, *S. cerevisiae* a *Zygosaccharomyces rouxii*. Pozitivní účinek kvasinek byl prokázán i u modře zrajících sýrů. U modře zrajících sýrů je počet kvasinek uvnitř mnohem vyšší než u sýrů bílých. Obě mikroflóry jsou si však složením podobné. Ekosystém sýrů je typicky slaný, proto jsou kvasinky vybírány tak, aby v těchto podmínkách vydržely. Z tohoto důvodu se používají stejnorodé a dobře známé flóry kvasinek (Osiewacz, 2002).

3.8.6.1 *Debaryomyces hansenii*

Druh kvasinek *D. hansenii* má dvě varianty, *D. hansenii* var. *hansenii* a *D. hansenii* var. *fabryi*. Obě mají charakteristickou morfologii buňky. Fyziologicky se dají odlišit podle maximální teploty růstu a enzymem glukóza-6-fosfát dehydrogenázou. Maximální teplota

růstu pro *D. hansenii* var. *hansenii* je 31-35 °C. Varianta *D. hansenii* var. *fybryi* má nejvyšší teplotu růstu při 36-39 °C. V sýrech je dominantnější forma varianta *D. hansenii* var. *hansenii*, tato varianta se objevuje v sýrech ve velkém množství, a to jak u modrých, tak i bílých sýrů, rovněž i u sýrů s plísní na povrchu (Osiewacz, 2002).

3.8.7 Funkce sekundární flóry

Sekundární flóra zrajících sýrů je velmi komplexní, a tudíž je těžké rozlišit přínos jednotlivých druhů. Obecně sekundární flóra modifikuje texturu a chuť sýru jako důsledek svého růstu, metabolických aktivit a vypouštění proteolytických a lipolytických enzymů. V zrajících měkkých plísňových sýrech je sekundární flóra velmi důležitým startérem zrání. Přibližně tři dny poté, co v sýru začnou růst kvasinky, se na povrchu zformuje vrstva o tloušťce přibližně 200 µm. Současně s kvasinkami se množí *Geotrichum candidum*. V dalším týdnu rostou *P. camemberti* mycelia, které vytváří bílý obal na povrchu. Plísně a kvasinky jsou schopny asimilovat laktózu, čímž odkyselují povrch sýru a umožňují růst sekundární flóře citlivé na kyselost, jako jsou korynebakterie (konkrétně *B. linens*). Uvnitř sýru dominují mikroorganismy rodu *Lactococcus*. *P. camemberti*, napomáhají štěpení kaseinu proteinázou a peptidázou na peptidy. Následný rozklad aminokyselin má za následek vznik rozsahu chutí, které jsou zapříčiněné přítomností amoniaku, aldehydů, aminů a methanthiolu. Kvasinky jsou aktivní také v lipolýze mléčných tuků. Tímto způsobem se rozkládá 5-20 % triglyceridů na mastné kyseliny a další chuť upravující látky, jako jsou methylketony. Deacidifikační aktivita kvasinek spolu s jejich proteolytickou aktivitou znatelně upravuje texturu zrajících sýrů. Mění ji z pevné struktury na strukturu tekutou, typickou pro dozrálé měkké sýry s plísní (Early, 1998).

Při zlepšování chuti hrají důležitou roli sloučeniny síry. Ty jsou převážně tvořeny *B. linens*, ale také kvasinkami. *B. linens* produkuje proteázy a peptidázy, které rozkládají velmi intenzivně kasein. Tím se uvolňuje velké množství aminokyselin, jež se dále štěpí a přeměňují na sensoricky aktivní sloučeniny síry, typické pro zrající sýry s plísní na povrchu (Early, 1998).

3.9

Postupy při výrobě sýrů

3.9.1 Acidifikace

Jednou z nejzákladnějších operací při výrobě téměř všech druhů sýrů je postupné okyselování během výrobního procesu. Při acidifikaci vzniká kyselina mléčná. Samovolně k okyselování dochází například během počátečních fází zrání. Acidifikace zasahuje do mnoha výrobních procesů. Dnes je možné dávkovat kyselinu přímo do sýřeniny. Tento postup je používán pro některé varianty sýrů, př.: Mozzarella, Feta a Cottage. Do nedávna se při vzniku kyselin zcela spoléhalo na původní mikroflóru mléka, jelikož však byla mikroflóra nestejnorodá, nedalo se produkci kyselin předpovídat. Tato situace zapříčinila růst nežádoucích bakterií, které znehodnocovaly výrobu tvorbou nežádoucích plynů a chutí. V dnešní době je již zcela běžným postupem přidávat startující kultury vybraných bakterií produkujících kyselinu mléčnou. Tyto kultury se přidávají do pasterizovaného mléka proto, aby zajistily stabilní a vyrovnanou produkci kyselin. Pro varianty sýrů zahříváných do 40 °C jsou standardně používány tyto kultury: *Lactococcus lactis* subsp *lactis* nebo *Lc. lactis* subsp *cremoris*, zatímco *Str. salivarius* var *thermophilus* a *Lactobacillus* spp (*Lb. bulgaricus*, *Lb. helveticus* a *Lb. casei*). Kultura *Lactobacillus* samotná je používána při výrobě sýrů zahříváných na vyšší teplotu (Fox, 1993).

V mnoha zemích se stále používají původní směsi mezofilních druhů startérů. Vzhledem k tomu, že kmeny těchto bakterií bývají doprovázeny bakteriofágy, a z důvodu, že kultury ve směsi nemusí být vzájemně kompatibilní, může docházet k přemnožení jen jednoho nebo několika málo kmenů, což vede k nežádoucí variabilitě a nepředvídatelnosti tvorby kyselin. Aby se předešlo těmto problémům, začaly se používat jednokmenné mezofilní startéry, které rychle produkují kyseliny, to ale je příčinou nežádoucí hořkosti sýrů. Tento problém byl vyřešen zavedením vybraných párů startérů rychle a pomalu produkujících kyseliny. Správná produkce kyselin ve vhodném poměru je velmi důležitou součástí výroby sýrů dobré kvality (Fox, 1993).

3.9.2 Sýření

Velmi důležitým krokem při výrobě sýrů je sýření kaseinu, které vede k tvorbě gelu, a ten pak zachycuje tuk. Sýření lze dosáhnout několika způsoby: omezenou proteolýzou, acidifikací na pH 4,6 nebo acidifikací na pH 5,2 v kombinaci se zahříváním na 90 °C.

Většina sýrů se vyrábí pomocí enzymatických syřidel, jejichž přehled je uveden v tabulce 4. V minulosti se používalo syřidlo z žaludků mladých zvířat, jehož hlavními enzymy jsou chymozin s pepsinem. Jeho omezená dostupnost a zvýšená světová produkce sýrů vedla k nedostatku telecího syřidla. Z tohoto důvodu se objevily jeho náhražky (hovězí a vepřový pepsin, výjimečně kuřecí pepsin), které jsou dnes široce rozšířené a používány v mnoha zemích. Telecí gen pro tvorbu chymozinu byl vložen do *Kluyveromyces lactis*, *E. coli* a do *Aspergillus niger*. Chymozin produkovaný těmito mikroorganismy je v současnosti hojně využíván (Fox et al., 2004).

Koagulace mléka syřidlem probíhá za vyšších teplot a má dvě fáze. První fáze je fáze enzymatická a odehrává se v rozmezí teplot 0-50 °C. Druhá fáze je neenzymatická a odehrává se velmi pomalu nebo vůbec, pokud je teplota nižší než 18 °C. Obě fáze lze od sebe snadno oddělit, pokud se provádí první fáze při nízkých teplotách, tj. okolo 10 °C. Jakmile se mléko se syřidlem zahřeje na vyšší teplotu, probíhá koagulace velmi rychle (Fox et al., 2004).

Tabulka 4: Přehled syřidel používaných pro výrobu sýrů (převzato z Janštová, 2012, upraveno autorem).

Syřidlo	Sýr
chymozin a genově klonovaný chymozin (obsah chymozinu min 75 %)	všechny typy sýrů, nejvhodnější pro sýry s dlouhou dobou zrání
syřidlo z hovězích slezů (obsah chymozinu 50-75 %)	všechny typy sýrů a tvarohů
hovězí pepsin ve směsi s chymozinem v poměru 75 % ku 25 %	měkké sýry, nízkodohříváné sýry
vepřový pepsin	měkké sýry a tvarohy
mikrobiální syřidla z <i>Rhizomucor miehei</i>	všechny typy sýrů, mimo sýry zrající nad 6 měsíců
mikrobiální syřidlo z <i>Mucor pusillus</i>	pro výrobu Čedaru s kratší dobou zrání
mikrobiální syřidlo z <i>Endothia parasitica</i>	jen pro výrobu vysokodohříváných sýrů Emental, Sbrinz, Gruyere
kuřecí pepsin max. do 30 % z celk. koagulační aktivity	pro nízkodohříváné sýry zrající při teplotě do 12 °C

3.9.3 Krájení koagulátu

Přibližně 30 minut po zahájení sýření je sýřenina připravena ke krájení (v dnešní době se snaží výrobci tento čas zkrátit). Pro zjištění kvality vysrážené syrovátky se používá jednoduchý test. Špachtle se zapíchne do vysráženého mléka, následně pomalu vytahuje a čeká se, dokud se syrovátka od špachtle neoddělí. V dnešní době se zpracovává velké množství mléka v přesných časových intervalech. Tyto intervaly se nepřekračují a jsou dodržovány pro každý výrobník. Výrobce sýra usiluje o stejné zacházení se všemi výrobníky tak, aby jejich obsah byl připraven podle přesného časového harmonogramu. Způsob krájení je speciálně navržen tak, aby jeho produktem byla zrna sýřeniny. Velikost a tvar zrn se liší podle druhu sýra. Čím je řez efektivnější, tím je vlhkost finálního produktu nižší. V moderních, uzavřených výrobních dochází ke krájení pomocí nožů, které mohou krájet či drobit, v závislosti na směru jejich pohybu. Velikost zrn sýřeniny záleží více na délce řezání, než na prostoru mezi noži (Chandan et al., 2016).

3.9.4 Ošetření sýřeniny

Po rozkrájení sýřeniny jsou zrna velmi křehká a dají se snadno poškodit mechanickými procesy. Jakékoliv další krájení musí být jemné a rychlé, aby nedošlo k opětovnému spojení zrn. V případě, že se zrna usadí na dně, může dojít k jejich spojení, které může zapříčinit vylučování množství vlhkosti a ovlivnit tak produkt. Mechanické míchání (spolu s neustálou produkcí kyseliny mléčné mikroorganismy) pomáhá vyloučit syrovátku ze zrn. Syrovátka se mezi zrny objevuje ihned po krájení. Následně se na každém zrnu začne tvořit membrána. Je důležité, aby se tloušťka membrány neměnila příliš rychle, neboť by došlo k zabránění vyloučení syrovátky v požadovaném množství. Musí se dbát vysoké opatrnosti na to, aby se povrch zrn nepoškodil. Poškození by způsobilo únik tuku a kaseinu do syrovátky. Následné procesy mají na starost kontrolu vylučování syrovátky a zpevňování částic. V době krájení jsou zrna ve stádiu gelu, a čím více syrovátky se vyplaví, tím větší mají pevnost a pružnost. Tento proces je známý jako zpevňování (Chandan et al., 2016).

3.9.5 Dohřívání sýřeniny

Dohřívání sýřeniny začíná asi 10-15 min po rozkrájení. V prvních 10 minutách po krájení dochází k rychlému vylučování syrovátky, v průběhu dalších 10 minut se zpomaluje. Aplikace tepla způsobuje další vypouštění syrovátky. Teplota se musí přidávat postupně, aby se obaly zrn nepoškodily. Postupné zvyšování teploty zapříčiňuje zpomalení vylučování syrovátky. V případě, že je v zrnech zadrženo syrovátky příliš mnoho, dochází ke zvýšení vlhkosti a sýry mohou získat trpkou chuť. Zahřívání syrovátky také reguluje okyselování, jelikož dochází ke zpomalení růstu a tvorbě kyselin u startovacích kultur. Příkladem jsou mezofilní startovací kultury používané při výrobě čedaru. Při vytvoření většího množství kyselin, než je požadováno, je nutné zvýšit teplotu. V tomto případě se také musí zvýšit rychlost míchání tak, aby nedocházelo ke slučování zrn. Při výrobě čedaru se zahřívá sýřenina na teplotu 39 °C. Jiné sýry, např. sýry švýcarského typu a parmezán, se ohřívají na teplotu 49-54 °C a jsou nazývány sýry s vysokodohřívanou sýřeninou. Takovéto ošetření přežívají jen termofilní kultury. Mezofilní kultury zpomalují svůj růst při 38 °C, přičemž produkce kyselin není dostatečná již při 40 °C. Teplota dohřívání proto může být použita při kontrole tvorby kyselin. V případě pomalé tvorby kyselin se doporučuje dohřívání při teplotě o 1-2 °C nižší. To pomáhá stimulovat tvorbu kyselin, neboť aktivita startovacích bakterií je vyšší při teplotách nižších než 38 °C (Chandan et al., 2016).

3.9.6 Zrání sýra

Většina konzumovaných sýrů prochází zráním. Doba zrání se liší a může trvat od 3 týdnů až do 2 let. Doba zrání přímo ovlivňuje obsah vody ve finálním sýru. Mnoho variant lze konzumovat při různých fázích zralosti. Většinou záleží na chuťových preferencích zákazníka nebo na ekonomických faktorech.

Přestože sýřenina pro různé druhy sýrů se zřetelně liší již na konci výroby (textura, kompozice, z důvodu rozdílného složení mléka a výrobních procesů), unikátní charakteristika jednotlivých sýrů vzniká právě v průběhu zrání. Většina biochemických změn probíhajících během zrání je ovlivněna výrobním procesem, vlhkostí, obsahem soli, pH a použitou startovací kulturou. Během zrání dochází k velmi komplexním biochemickým procesům pomocí těchto činitelů:

1. Srážedlo
2. Původní enzymy v mléce, převážně lipáza a proteináza, které jsou velmi důležité při výrobě sýrů z čerstvého mléka
3. Startovací bakterie a jejich enzymy
4. Sekundární mikroflóra a její enzymy (Fox, 1999).

3.9.7 Solení

Hlavním cílem solení je regulovat mikrobiologickou a enzymatickou aktivitu. Dále zlepšuje chuť výsledného produktu a také prodlužuje dobu jeho trvanlivosti. Různé druhy sýrů vyžadují různé množství soli, jiné solicí techniky a jinou dobu vystavení sýrů působení soli (Farnham, 2015).

Sýry se solí jednou ze 4 metod:

1. Sůl je vmíchána do čerstvé sýřeniny před lisováním, metoda se nazývá suché solení.
2. Sůl nebo solná kašička je vetřena do povrchu vytvarovaného sýru. Tato metoda se používá pro některé modré sýry.
3. Tvarovaný sýr je ponořen do slané lázně (obsah NaCl je 15-23 %). Tímto způsobem se solí Eidam, Gouda, Ementál a Camembert.
4. Další metodou je kombinace výše uvedených. Jedná se například o Mozzarellu, která se solí před vytvarováním a následně se solí ještě po vytvarování.

Suché solení je nejčastěji používanou metodou. Původně se sůl promíchávala ručně. V dnešní době se tak děje mechanicky. Mechanizace zlepšuje prosolení a přesnější určení množství přidané soli. V dostatečném množství sůl inhibuje startovací kultury a ovlivňuje pH. Ačkoliv růst startovacích kultur ustává chvíli po solení, metabolismus laktózy dále pokračuje. Koncentrace laktózy se může zvýšit z 0,7 % na 1,5 % během 24 hodin po solení. Vzhledem k nárůstu množství kyseliny v tomto rozsahu, není změna pH příliš markantní. Ph klesá z 5,4 na 5,2-5,1 (Fox et al., 2000).

3.9.8 Vliv soli na mikroorganismy

Koncentrace soli ve vlhkosti sýrů má velký vliv na růst mikroorganismů uvnitř i na povrchu. U většiny sýrů dojde k přidání soli až po formování sýřeniny. Růst bakterií *Lactococcus* použitých jako startér je stimulován přidáním malého množství NaCl, ale je již

silně inhibován při obsahu soli okolo 5 %. V sýrech solených způsoben suchého solení je dosaženo úrovně inhibice velmi rychle. U sýrů typu Čedar startér přestává růst již krátce po přidání soli, ale metabolismus laktózy pokračuje dále, dokud obsah soli ve vlhkosti nedosáhne 5 %. Tyčinky *Lc. lactis* spp. *lactis* jsou tolerantnější vůči obsahu soli než *Lc. lactis* spp. *cremoris*. Malé množství soli ve vlhkosti může vést k namnožení startovacích kultur, což způsobuje trpkou chuť sýru, pokud jsou startovací kultury následně inhibovány dodáním většího množství soli. Přestože počet nestartovacích kultur mléčného kvašení bude vysoký v pozdější fázi zrání, zbytková laktóza se bude rozkládat. Nestartovacích kultur mléčného kvašení je zpočátku malé množství a to roste v závislosti na teplotě sýřeniny při stlačování a na teplotě zrání. Jejich schopnost růstu v přítomnosti NaCl se liší, většina kmenů roste v přítomnosti 6 % NaCl, ale při obsahu 8 % to již nedokáže. Některé rostou dokonce při 8 % NaCl, ale přítomnost 10 % NaCl je již inhibuje. Při dodržení správných podmínek je počet nestartovacích bakterií mléčného kvašení tak malý, že je zabráněno přílišné produkci laktózy. Pokud není růst nestartovacích kultur inhibován, jsou schopny do několika týdnů produkovat laktózu ve větším množství, což je nežádoucí.

V sýrech solených slaným roztokem nebo suchou solí se NaCl pomalu difúzí dostává z povrchu do středu sýru. Termofilní sýrařské kultury *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus* spp. jsou citlivější na obsah soli než *Lactococcus* spp. To se však neprojevuje při tvorbě kyselin, jelikož sýry s těmito startéry jsou většinou soleny roztokem soli (Fox et al., 2000).

4 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo popsat mikroflóru mléka pro výrobu sýrů, mikroorganismy běžně se v mléce vyskytující a mikroorganismy dostávající se do mléka v průběhu skladování či úprav. V práci byly rovněž shrnuty možnosti ovlivnění mikroflóry pomocí změn prostředí či přidáním látek.

Nadojené mléko obsahuje pestrou škálu mikroorganismů. Mezi dvě hlavní skupiny patří grampozitivní a gramnegativní bakterie, jejichž přítomnost je ve většině případů nežádoucí. V sýrařském průmyslu se používá jako vstupní surovina mléko ošetřené i mléko syrové. Použití syrového mléka bývá často provázeno nedůvěrou ze strany spotřebitelů, i přes lepší chuť a texturu sýrů. Proto se převážná část sýrů vyrábí z mléka ošetřeného, které neobsahuje prakticky žádné mikroorganismy. K jejich zahubení dochází nejčastěji tepelným ošetřením. Nejvyužívanějším postupem je pasterizace, jež je šetrná k živinám obsaženým v mléku. Obsah živin představuje důležitý aspekt pro následné procesy. Jakékoliv znečištění mléka po jeho ošetření je nežádoucí a může vést k znehodnocení veškerých produktů z něj vzniklých. Nejčastěji ke znečištění dochází při nevhodné přepravě a skladování.

Při výrobě sýrů z ošetřeného mléka je nutné použít sýrařské kultury. Každá kultura vyžaduje jiné optimální podmínky pro růst a nároky na prostředí. Mnoho startovacích kultur a dalších mikroorganismů je náchylných na obsah soli a hodnotu pH. Změny těchto dvou faktorů mohou výrazně ovlivnit produkt. Dalšími faktory ovlivňující zrání sýrů je vlhkost a teplota. Při dodržení veškerých postupů a hygienických nařízení lze minimalizovat riziko znehodnocení produktu. Všechny kontrolní postupy a moderní technologie většinu rizik minimalizují, a proto v dnešní době dochází k nálezům v souvislosti s požitím sýrů zcela výjimečně.

5 Seznam literatury

Bouška, J., Doležal, O., Jílek, F., a kol. 2006. Chov dojeného skotu Nakladatelství Profi Press. Praha. 186 s. ISBN: 80-86726-16-9.

Dostálová, J. Kadlec, P. a kol. 2014. Technologie potravin, Potravinářské zbožíznalství. KEY publishing. Ostrava. 423 s. ISBN 978-80-7418-208-2

Early, R. 1998. The Technology of Dairy Products 2nd ed. Springer Science and Business Media. London. p. 446. ISBN 0 7514 0344 X.

Elmer H. Marth. 1978. Standard methods for the examination of dairy products: 14th ed. American Public Health Association. Washington. p. 416. ISBN 0875530842.

Fantová, M., Kacerovská, L., Malá, G., a kol. 2010. Chov koz. Brázda. Praha. 216 s. ISBN: 978-80-209-0377-8.

Farnham, J.D. 2015. The Joy of Cheesemaking: The Ultimate Guide to Understanding, Making and Eating Fine Cheese. Skyhorse Publishing. New York. p. 256. ISBN 978-1-63450-124-8.

Fernandes, R. 2008. Mikrobiology handbook dairy products. Leatherhead Publishing. Leatherhead. p. 173. ISBN: 978-1-905224-62-3.

Fox, P.F. 1993. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology 2nd ed. Springer. Cork. p. 601. ISBN 978-1-4613-6137-4.

Fox, P.F. 1999. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology vol 1. Aspen Publishers. Maryland. p. 607. ISBN 0-8342-1338-9.

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L. H. 2000. Fundamentals of cheese science., Aspen Publishers. Maryland. p. 559. ISBN 0-8342-1260-9.

Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., Guinne, T.P. 2004. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology 3th ed. Academic Press. London. p. 617. ISBN 012263652X.

- Harbutt, J. 1999. Cheese. Willow Creek Press. Wisconsin. p. 192. ISBN 1 57223 200 5.
- Horák a kol., F. 2012. Chováme ovce. Nakladatelství Brázda. Praha. 384 s. ISBN: 978-80-209-0390-7.
- Chandan, R.C., Kilara, A., Shah, N.P. 2016. Dairy Processing and Quality Assurance 2nd ed. John Wiley and Sons Ltd. Chichester. p. 684. ISBN 1118810309.
- Iburg, A. 2004. Lexikon sýrů. Rebo Productions. Praha. 301 s. ISBN 80-7234-379-3.
- Janštová, B., Vorlová, L., Navrátilová, P., a kol. 2012. Technologie mléka a mléčných výrobků. Brno. 141 s. ISBN: 978-80-7305-637-7.
- Kadlec, P., Melzoch, K., Voldřich, M., a kol. 2012. Technologie potravin, přehled tradičních potravinářských výrobků. KEY Publishing. Ostrava. 569 s. ISBN 978-80-7418-145-0.
- Kavina, J. 1996. Zbožiznalství potravinářského zboží pro 2 ročníky. IQ 147. Praha. 261s. ISBN 340 767/94-74.
- Kitchen, L. 2008. The Dairy. Allen and Unwin. p. 255. ISBN 1741962017.
- Kramer-Priesch, H., Kiefer, I. 2009. Laktóza a fruktóza, Grada. Leoben. 127 s. ISBN 978-80-247-2487-4.
- Marth, E.M. 1978. Standard Methodesfor the Examination of Dairy Products, 14th ed. American Publick Health Association. Washington. p 416. ISBN 0-87553-084-2
- Mašek, L. 1995. Potraviny a nápoje v kostce. Ratio. Úvaly. 221 s. ISBN 978-3-12-13-6.
- Michelson, P. 2010. Cheese: Exploring Taste and Tradition, Gibs Smith, Layton, p. 304. ISBN 978 1 906417 33 8.
- Nollet, L.M.L., Tolda, F. 2009. Handbook of Dairy Foods Analysis: Food science and technology. CRC Press. New York. p. 918. ISBN 978-1-4200-4631-1.
- Osiewacz, H.D. 2002. Industrial Applications 10th ed. Springer-Verlag. Berlin. p. 413. ISBN 978-3-642-07481-3.

Park, Y.W. 2009. Bioactive Components in Milk and Dairy Products. John Wiley and Sons. Chichester. p. 440. ISBN 978-0-8138-1982-2.

Ridgwayová, J. 2001. Sýry: Průvodce světem sýrů. Fortuna Print. Praha. 224 s. ISBN 80-86144-65-8.

Simeonová, J., Gajdůšek S., a Ingr, I. 2003 Zpracování a zbožiznalství živočišných produktů. Vyd. 1. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Brno. 122 s. ISBN 80-7157-708-1.

Štolc, L., Louda, F., Zadražil, K., a kol. 1999. Chov hospodářských zvířat (chov skotu, ovcí a koní) 2. edice. Česká zemědělská univerzita v Praze a ISV. Praha. 151 s. ISBN 80-213-0478-2.

Tamime, A.Y. 2009. Milk Processing and Quality Management. John Wiley and Sons. Chichester. p. 344. ISBN 978-1-4051-4530-5.

Tvrdoň, M. 1978. Školní atlas mikroorganismů. Nakladatelství technické literatury. Praha. 178 s. ISBN: 04-815-78.

Walstra, P., Guerts, T.J., Noomen A., van Boekel, M.A.J.S. 1999. Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Processes. CRC Press. New York. p. 752. ISBN 0-203-90999-2.

Yoon, Y., Lee, S., Choi, K-H. 2016. Microbial benefits and risks of raw milk cheese. Food Control 63. p 201-215.