

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BRNO 2016

LUDMILA KOŠARIŠŤANOVÁ

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin



Mikrobiologie tavených sýrů
Bakalářská práce

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

Vypracovala:
Ludmila Košarišťanová

Brno 2016

ZADÁNÍ PRÁCE

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Mikrobiologie tavených sýrů vypracovala 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 vědoma, 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 chtěla poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce panu Ing. Liboru Kalhotkovi, Ph. D, za odborné vedení, cenné rady a za čas strávený na konzultacích.

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá mikrobiologií tavených sýrů. Popisuje mikrobiologickou kvalitu tavených sýrů a jejich nežádoucí kontaminaci mikroorganismy. Nejčastějšími kontaminujícími mikroorganismy jsou bakterie tvořící spory a mikromycety. Definiuje jejich negativní vliv na jakost tavených sýrů. Dále charakterizuje další možné kontaminanty tavných sýrů, které mohou způsobovat alimentární onemocnění u člověka. Součástí bakalářské práce je experimentální mikrobiologická analýza u různě skladovaných tavených sýrů.

Klíčová slova: tavené sýry, kontaminace, mikroorganismy, bakterie

ABSTRAKT

The aim of this bachelor thesis is on the microbiology of processed cheeses. Describing their microbiological quality and adverse contamination by microorganisms. The most contagious microorganisms are bacteria, creating disputes and micro-fungi. It defines its negative impact on quality of processed cheeses as well as it's characterizing possible contaminants of processed chesses, which may cause alimentary disease in humans. The next part of the thesis is an experimental microbiological analysis of different processed cheese's storage methods.

Key words: processed cheeses, contamination, microorganisms, bacteria

OBSAH

1	ÚVOD.....	10
2	CÍL PRÁCE.....	11
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	12
3.1	Výroba tavených sýrů	12
3.1.1	Suroviny	12
3.1.2	Tavicí soli.....	13
3.1.2.1	<i>Tavicí soli na bázi fosforečnanů</i>	14
3.1.2.2	<i>Tavicí soli na bázi citranů</i>	15
3.2	Technologický postup výroby tavených sýrů	15
3.2.1	Balení taveniny, chlazení, skladování a expedice	17
3.3	Mikrobiologie tavených sýrů	18
3.3.1	Mikroorganismy kontaminující tavené sýry	18
3.3.1.1	<i>Bakterie tvořící spory</i>	19
3.3.1.2	<i>Bakterie netvořící spory</i>	22
3.3.1.3	<i>Gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky</i>	23
3.3.1.4	<i>Plísně</i>	26
3.3.1.5	<i>Kvasinky</i>	27
3.3.2	Vlivy působící na mikroorganismy	27
3.3.2.1	<i>Vliv pH</i>	27
3.3.2.2	<i>Aktivita vody a_w</i>	28
3.3.2.3	<i>Vliv látek s emulgačními účinky</i>	28
3.3.2.4	<i>Vliv obsahu tuku</i>	29
3.4	Jak zabránit kontaminaci tavených sýrů	30
4	MATERIÁL A METODIKA.....	32

4.1	Charakteristika materiálu	32
4.2	Příprava laboratorních pomůcek	33
4.3	Složení a příprava živných půd	34
4.4	Úprava vzorku.....	35
4.5	Vyjádření mikroorganismů	36
5	VÝSLEDKY A DISKUSE	37
6	ZÁVĚR	40
7	PŘEHLED LITERATURY	41
8	SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ	46
8.1	Obrázky.....	46
8.2	Tabulky	46

1 ÚVOD

Přední vývozci sýra se od jakživa snažili uchovat sýr v co nejlepší kvalitě, aby překonal bez jakýchkoliv problémů přepravu do vzdálených oblastí. To vedlo k vynálezu tavených sýrů. Tavené sýry, jejichž výroba patří mezi nemladší obory mlékárenství, se začaly vyrábět nejdříve v Evropě. S prvními snahami vyrobit tavený sýr přišli ve Švýcarsku okolo roku 1911. Švýcaři vyrobili tavením s přidáním soli kyseliny citrónové druh sýra, který byl trvanlivý, chuťově i konzistencí uspokojivý a to ve srovnání se sýrem, který zraje stále dál. V roce 1916 se totéž podařilo i ve spojených státech s čedarem, kde sýraři použili soli kyseliny fosforečné (CALLEC, 2002). Od roku 1930 došlo k rozvoji výroby tavených sýrů, protože byly vyvíjeny a aplikovány nové typy tavících solí. Postupně se tavené sýry rozšířili do jiných zemích a jejich sortiment se stal značně rozmanitým (TAMINE, 2011).

Tavené sýry definuje vyhláška ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb., v platném znění, jako sýry tepelně upravené za přídavku tavících solí. Vyrábějí se zahřátím jednoho nebo více druhů přírodních sýrů a jejich roztavením za přidání tavících solí a dalších složek. Prodávají se jako neochucené nebo různě ochucené (CALLEC, 2002). Ve Švýcarsku převládají například výrobky z tvrdých sýrů, jako je ementál a v USA z čedaru. V jiných zemích to mohou být měkčí varianty. Po celém světě se s novou vlnou stylu „fast - food“ rozšířili tavené plátky, které jsou velmi vhodné k zapékání. Mezi druhy taveného sýra patří Kochkäse, což je sýr k vaření vyráběný tavením tvarohu s možnými přísadami. Takovými výrobky jsou v Rakousku Abgesottener käse a Glundner käse. Ve Francii Cancoillotte, vyrobený z mettonu, zralého syrovátkového sýra. V USA je známý pod názvem „cook cheese“ nebo „koch cheese“. Mezi tavené sýry patří i uzené sýry, které jsou dodatečně uzené (CALLEC, 2002). Tavené sýry jsou rovněž velmi oblíbené a rozšířené v České republice, kde se zkonsumuje přes 2,6 kg výrobku na osobu za rok (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013).

Tavené sýry se vyrábějí tavením surovin za vysokých tavících teplot, které by měly zničit vegetativní formy bakterií a tím zaručit jejich dlouhou trvanlivost. K jejich stabilitě také přispívají tavící soli, které se rovněž podílejí na jejich trvanlivosti (TAMINE, 2011). Je důležité během výroby dodržovat hygienické podmínky, aby nedošlo ke kontaminaci tavených sýrů a volit správné suroviny (BUŇKA et al., 2009).

2 CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce bylo zpracovat literární rešerši a shrnout poznatky o mikrobiologii tavených sýrů a charakterizovat opatření v boji proti nežádoucím mikroorganismům. V praktické části bylo úkolem experimentálně stanovit vybrané skupiny mikroorganismů ve vzorcích různě skladovaných tavených sýrů.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Výroba tavených sýrů

Výroba tavených sýrů se skládá z postupů, které je potřeba důsledně dodržovat a důležité je zároveň dbát na správný výběr surovin. V České republice se preferuje diskontinuální výroba, která je velmi rozšířená ve střední Evropě (BUŇKA et al., 2009).

3.1.1 Suroviny

Hlavní podíl surovinové skladby tvoří tvrdé sýry, u kterých se vybírají různé druhy sýrů v různém stádiu prozrání tak, aby bylo dosaženo požadované chuti a konzistence (PAVELKA, 1996).

Další složkou je tvaroh, který je potřebný ke zvýšení obsahu tukuprosté sušiny. Tvaroh se také přidává do směsí obsahující velmi zralé přírodní sýry za účelem dodání kaseinu, u kterého neproběhly rozsáhlé proteolytické procesy (BUŇKA et al., 2009). Tvaroh se přidává ke směsi přírodních sýrů v množství 10-20 % (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013).

Pro zvýšení obsahu tuku se používá máslo a v některých případech či provozech i smetana pro zjemnění výrobku (TAMINE, 2011). Pro úpravu chuti a konzistence lze také použít čerstvě zahuštěné či odstředěné pasterované mléko nebo i takzvaný krém, což je sýr již utavený (BUŇKA et al., 2009). Dále se přidává pitná voda, která se dodává za účelem dosáhnutí dobré emulze, rozpuštění tavících solí a pro úpravu tuku v sušině (KERESTEŠ, 2016). V dnešní době se používá při výrobě řada přísad, které mají částečně nahradit přírodní sýry. Je to například sušená syrovátka, sušené odstředěné mléko, kasein, kaseináty a mléčné precipitáty (BUŇKA et al., 2009). Pro upravení obsahu tuku je možné také přidat i menší množství sušeného podmásli, protože obsah laktózy zvyšuje tvrdost tavených sýrů (GAJDŮŠEK, 2002).

Pro dosažení požadované konzistence tavených sýrů a optimální hodnoty pH se používají zralé sýry s pH 5,2 až 5,8. Využívá se také kombinace mladších sýrů nebo tvarohu s hodnotou pH 4,9 až 5,2 a starších sýrů v pokročilém stádiu zrání s hodnotou pH 5,8 až 6,2. Nevhodné jsou sýry v počátečním stádiu hniloby. Pro výrobu tavených sýrů, jsou vyráběny i přírodní sýry, které jsou výhradně určené jen pouze pro tento účel (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Pokud se jedná o suroviny nemléčného původu, jsou to modifikované škroby a další polysacharidy, které mohou mít vliv na finální výrobek. Tyto přísady se do směsi přidávají za účelem snížení ekonomických nákladů. Výrobci také přidávají látky na bázi hydrokoloidů, které ovlivní lepší vaznost vody a ovlivní tím konzistenci (BUŇKA et al., 2009).

Pro zvýraznění vůně a chuti se přidávají přísady jako například koření, šunka, uzené maso, uzeniny, ryby, houby, zelenina a různé bylinky. Je možné přidat také i sladké ochucující přísady, což je například čokoláda nebo ovoce. Přidávají se do směsi před vlastním tavením a následně jsou tepelně ošetřovány současně s taveným sýrem. (PAVELKA, 1996).

Pro získání houbové příchuti je možné použít čerstvé (pěstované) houby, sušené houby, houbové koření přípravky nebo syntetické přísady. Typické houbové aroma čerstvých hub způsobuje 1 – okten - 3- ol (PUDIL et al., 2007).

3.1.2 Tavicí soli

Použití tavicích solí je velmi charakteristické pro tavené sýry. V průběhu tavení tyto soli nebo také emulgátory zajišťují výměnu Ca^{2+} iontů v tavenině za Na^+ (případně i K^+) ionty (KADLEC et al., 2012).

Z nerozpustného parakaseinanu vápenatého se stává rozpustnější parakaseinan sodný, jehož jednotlivé molekuly se v systému mohou pohybovat a přispívat k emulgaci tuků a vazbě vody (NIKOLAOS et al., 2014).

Dále také rozpouštějí bílkoviny, které umožňují emulgaci tuku, podílejí se na vazbě vody a tak zajišťují hydrataci. Jejich další funkcí je úprava pH. Hodnota optimálního pH pro roztíratelné tavené sýry se pohybuje v rozmezí hodnot 5,6 - 6,0 (KADLEC et al., 2012).

Během procesu tavení se mění také tukové kuličky, které se zmenšují a dochází k jejich rozptýlení (BUŇKA et al., 2009).

Tavicí soli mohou ale snižovat nutriční hodnotu těchto sýrů. Ideální poměr Ca a P je dán 1 : 1, zatímco díky fosforečnanovým tavicím solím se tento poměr snižuje na 1 : 1,8 - 3,5. Proto by bez aplikace těchto solí byla hodnota vápníku a fosforu přírodního sýra zachována v poměru cca 1:07. Pro výrobu tavených sýrů se používají tavicí soli, které jsou na bázi fosforečnanů nebo citranů a obvykle tvoří 2 až 3 % hmotnosti surovinové skladby (BUŇKA et al., 2009).

V poslední době se uvažuje o nahrazení tavicích solí na bázi fosforečnanů karagenany. U testu srovnávání pevnosti tavených sýrů byly použity dva vzorky těchto sýrů. Jeden ze

vzorků byl vyroben za pomoci fosforečnanových tavících solí a druhý vzorek obsahoval jako náhradu za tavící soli karagenany. Podle velikosti tukových kuliček a počtu na jednotku plochy se prokázalo, že tavené sýry bez použití solí fosforečnanového typu jsou mikroskopicky homogenní a mohou být novou výrobovou skupinou a tím i zajímavé pro spotřebitele (HLADKÁ et al., 2011).

3.1.2.1 Tavící soli na bázi fosforečnanů

Fosforečnany jsou soli odvozené od kyseliny trihydrogenfosforečné a tvoří skupinu sloučenin obsahujících anion $(\text{PO}_4)^{3-}$. Soli kyseliny fosforečné obsahující jednu skupinu $(\text{PO}_4)^3$ se nazývají orthofosforečnany, mezi které patří dihydrogenfosforečnan sodný, monohydrogenfosforečnan a fosforečnan sodný. Tyto tři orthofosforečnany najdeme v tavených sýrech pod E-kódem E339. Za podmínek vysoké teploty může dojít ke ztrátě vody dvěma sousedními hydroxylovými skupinami dvou různých orthofosforečnanů. Jejich následnou kondenzací dochází ke vzniku polymerů. Ze dvou monomerů poté vzniká pyrofosforečnan. Patří sem dyhydrogendifosforečnan a difosforečnan sodný. Tyto fosforečnany jsou označovány jako E450. Mezi polyfosforečnany, které vznikají polymerací z dalších řetězců fosforečnanů, patří významná grahamová sůl neboli polyfosforečnan sodný, označovaný E-kodem E452 (BUŇKA et al., 2009).

Fosforečnany ovlivňují podmínky prostředí a to hlavně pH. Naopak difosforečnany ovlivňují negativně chuť. Polyfosforečnany se vyznačují vysokou výměnou iontů a také prodlužují trvanlivost výrobků (KADLEC et al., 2012). Fosforečnanové tavící soli ve výrobě tavených sýrů hrají zásadní roli při dispergaci přítomných kaseinů a následně při utváření finální matrice tavených sýrů. Ovlivňují proces tvorby sítě (gelu) v chladnoucí matrici taveniny při takzvaném procesu krémování, což je utváření finální matrice během chladnutí a následného skladování (BUŇKA et al., 2010). Další vlastností je pufrční schopnost, což je schopnost stabilizovat pH systém vůči okolním vlivům. Na schopnosti tvorby gelu se nejintenzivněji podílejí difosforečnany a trifosforečnany. Během procesu tavení se také projevuje vliv fosforečnanů ve schopnosti vázat vodu přítomných bílkovin (BUŇKA et al., 2009).

Nezanedbatelným vlivem je také antimikrobní působení fosforečnanů. Antimikrobní účinky jsou zaznamenány spíše u grampozitivních bakterií, u některých mikromycet a kvasinek. Inhibiční efekt růstu grampozitivních bakterií je závislý na délce jejich řetězce, kdy

antimikrobní působení je účinnější u fosforečnanů s delším řetězcem než u fosforečnanů s kratším řetězcem (BUŇKOVÁ et al., 2010).

3.1.2.2 Tavicí soli na bázi citranů

Citrany, odvozené od kyseliny citronové, se vyznačují nižší výměnou Ca^{2+} iontů a příznivě ovlivňují chuť výrobku (KADLEC et al., 2012). Na rozdíl od fosforečnanů se až tak výrazně nepodílejí na konzistenci tavených sýrů. Nejvíce se používají citrany trojsodné (WALSTRA, 2006). Jsou používány především ve směsích s jinými tavicími solemi, hlavně s polyfosforečnany, které se přidávají zejména do blokových a plátkových tavených sýrů (BUŇKA et al., 2009).

3.2 Technologický postup výroby tavených sýrů

Technologický postup tavených sýrů zahrnuje kromě výběru složek a jejich přípravy (očistění, omytí, oškrábaní) podle připravené receptury také rozemletí surovin, přidavek tavicích solí, promíchání (popř. standardizaci), tavení, formování, balení, chlazení a skladování (KADLEC et al., 2012).

Pro výrobu tavených sýrů se přírodní sýry pečlivě vytřídí podle výrobních partií, kvality a stupně prozrání. Poté se důkladně očistí a případná poškozená místa se odstraní. Některé konstrukce na výrobu tavených sýrů jsou vybaveny i mixovacími noži, takže použitá surovina nemusí být tak dokonale rozemletá. Sýry se dále krájí, drtí, melou a zejména tvrdé sýry s kůrou na povrchu se musí jemně umlít na speciálních válcových mlýnech. Pak se přesně odváží jednotlivé komponenty podle stanovené odzkoušené receptury. Při diskontinuálním tavení se odvážené komponenty použijí jako vsádka do tavicího zařízení. Při kontinuálním tavení je mísení jednotlivých komponent řízeno programem zařízení (PAVELKA, 1996).

Při čištění a oškrabování sýrů mohou vznikat ztráty, které se pohybují odhadem v rozmezí 5 - 6 %. Tento proces se provádí v oddělených místnostech poblíž sklepů nebo skladů sýrů. K rozdrobení sýrů pro jemnou homogenní směs se používají vlky, což jsou speciální stroje, které sýry rozdrobí a rozmělní protlačováním přes otvory matrice. Pro další zjemnění sýrové hmoty se ještě používají kamenné válce, kde dochází k intenzivnímu rozetření hmoty. Tento krok je velmi důležitý, protože tím se dosáhne zkrácení doby tavení a vyrobený sýr je prostý všech hrubých kousků (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013). Od této fáze putuje sýrová hmota postupně do dalších výrobních postupů.

Technologické fáze jsou následující:

- **Příprava směsi určené k tavení**

Složení směsi určené k tavení závisí především na požadavcích, které jsou kladeny na výsledný tavený sýr. Při přípravě směsi jsou důležitými faktory obsah sušiny, obsah tuku v sušině a očekávaná konzistence finálního výrobku. Výběr surovin byl popsán v kapitole 2.1.1 Suroviny.

- **Určení složení tavících solí**

Pro fosforečnanové tavící soli a jejich analogy je limit obsahu tavících solí podle vyhlášky ministerstva zdravotnictví č.4/2008 v platném znění, nejvýše 20 g na 1 kg výrobku. Celkově by neměl obsah tavících solí ve finálním výrobku přesáhnout cca 3,5 % jeho hmotnosti. Tavící soli tvoří 2 - 3 % hmotnosti surovinové skladby (BUŇKA et al., 2009).

- **Vlastní proces tavení přípravné směsi**

Podstatou tavení je přeměna suroviny v tavený sýr, kdy tento proces má především fyzikálně chemický charakter. Dochází zde ke koloidním a disperzním změnám v sýrové hmotě. Úlohou tavení je působení tepla, tavících solí a intenzivního míchání směsi. Surovina se spojí s vodou, s přídatnými látkami a vytvoří se homogenní konzistence těsta. Faktory, které mohou ovlivnit tento proces, jsou kvalita použité suroviny, stupeň zralosti sýrů, jejich pH, pufrační kapacita, teplota, doba záhřevu, složení a kvalita tavících solí (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013). K tavení se používají tavící zařízení, jako jsou tavící kotle nebo tavičky. Vlastní tavení probíhá v tavičkách, které mají parou vyhřívaný plášť i přímý vstřík páry a nůž, který zajišťuje intenzivní míchání. V průběhu tavení je možné přidat vodu. Celý proces probíhá za vakua (KADLEC et al., 2012).

V jiné literatuře se uvádí i dvoukotlové vakuové soupravy nebo také kutry s obsahem 80 až 300 l, které se používají k tavení. Fungují opět na podobném principu. Připravená směs je zde zahřívána parou přes duplikátorové stěny kotle nebo přímým vstříkem upravené páry (GAJDŮŠEK, 2002).

Jakmile je připravena a rozmělněna směs přírodních sýrů, dopraví se k tavícímu kotli, kde jsou přidány ostatní suroviny jako například máslo, tvaroh, tavící soli a podobně. Po nadávkování surovin se tavící kotel uzavře a začne vlastní proces tavení, kdy se za zvýšeného

tlaku v relativně krátkém čase zvýší teplota až na tavicí teplotu, ta je udržována několik minut. Tavicí teplota se pohybuje prakticky v rozmezí od 90 do 100 °C pro diskontinuální způsob výroby. U kontinuálního procesu se tavení provádí v nerezových trubkách v tenké vrstvě při teplotě 130 - 145 °C po dobu 2 - 3 s. Ohřev je zpravidla prováděn přímým vstřikem páry do tavené směsi, pára poté ve směsi zkondenzuje (BUŇKA et al., 2009).

Podtlak, který se vytvoří během tavení a pohybuje se v rozmezí hodnot 0,04 - 0,05 MPa. Po zahřívání a míchání se rozpouštějí bílkoviny a obsah kotle se přeměňuje v hustý, klišovitý roztok, který se zároveň pasteruje a tím se prodlužuje trvanlivost taveného sýra. Celková doba míchání a tavení od počátku ohřívání až do doby vylévání je zhruba 10 - 15 minut. Liší se podle typu vyráběného sýra. Blokované a plátkové tavené sýry nevyžadují krémování, a proto je doba zpracování relativně krátká. Roztíratelné sýry vyžadují delší dobu mechanického zpracování taveniny, aby došlo k požadovanému stupni krémování. Horká tavenina se následně vypouští z kotle a dopravuje se čerpadlem nebo samospádem do formovacího automatu (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013).

3.2.1 Balení taveniny, chlazení, skladování a expedice

Vzniklá tavenina musí být hladká, lesklá, nesmí uvolňovat kapénky tuku, musí mít požadovanou viskozitu a nesmí se trhat ani lepit na obal. Tavenina se ještě za horka balí. Teplota před balením by neměla poklesnout pod 65 – 70 °C, aby nedošlo k poškození konzistence hotového taveného sýra a také, aby se zabránilo kontaminaci taveného sýra (PAVELKA, 1996).

V České republice se tavené sýry většinou balí do hranolovitých nebo trojúhelníkových forem předem vyložených hliníkovou fólií, která je z vnitřní strany lakovaná. Vliv na trvanlivost tavených sýrů mají i moderní balíčky, které jsou vybavené strojními mechanismy umožňujícími fólii zavařit. V současnosti se používají i jiné obaly, jako například laminované hliníkové obaly, tuby, plasty, kelímky, sklenice a jiné. Škála těchto obalů je opravdu bohatá a zároveň lákavá pro zákazníky (BUŇKA et al., 2009).

Následnou fází je chlazení. Můžeme jím inhibovat kontaminující mikroflóru. Zchlazení probíhá ve větraných chladných místnostech nebo v chladícím tunelu při teplotě nad 25 °C. Čím pomaleji se sýr chladí, tím je tužší jeho konzistence, avšak pro formování, by mělo být vychlazení co nejrychlejší, neboť pak výrobek může být lepivý nebo houbovitý. Výstupní teplota taveného sýra by měla být 20 - 24 °C. (ŠUSTOVÁ, SÝKORA, 2013). Rychlé

chlazení může způsobovat tzv. zamrznutí masy a tvoří se méně pevná struktura (KERESTEŠ, 2016). Po vychlazení se hotový sýr skladuje při teplotě do 10 °C (GAJDŮŠEK, 2002).

3.3 Mikrobiologie tavených sýrů

Jakost a trvanlivost tavených sýrů závisí z mikrobiologického hlediska na mikrobiologické hodnotě použitých ingrediencí, na mikrobiologické čistotě během výroby, na jakosti obalů, způsobu skladování, hodnotě pH, aktivitě vody a vlivu teploty (TAMINE, 2011). Velmi striktně jsou kladeny i požadavky na čistotu prostředí, pracovníků a sanitaci závodu. Při sledování mikrobiální kvality je důležité se zaměřit na výskyt patogenních mikroorganismů a jejich toxinů, které se mohou vyskytovat u přírodních sýrů, částečně organolepticky změněných, které jsou odeslány do tavíren na další zpracování (CEMPÍRKOVÁ et al., 1997).

Pokud jsou dodrženy podmínky správného postupu výroby a skladování, tak by vady a kontaminace sýrů měly být značně omezeny, pouze na ty formy, které jsou způsobené psychotrofními mikroorganismy, nebo také na mikroorganismy, které jsou schopny růst při atmosféře s nízkým obsahem kyslíku (BUŇKA et al., 2009).

Teplotní záhřev nad 80 °C zajišťuje usmrcení vegetativních forem mikroorganismů. Avšak u diskontinuálního způsobu výroby obvykle teploty nepřesahují 100 °C. Tím to nedojde k usmrcení vegetativních spor bakterií, které jsou velmi odolné a rovněž mohou představovat velké nebezpečí pro tavené sýry, jak bylo zmíněno v kapitole 2.2.3 Vlastní proces tavení.

3.3.1 Mikroorganismy kontaminující tavené sýry

U tavených sýrů dochází nejčastěji k sekundární kontaminaci a to během výroby, balení a distribuce. Mezi nejčastějšími kontaminanty tavených sýrů jsou bakterie tvořící spory a mikromycety. K primární kontaminaci dochází již při počátku výroby a to při volbě nevhodných kontaminovaných surovin (BUŇKA et al., 2009).

3.3.1.1 *Bakterie tvořící spory*

Tyto bakterie se obecně vyznačují svou schopností tvořit spory, které jsou odolné vůči vysokým teplotám, jedům, zářením a jiným nepříznivým podmínkám. Některé rody snášejí i několikahodinový var (ŠILHÁNKOVÁ, 2002). Spora je umístěna v buňce uprostřed (centrálně), na konci (terminálně) nebo před koncem (subterminálně). U některých druhů je umístění spor typické a lze ho použít k předběžnému určení (SCHINDLER, 2014).

Odolnost spor je velkým nebezpečím pro potravináře, protože spory jsou účinně usmrceny až při teplotě 115 - 120 °C po 15 až 30 minutách. Rezistenci spor zvyšuje obsah lipidů, bílkovin a vyšší koncentrace cukrů a naopak ji snižuje kyselé prostředí (CEMPÍRKOVÁ et al., 1997). Dalším faktorem, který zvyšuje termorezistenci spor, je nízký obsah vody ve spoře, protože i vegetativní buňky jsou ve vysušeném stavu odolnější ke zvýšeným teplotám než v normálním stavu. Díky své nepropustnosti obalových vrstev pro většinu látek, je spora odolná vůči jedovatým látkám. Je to zřejmé z toho důvodu, že spory nepřijímají barviva ani po fixaci preparátu plamenem. Metabolická aktivita spor, je nízká vlivem obsahu vody ve spoře, menšího enzymového vybavení a jejich velmi nízké aktivity, což je výsledkem zvýšené rezistence k vysychání a hladovění. Spora je tedy klidovou neboli spící (dormantní) fází buňky (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Sporulace nastává nejčastěji před koncem aktivní fáze rozmnožování buněk a to při poklesu živin pod určitou hladinu. Syntéza buněčné hmoty pokračuje, ačkoliv dělení buněk je za těchto podmínek již zastaveno. Při syntéze buněčné hmoty se buňky prodlužují a každá buňka obsahuje dva chromozomy jako výsledek ukončení replikace DNA, po níž se již buňka nedělila. Sporulaci dělíme na tyto fáze:

- Změna jaderného materiálu.
- Vytvoření sporového septa.
- Vznik prespory.
- Tvorba obalových vrstev spory.
- Zrání spory.
- Uvolnění spory z buňky.

Celý proces sporulace trvající od počátku tvorby sporového septa až do vzniku zralé spory, trvá 5 až 6 hodin. Jakmile nastanou příznivé podmínky, tak spory začnou klíčit a současně ztrácí rezistenci. Mezi sporulující bakterie patří nejvýznamnější rody, z hlediska tavených sýrů, rod *Clostridium* a *Bacillus* (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Bakterie z rodu *Clostridium* tvoří peritrichní tyčinky, které jsou grampozitivní a

obligátně anaerobní. Tyto bakterie jsou velmi rozšířené v prostředí. Většina druhů jsou oportunistické patogeny, které produkují jeden nebo více různých typů toxinů, z nichž některé způsobují alimentární otravy (JÍČINSKÁ, HAVLOVÁ, 1995).

Rod *Bacillus* tvoří grampozitivní bakterie, které jsou aerobní nebo fakultativně anaerobní, pohyblivé pomocí peritrichních bičíků. Jsou velmi rozšířené v prostředí. Mají bohaté enzymové vybarvení s obsahem proteolytických, amylolitických, pektinolytických enzymů a také některé druhy produkují enzym fosfolipasa. Mnoho bacilů produkuje antibiotika jako bacitracin, polymixin, tyrocidin, gramicidin a circulin. Některé druhy jsou patogenní pro člověka nebo pro zvířata a jsou to původci potravinových otrav (MADIGAN et al., 2009).

- *Clostridium butyrycum*, *C. tyrobutyrycum*

Tyto bakterie jsou přítomny již v sýrech, které podlely duření sýrů. Do sýrů se dostávají s mlékem kontaminovaným výkaly dojníc, které byly krmeny kontaminovanou siláží (BUŇKA et al., 2009). Pokud se použijí takové sýry, jako suroviny pro výrobu tavených sýrů, tak může dojít ke kontaminaci. Často se objevuje snaha, tavením se zbavit těchto sýrů, které podlely následkem nežádoucích bakterií pozdnímu duření. Avšak ve výrobě se nedoporučuje přidávat do směsi na tavení více než 15 % takových sýrů. Duření sýrů způsobují také i chuťové přísady, například kmín. Dá se tomu zabránit přidavkem povolené mikrobiocidní látky nizinu (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Tyto bakterie patří mezi bakterie máselného kvašení, které produkují velké množství plynů, zejména oxid uhličitý a vodík, znatelné podle tvorby ořechovitých ok. Kromě plynů dochází k tvorbě kyseliny máselné a octové, které vytváří nežádoucí organoleptické změny výrobku (SAMKOVÁ et al., 2012).

Pozdní duření sýrů se projevuje většinou u sýrů, jejichž sýřenina se dohřívá na teploty 52 až 56 °C po dobu asi 45 minut. *Clostridium butyrycum* a *C. tyrobutyrycum* jsou schopny přežívat pasterační teploty a tedy i teploty dohřívání. Laktóza je již většinou rozložena zákysovémi bakteriemi a klostridie jsou schopny využívat jako zdroj energie vznikající kyseliny mléčnou. Poté dochází ke vzniku oxidu uhličitého a vodíku. Duření způsobené sporujícími bakteriemi se projevuje až za několik týdnů (VLKOVÁ et al., 2009).

Tyto plynotvorné klostridie způsobují také v zabalených tavených sýrech za určitý čas tzv. šelest. Ten způsobuje nazdvihování hliníkové obalové fólie, které při přechodě prsty

tvoří šustivý zvuk. K šelestu dochází nejčastěji, když tavené sýry nejsou vzápětí po zabalení schlazeny na teplotu kolem 10 °C (GÖRNER, VALÍK, 2004).

- *Clostridium perfringens*

Jedná se o relativně silnou (1 µm) a dlouhou (5 – 12 µm) tyčinku s tupými konci se subterminálními sporami, které se za laboratorních podmínek tvoří zřídka a za velmi dlouhou dobu. Množí se velmi rychle, na běžných laboratorních půdách, při teplotě 42 °C roste nejrychleji. Produkuje řadu toxinů, hlavním toxinem je lecitináza. U člověka je příčinou alimentární otravy. *C. perfringens* se vyskytuje ve stolici a v exkrementech zvířat, v půdě i v potravinách (SCHINDLER, 2014).

- *Clostridium sporogenes*

Tato proteolytická bakterie způsobuje v tavených sýrech bílá hnilobná místa, které doprovází nepříjemný hnilobný zápach. Taková to místa jsou svou bílou barvou zřetelně odlišná od vlastní hmoty sýra. Podobně jako *Clostridium butyricum* a *C. tyrobutyricum*, se dostávají do tavených sýrů již při použití kontaminované suroviny nebo při použití chuťových přísad (GÖRNER, VALÍK, 2004).

- *Clostridium botulinum*

Tento další zástupce rodu *Clostridií* nepatří mezi nejčastější kontaminanty tavených sýrů, avšak z hlediska potenciálního výskytu a k produkci botulotoxinu, je nebezpečný pro lidský organismus. Podle Grecze et al. (1965) si spory této bakterie uchovávají svojí životaschopnost v tavených sýrech skladovaných při teplotě 2 – 4 °C po dobu čtyř až pěti let, u některých sýrů i šesti let (BUŇKA et al., 2009).

Vydatným zdrojem kontaminace *Clostridium botulinum* jsou pomalu prokysávající sílaže, které poskytují nutričně bohaté a současně anaerobní prostředí pro pomnožení a sporulaci klostridií (JÍČINSKÁ, HAVLOVÁ, 1995).

Botulotoxin se řadí mezi nejúčinnější jedy. Množství 1 mg představuje smrtící dávku pro 16 000 lidí. Tento prudce jedovatý toxin je bílkovinné povahy, proto se inaktivuje zvýšenou teplotou a to během 15 až 20 minut při 100 °C. *Clostridium botulinum* se v těle živočicha nerozmnožuje, působí pouze toxinem vytvořeným při rozmnožení v potravíně, tak může dojít k otravě tzv. botulizmu. První příznaky se projevují po požití potraviny po 6 až 72 hodinách (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Při požití potravy kontaminované botulotoxinem dochází v trávicím traktu k aktivaci tohoto toxinu proteolytickými enzymy. Aktivovaný toxin je poté vstřebán ze střeva do tělních tekutin, odkud se dostává do jednotlivých orgánů. Blokuje uvolňování neurotransmiteru acetylcholinu na presympatických membránách cholinergních nervů. Kvůli blokaci přenosu nervových vzruchů dojde k paralýze svalů a zároveň i k cévnímu selhání. V nejhorším případě to vede až ke smrti zadušením v případě dýchacích svalů. První příznaky jsou všeobecné, jde o malátnost, bolest břicha a zvracení. Poté následují nervové příznaky, mezi které patří dvojité vidění, mydriasis, sucho v ústech, poruchy polykání a dýchání, zástava střevní peristaltiky (KOMPRDA, 2004).

- *Bacillus cereus*

Tato bakterie z rodu *Bacillus*, je běžný kontaminant mléka a mléčných výrobků. Může být původce lokálních infekcí a dalších onemocnění (SAMKOVÁ et al., 2012). *B. cereus* roste při optimální teplotě 30 - 35 °C a maximální teplotě 48 - 55 °C. Nicméně psychotrofní kmeny, které se vyskytují hlavně u mléka a mléčných produktů, jsou schopny růstu již v rozmezí teplot 4 do 37 °C. Jeho vegetativní buňky jsou zničeny pasterací, avšak spory jsou schopny přežít teplotní záhřev. Toxin emetické formy, který produkuje *Bacillus cereus*, snáší vysoké teploty a je schopen být rezistentní při teplotě 126 °C za 90 minut. Také je stabilní v rozmezí pH 2 – 11. Enterotoxin diaroické formy je nestabilní při hodnotě pH < 4.0 nebo > 11,0 a je citlivý vůči vysokým teplotám. Enterotoxin diaroické formy je zničen při teplotě 56 °C za 5 minut (FERNANDES, 2009).

Nejdůležitějším symptomem diaroické formy je vodnatý průjem. K dalším projevům se řadí břišní křeče a nevolnost. Emetická forma onemocnění se projevuje nevolností a především zvracením. (KOMPRDA, 2004).

Bacillus subtilis, *B. brevis* a *B. cereus var. mycoides* jsou nežádoucí hlavně tvorbou hořké chuti (BUŇKA et al., 2010).

3.3.1.2 *Bakterie netvořící spory*

Z hlediska mikrobiologie tavených sýrů je zde významný rod *Staphylococcus*, který patří do skupiny grampozitivních koků s aerobním i fakultativním anaerobním metabolismem. Je schopen zkvašovat cukry za tvorby kyselin. Tvoří většinou žluté až oranžové kolonie (JÍČINSKÁ, HAVLOVÁ, 1995).

- *Staphylococcus aureus*

Je odolná vůči vysoušení, vysokému osmotickému tlaku, snáší 15 % roztok cukru nebo NaCl, výkyvy teploty i pH. Roste a produkuje toxin při teplotě 7 - 48 °C, pH 4 - 10 a aktivitě vody 0,83 - 0,99. Enterotoxin této bakterie je velmi termostabilní a není inaktivována ani při teplotě 100 °C po dobu 20 minut (KOMPRDA, 2004).

S. aureus se vyskytuje na pokožce, kde může vegetovat, protože je relativně odolný vůči vysoušení a vysoké koncentraci soli. Patogenní kmeny *S. aureus* produkuje toxiny, které poškozují kožní tkáň. Například některé kmeny produkuje exfoliativní toxiny, které jsou zodpovědné za syndrom opařené kůže. Tohle onemocnění se projevuje pocením pokožky na dlani, chodidlech a na ostatních částech těla odlupováním částeczek pokožky po dotknutí. *Staphylococcus aureus* také poškozují vlasové folikuly, způsobuje pupínky, vředy a další závažná onemocnění pokožky (ATLAS, 1994).

Za normálních okolností je lidský organismus k infekci *S. aureus* velmi odolný. K rozvoji onemocnění dochází u oslabeného jedince. Mastitidy u skotu a hnisavé infekce kůže lidí manipulující s mlékem, jsou dva nejvýznamnější zdroje z hlediska kontaminace syrového kravského mléka. V kontaminované potravíně pak dochází k pomnožení této bakterie a produkci stafylokokových enterotoxinů, které jsou velmi odolné vůči účinkům proteolytických enzymů trávicího traktu a jsou velmi termostabilní. Příznaky otravy se projevují po požití přibližně 0,4 µg · kg⁻¹ tělesné hmotnosti jedince za 1 - 6 hodin. Enterotoxiny způsobují zrychlení střevní peristaltiky a průjem. V důsledku podráždění emetického centra CNS (centrální nervová soustava) i zvracení (SAMKOVÁ et al., 2012).

3.3.1.3 Gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky

Bakterie tvořící tuto skupinu jsou rovné tyčinky délky 1 – 6 µ a tloušťce 0,4 – 1 µ. Také jsou si geneticky příbuzné metabolismem, protože okyselují glukózu za vývinu plynu a redukuje nitráty. Mají bičíky a různé druhy fimbrií. Jsou rozšířeny v půdě, ve vodě na rostlinách a u živočichů. U savců se vyskytují tyto bakterie přirozeně v tlustém střevě, a tedy i ve stolici. Některé druhy jsou původci infekcí trávicího traktu. Dostanou-li se *Enterobacteriaceae* mimo trávicí trakt, mohou vyvolat i závažné infekce. Jsou také původci infekcí močového traktu, na sliznicích faryngu nebo v průduškách jsou spíše znakem porušení normálního stavu sliznice a v tělních dutinách vyvolávají záněty, které se mohou vyvinout v sepsi. Jsou to tedy oportunní nebo podmíněné patogeny (SCHINDLER, 2014).

- Rod *Salmonella*

Vyskytuje se v trávicím traktu lidí a zvířat. Pokud se vyskytuje ve vodě, v potravinách a v přírodním prostředí, jedná se o fekální znečištění. Její sérovary jsou omezeny na hostitelské druhy, jako například na člověka. Jedná se o *Salmonella paratyphi* a *S. typhi*, které způsobují závažné střevní onemocnění se silnými průjmy (ANJUM, THOMSON, 2000). *S. typhi*, která je patogenní pouze pro člověka, způsobuje břišní tyf. Ten se projevuje silnými bolestmi břicha, malátností a vysokými teplotami spojenými s blouzněním. Inkubační doba trvá jeden až tři dny a během této doby dochází k pomnožení bakterií ve střevním traktu. Infekce se dostává do zažívacího traktu potravinami nebo vodou. Během nemoci, jsou bakterie vylučovány výkaly nemocného a proto při špatných hygienických podmínkách, může dojít k epidemii. Tito lidé pak působí jako „bacilonosiči“ a neměly by být přítomny v potravinářském provozu, v potravinářské distribuční síti ani v zařízení hromadného stravování (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Patogenní pro člověka je také i *S. typhimurium*, která je v přírodě velmi rozšířená. *Salmonella enteritidis* se vyskytuje často v trusu ptáků, odkud se dostává do potravin. Tyto uvedené druhy společně s *S. choleraesuis* vyvolávají onemocnění salmonelózu, doprovázené průjmy, horečkou, zvracením, krvavými průjmy a bolestí břicha (BLACK, 2013).

- Rod *Escherichia*

Nejvýznamnější a nejčastější obyvatel tlustého střeva člověka a savců je *Escherichia coli*. V rámci druhu *E. coli* se vyskytuje mnoho patogenních kmenů, které způsobují střevních onemocnění. Rozdělujeme je na tyto skupiny:

- **ETEC** – enterotoxická *E. coli* je původcem průjmových infekcí u cestovatelů, kteří cestují zejména do jižních zemí (např. Mexiko, Bangladěš). Produkuje dva toxiny, které jsou LT (termolabilní) a ST (termostabilní). Osidluje tenké střevo při vstupu do organismu. Infekce probíhá zde s vodovými průjmy a bez horečky.
- **EPEC** – enteropatogenní *E. coli* způsobující průjmy novorozenců, často s krví, bez horečky a při kterých dochází k rychlé dehydrataci organismů.
- **EIEC** – enteroinvazivní *E. coli* proniká do sliznice kde se pomnožuje. U postižených vyvolává dyzenterický syndrom (KLABAN, 2011)
- **EAEC** – enteroadherentní *E. coli* napadá sliznici. Infekce je celkem mírná (SCHINDLER, 2014).

- **EHEC** – enterohemoragická *E. coli*. Zde patří velmi nebezpečný sérotyp *E. coli* 0157: H7. Enterohemoragické kmeny *E. coli* mají podobný způsob adherence jako kmeny enteropatogenní, ale vážou se především v tlustém střevě (KLABAN, 2011).

Modelovým a nejvíce prozkoumaným druhem je *Escherichia coli* 0157: H7. Je to gram-negativní krátká tyčinka o velikosti 1,1 – 1,5 x 2,0 – 6,0 µm. *E. coli* 0157: H7 je fakultativně anaerobní a roste i v aerobních podmínkách. Vysoká hladina CO₂ inhibuje její růst. Naopak roste při teplotě 7 – 45 °C a její teplotní optimum je 37 °C (FERNANDES, 2009).

Escherichia coli 0157: H7 produkuje toxin, který se označuje v angličtině pod pojmem „shiga-like toxin“, čili je podobný shigelovému toxinu nebo se také označuje jako verotoxin. Způsobuje hemoragickou kolitidu, u některých nemocných jedinců se může vyvinout hemolyticko - kouremický syndrom. Onemocnění se vyskytuje v dětském věku a průběh nemoci je většinou velmi těžký. Zdrojem infekce je nejčastěji kontaminované maso (KLABAN, 2011).

- *Listeria monocytogenes*

Jedná se o grampozitivní krátkou tyčinku o velikosti 0,4 – 0,5 x 0,5 – 2,0 µm. Je aerobní a mikroaerofilní. Její teplotní optimum pro růst je mezi 30 a 37 °C, při nižších teplotách roste velmi pomalu. Horní teplotní hranice pro růst je teplota 45 °C. Není rezistentní vůči vysokým teplotám a může být zničena pasterací (FERNANDES, 2009).

V průmyslově rozvinutých zemích jsou listeriózy příčinou jen asi 0,5 – 1 % všech hromadných alimentárních infekcí a intoxikací mikrobiálního původu. Mají však mezi těmito onemocněními zcela nesporné prvenství v procentu mortality, které se odhaduje až na 30 % úmrtí z celkového počtu onemocnění. *Listeria monocytogenes* je oportunistický patogenní mikroorganismus, vnitrobuněčný parazit, který napadá buňky imunitního systému a rozmnožuje se v nich. Listeriízy člověka se projevují jako velmi různé typy onemocnění a postihují především osoby se sníženou imunitou. Hlavní virulentní faktor, listeriolyzin (hemolyzin 0), je nutný pro vnitrobuněčné přežití (JÍČINSKÁ, HAVLOVÁ, 1995).

L. monocytogenes je rozšířená v přírodním prostředí, kde se pomnožuje saprofytním způsobem. Byla také izolována z vegetace, vodních zdrojů, odpadních vod, půdy, hnoje i krmiv. Volně žijící zvířata, hmyz, hospodářská zvířata i lidé jsou hostiteli tohoto patogenního mikroorganismu. Vhodným médiem jsou i nedostatečně prokysané siláže a tímto i zdrojem

infekce pro hospodářské zvířata. Takto může dojít ke kontaminaci mléka. Zdrojem kontaminace jsou i mlékárenské závody. V sýrech mohou listerie přežívat po celou garanční lhůtu a také se v nich pomnožovat během skladování. Avšak je to závislé na druhu sýra, příslušném technologickém procesu, teplotě během zrání, uskladnění, konečném pH sýra a na aktivitě zákysových kultur (JÍČINSKÁ, HAVLOVÁ, 1995)

3.3.1.4 Plísně

Patří mezi vláknité mikroskopické houby (mikromycety), které jsou mnohobuněčné mikroorganismy a jsou zařazeny do samostatné říše hub (OSTRÝ, 1998). Z potravinářsko-technického hlediska se jako plísně označují také organizmy, které tvoří na potravinách povlaky složené z jednotlivých vláken hyf (GÖRNER, VALÍK, 2004).

Vyznačují se velkou morfológickou rozmanitostí a schopností se přizpůsobit nejrozličnějším ekologickým podmínkám. Jejich výskyt je téměř všude tam, kde existuje organická hmota. Základ těla tvoří vegetativní vláknitý útvar, který se nazývá stélka (thallus). Typickým znakem vláknitých mikroskopických hub je houbové vlákno hyfa. Souborem těchto hyf vzniká mycelium a spleť rozvětvených hyf se tvoří kolonie. Povrchy a spodiny kolonií jsou různě zbarveny. Mohou být bílé, šedé, černé, hnědé, krémové, zelené, modré, žluté a fialové. Je to způsobeno pigmenty zbarvující povrchovou membránu a spory (OSTRÝ, 1998).

Rozmnožování u plísní probíhá dvojnásobně a to sexuální (pohlavní) a asexuální (nepohlavní). Při pohlavním rozmnožování dochází k tvorbě pohlavní spory po spájení dvou buněk. Nepohlavní rozmnožování probíhá vegetativním způsobem na vegetativních hyfách, nebo na fruktifikačních orgánech za vzniku vegetativních spor (ŠILHÁNKOVÁ, 2002).

Na zhoršení jakosti tavených sýrů se podílejí nejčastěji zástupci rodu *Penicillium* a to *P. commune*, *P. roqueforti* aj. (BUŇKA et al., 2010). Plísně mohou produkovat mykotoxiny, což jsou sekundární metabolity vyskytující se hlavně u rodu *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium*. Mykotoxiny jsou příčinou řady onemocnění a při požití takové potraviny způsobují mykotoxikózy u člověka a hospodářských zvířat. Hlavními toxickými účinky mykotoxinů jsou karcinogenní účinky, genotoxicita, teratogenotoxicita, nefrotoxicita, hepatotoxicita a vývojová toxicita (LEDOUX, ROTTINGHAUS, 1999).

3.3.1.5 Kvasinky

Sýry kontaminované kvasinkami mají kvasničnou chuť a aroma chlebového těsta. Kvasinky způsobují také žluklou chuť, díky jejich lipolytické aktivitě. Volné mastné kyseliny zde mohou esterifikovat alkoholy a vytvářet ovocnou chuť a vůni. Výskyt kvasinek na povrchu sýrů bývá provázen jeho osliznutím a častým zdrojem kontaminace bývají solné lázně. Po provedení solné lázně, je nutné sýry důkladně osušit, protože kvasinky se množí především na površích sýrů s nepřiměřenou vlhkostí. Mezi nejčastější kvasinky kontaminující sýry patří kvasinky rodu *Candida*, *Yarrowia*, *Kluyveromyces*, *Geotrichum*, *Debaryomyces* a *Pichia* (VLKOVÁ et al., 2009).

3.3.2 Vlivy působící na mikroorganismy

Mikroflóra tavených sýrů může být ovlivněna vnějšími i vnitřními faktory. Mezi faktory, které se významně podílejí na jakosti a trvanlivosti tavených sýrů, lze zařadit pH, vodní aktivita, obsah tuku, přidavek látek s emulgačními účinky a zejména mikrobiologická kvalita použité vstupní suroviny a dodržování hygienických podmínek během výroby a skladování (BUŇKOVÁ et al., 2010).

3.3.2.1 Vliv pH

Růst mikroorganismů a jejich biochemická činnost jsou velmi ovlivněny koncentrací vodíkových iontů v prostředí. Každý mikroorganismus se může rozmnožovat pouze v prostředí v určitém rozmezí pH. Pro většinu mikroorganismů se tato hodnota pH pohybuje okolo 7 (6,6 až 7,5). Pro optimální růst většiny bakterií a kvasinek je toto rozmezí poměrně úzké, zatímco u většiny plísní je podstatně širší a například extrémní pH může i mikroorganismy usmrtit (VLKOVÁ et al., 2009).

Většina mikroorganismů se nejlépe rozmnožuje při hodnotě pH kolem neutrálního bodu, což je pH 6,6 – 7,5. Jen malá část mikroorganismů je schopna růst při pH pod 4,0. Hodnota pH pro tavené sýry je v rozmezí 5,6 – 6,0, což umožňuje růst mnohým mikroorganismům. Inhibiční působení nízkých hodnot pH je dáno ovlivněním funkce respiračních enzymů mikrobiálních buněk a narušením transportu živin do buňky. Rezistence k pH závisí poté na typu použité látky vedoucí ke snížení pH. Proto se z tohoto důvodu často používají v potravinách monokarboxylové kyseliny, kdy účinek těchto kyselin jako antimikrobních látek závisí na stupni jejich disociace při daném pH (BUŇKOVÁ et al., 2010).

Minimální pH, při kterém dokážou růst proteolytické kmeny *Clostridium botulinum*, je v rozmezí pH 4,6 – 4,8. Neproteolytické kmeny *C. botulinum* rostou při pH vyšším než 5,0. K prevenci botulotoxinu lze použít kyselinu mléčnou, kde sodné a draselné soli kyseliny mléčné zabraňují produkci toxinu. Přídavek 1,5 % mléčnanu sodného signifikantně snižuje produkci botulotoxinu v tavených sýrech (BUŇKA et al., 2009).

3.3.2.2 Aktivita vody a_w

Mezinárodní symbol a_w pochází z anglického spojení water activity nebo available water, což doslovně znamená dostupná či přístupná voda. Aktivita vody představuje kvantitativní měřítko dostupnosti vody pro mikroorganismy v určitém prostředí. Udává se v desetinných číslech od 0 do 1,0, kdy hodnotu 1,0 vykazuje čistá, destilovaná voda. Tekuté kultivační půdy mají a_w 0,99. Vodní aktivita má úzkou spojitost s relativní vlhkostí vzduchu a jeho osmotickým tlakem. Parametr a_w nemá pouze význam pro růst mikroorganismů v potravinách a v potravinářských výrobcích, ale také pro průběh biochemických a enzymatických procesů v nich. Většina bakterií je schopna se rozmnožovat v kultivačních prostředích s hodnotou $a_w = 0,99 - 0,93$. Výjimkou jsou halofilní a halotolerantní druhy bakterií, kde například kvasinky vyžadují hodnotu vodní aktivity v intervalu 0,91 – 0,88. Ještě nižší hodnotu aktivity vody snášejí tzv. osmofilní kvasinky a při podstatně nižší hodnotě rostou plísně. *Aspergillus glaucus*, což je osmofilní plíseň, dosahuje hodnoty vodní aktivity až 0,60. Obecně platí, že mikroorganismy včetně plísní při a_w pod 0,6 již nerostou. Živé organismy mohou existovat v intervalu aktivity vody 0,6 až 0,1 (KLABAN, 2011).

Aktivita vody a_w v tavených sýrech se obvykle pohybuje v rozmezí hodnot 0,91 až 0,96. Tyto hodnoty aktivity vody jsou vhodné pro zamezení růstu a pro prevenci produkci toxinů některých kmenů *C. botulinum*. Proteolytické kmeny *C. botulinum* pro svůj růst vyžadují hodnoty $a_w > 0,935$. Při nižších hodnotách je růst těchto bakterií potlačen. U neproteolytických kmenů je mezní hodnotou $a_w = 0,970$ (BUŇKOVÁ et al., 2010).

3.3.2.3 Vliv látek s emulgačními účinky

Mezi nejčastější látky s emulgačními účinky lze zařadit fosforečnany, polyfosforečnany a citrany. Kromě těchto látek je také možné přidat do tavených sýrů emulgátory (povrchové aktivní látky), jako jsou například monoacylglyceroly (BUŇKOVÁ et al., 2010).

Monoacylglyyoly (MAG) jsou parciální estery glycerolu s vyššími mastnými kyselinami, které mají povahu povrchově aktivních látek. Aplikaci MAG v potravinách umožňuje také dobrá snášenlivost těchto látek. Monoacylglyyoly v lidském organismu vznikají jako přirozený produkt lipázou katalyzované hydrolýzy tuků, běžně se vyskytující v živočišných produktech, například v mléce. Jsou tedy obecně považovány za bezpečné, bez nežádoucích účinků a toxicity vůči sliznicím. Monoacylglyceroly působí inhibičně na vegetativní formy grampozitivních i gramnegativních bakterií, kvasinky a i na některé plísně. Některé MAG dokážou potlačit nebo alespoň pozastavit proces sporulace a germinace. Také dokážou snížit odolnost bakteriálních spor. Tato schopnost monoacylglyreolů vychází z lipofilního charakteru těchto látek, díky které dochází k interakcím s cytoplazmatickou membránou buněk (DOLEŽÁLKOVÁ et al., 2011).

Emulgační schopnost nasycených 1 - monoacylglyrolů závisí na typu mastné kyseliny a zvyšuje se s rostoucím počtem uhlíků v řetězci mastné kyseliny. Pokud byly do modelových vzorků tavených sýrů přidány 1 - monoacylglyyoly v koncentraci 0,25 %, bylo zjištěno, že s rostoucím počtem uhlíků v esterově vázané kyselině MAG narůstá tuhost těchto produktů a zároveň klesá jejich roztíratelnost. Pro zvýšení emulgačních schopností je vhodné přidat 1 - monoacylglyceroly s vyšším počtem uhlíků v esterově vázané mastné kyselině (například 1 - monopalmitin, 1 - monostearin). Přídavek 1- monoacylglycerolů s nižším počtem uhlíků v esterově vázané kyselině vykazuje zhoršení sensorických vlastností výrobku. Projevuje se nepříjemnou pachutí, chutí a vůní a tudíž jejich použití do některých potravin je nevhodné (BUŇKA et al., 2009).

Jak již bylo řečeno v kapitole 3. 1. 2. 1. tavící soli na bázi fosforečnanů, tak i fosforečnany se vyznačují svými emulgačními účinky a antimikrobní účinností, které jsou podstatně vyšší, než u tavících solí na bázi citranů. Bylo zjištěno, že polyfosforečnany působí inhibičně na růst *Clostridium perfringens* a také orthofosforečnany mohou inhibovat růst a produkci toxinů *Clostridium botulinum* sekvestrací kovů, zejména hořečnatých a vápenatých iontů. Polyfosforečnanové soli působí také inhibičně vůči *Clostridium tyrobutyricum*, což je původce pozdního duření sýrů (BUŇKOVÁ et al., 2010).

3.3.2.4 Vliv obsahu tuku

Obsah tuku může mít vliv jak na texturní parametry tavených sýrů, tak i na jejich mikroflóru. Zvýšení obsahu tuku v tavených sýrech se může dosáhnout přidáním másla,

smetany, mléka a podobně. Avšak prostředí se zvýšeným obsahem tuku, může být vhodným prostředím pro nežádoucí bakterie. Bylo zjištěno, že obsah tuku ovlivňuje růst a množení sporulujících bakterií v tavených sýrech, jako jsou bakterie rodu *Bacillus* a *Clostridium*. Sýry s nižším obsahem tuku jsou tak pro bakterie méně příznivým prostředím než sýry s vyšším obsahem tuku. Tavené sýry s obsahem tuku v sušině 30 % (w/w) jsou pro růst sporulujících bakterií méně příznivým prostředím než sýry o vyšší tučnosti, vyšší obsah lipidů v prostředí pravděpodobně poskytuje bakteriím ochranu vůči inhibičně působícím látkám rozpustným ve vodné fázi produktu a znemožňuje tak inhibiční efekt některých antimikrobně působících látek. Je to například kyselina sorbová, sorban draselný, monolaurin a polyfosforečnany (DOLEŽÁLKOVÁ et al., 2011).

Prostředí se sníženým obsahem tuku se jeví jako méně příznivé i pro bakterie rodu *Listeria monocytogenes* a *Salmonella spp.* Inhibiční účinky vůči zmíněným mikroorganismům v sýrech vykazují také mastné kyseliny, jako jsou kyselina kaprinová, laurová, olejová a linolenová. Pokles růstu byl, zaznamenám u bakterií rodu *Clostridium* v přítomnosti mastné kyseliny kaprylové, kaprinové, laurové, myristové, olejové a linolenové v médiu s obsahem tuku 20 %, kdy nejlepší inhibiční účinky vykazovala kyselina laurová. Obsah tuku také může ovlivnit produkci botulotoxinu, který u sýrů s nízkým obsahem tuku nevykazuje téměř žádnou aktivitu ve srovnání s plnotučnými sýry (BUŇKOVÁ et al., 2010).

3.4 Jak zabránit kontaminaci tavených sýrů

Aby se zabránilo kontaminaci tavených sýrů, je důležité zpracovávat vhodné suroviny, které nejsou kontaminované a jsou mikrobiologicky vhodné k výrobě tavených sýrů. Nisin je nejstarším a nejvíce prostudovaným bakteriocinem patřícím do skupiny lantibiotik, je vyráběn komerčně a také schválen Světovou zdravotnickou organizací (WHO) jako tzv. potravinářské konzervační aditivum. Je produkován některými bakteriemi mléčného kvašení (BMK) jako například kmenem *Lactococcus lactis subsp. lactis* a má inhibiční účinky vůči grampozitivním bakteriím z rodu *Listeria*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Clostridium* a dalším. Na gramnegativní bakterie, viry, plísně a kvasinky přímo nepůsobí. Přídavek nisinu může snížit i produkci botulotoxinu v tavených sýrech. Je také dobře rozpustný ve vodě (KUNOVÁ et al., 2014).

Růst bakterií a produkci toxinu lze také zpomalit přidavkem lysozymu, který se běžně vyskytuje v mléce, vejcích a sekretech sliznic. Tento enzym degraduje buněčnou stěnu bakterií a je účinnější vůči grampozitivním bakteriím než k bakteriím gramnegativním. Některé kmeny *C. botulinum* jsou méně odolné vůči lysozymu, proto je možné použít kyselinu ethylendiamintetraoctovou (EDTA), která je účinnější (TAMINE et al., 2011).

Také kyselina sorbová je schopna zpomalit nebo zabránit růstu bakterií a mikromycet. Účinek této kyseliny na mikroorganismy kontaminující potraviny je dán, podobně jako u kyseliny mléčné, schopností disociovat uvnitř buňky. Některé druhy mikroorganismů jako například *Penicillium roqueforti*, dekarboxylují sorbovou kyselinu na penta - 1,3 - dien, který způsobuje u sýrů nežádoucí pach po petroleji (VELÍŠEK, 2002). Použití kyseliny sorbové je ale omezeno z důvodu její nízké rozpustnosti ve vodě. Kyselina sorbová je lépe rozpustná v tučných než vodě, proto má také lepší inhibiční účinky v potravinách s vyšším obsahem lipidů. V případech, kdy je vyžadována vyšší rozpustnost ve vodě, je možné použít sorban draselný, který má antibakteriální účinky vůči mezofilním, psychrotrofním, fakultativně anaerobním bakteriím a bakteriím z čeledi *Enterobacteriaceae*. Kyselina sorbová se může přidat do tavených sýrů v množství menším než 0,2 % hmotnosti finálního výrobku (BUŇKA et al., 2009).

Kyselina propionová se také vyznačuje antimikrobními účinky a stejně jako kyselina sorbová působí inhibičně proti plísním (KUSSY, AYLWARD, 2009). Působí inhibičně na kvasinky a mikromycety a rovněž i její vápenatá a sodná sůl má protiplísňové účinky. Je účinná vůči sporulujícím bakteriím jako například *Bacillus subtilis* (KYZLINK, 1988). *Bacillus subtilis* může kyselina propionová inhibovat při pH 6,0, kdy inhibuje značně jeho růst. Při hodnotě pH 4,0 – 5,0 se inhibuje růst kvasinek a mikromycet. Propionan sodný působí inhibičně na *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *Proteus vulgaris* a *Torula spp.* Propionan vápenatý působí inhibičně na *Bacillus subtilis* a *L. monocytogenes*. Inhibiční efekt kyseliny propionové je obecně přisuzován koncentracím v intervalu 0,1 – 1,0 % (BUŇKOVÁ et al., 2010).

4 MATERIÁL A METODIKA

V rámci experimentální části bakalářské práce byla provedena mikrobiologická analýza různě skladovaných vzorků tavených sýrů.

4.1 Charakteristika materiálu

Vzorek č. 1: Čerstvé Apetito lahodně smetanové

Složení: sýry, mléko obnovené odstředěné, voda, máslo, smetana (7 %), mléčné bílkoviny, tavící soli (E 331, E 452, E 339), stabilizátory (modifikovaný škrob, karagenan), jedlá sůl, regulátor kyselosti (kyselina citronová), smetanové aroma. Sušina: 33,5 %, tuk v sušině: 49 %.

Datum trvanlivosti: 27. 6. 2017

Výrobce: Savencia Fromage and Dairy Czech Republic a, s.

Vzorek byl zakoupen v den rozboru 9. 2. 2017 v obchodě TESCO v Brně.



Obr. 1. Apetito lahodně smetanové (Zdroj: www.kolonial.cz, 2017)

Vzorek č. 2: Apetito lahodně smetanové skladované od 7. 10. 2016 do 9. 2. 2017 při pokojové teplotě 21, 5 °C

Datum trvanlivosti: 5. 3. 2017

Zakoupeno 7. 10. 2016 v obchodě Brněnka v Brně.

Vzorek č. 3: Apetito lahodně smetanové skladované od 7. 10. 2016 do 9. 2. 2017 při chladničkové teplotě 8, 3 °C

Datum trvanlivosti: 5. 3. 2017

Zakoupeno 7. 10. 2016 v obchodě Brněnka v Brně.

Vzorek č. 4: Čerstvé Smetanito se šunkou

Složení: Obnovené odtučněné mléko, sýry, smetana (7 %), koncentrát mléčných bílkovin, vepřová šunka (3,9 %), (vepřové maso, pitná voda, jedlá sůl, konzervační látka E250, dextróza, stabilizátor: E451, zahušťovadlo: E407, antioxidant: E301), tavicí soli: E452, E331, máslo, aroma (obsahuje zvýrazňovač chuti E621), kouřové aroma, regulátor kyselosti: kyselina citronová. Sušina: 31 %, tuk v sušině: 30 %.

Výrobce: Bel Sýry Česko a.s.

Datum trvanlivosti: 3. 7. 2017

Vzorek byl zakoupen v den rozboru 9. 2. 2017 v obchodě Brněnka v Brně.



Obr. 2. Smetanito se šunkou (Zdroj: <http://www.belsyry.cz>, 2017)

Vzorek č. 5: Smetanito se šunkou skladované od 7. 10. 2016 do 9. 2. 2017 při pokojové teplotě 21,5 °C

Datum trvanlivosti: 28. 2. 2017

Vzorek byl zakoupen 7. 10. 2016 v obchodě Brněnka v Brně.

Vzorek č. 6: Smetanito se šunkou skladované od 7. 10. 2016 do 9. 2. 2017 v chladničce při teplotě 8,3 °C

Datum trvanlivosti: 28. 2. 2017

Vzorek byl zakoupen 7. 10. 2016 v obchodě Brněnka v Brně.

4.2 Příprava laboratorních pomůcek

Laboratorní sklo používané při rozbořech bylo sterilizováno v horkovzdušném sterilizátoru při 165 °C po dobu 60 minut. Erlenmayovy baňky s živnými půdami a zkumavky s fyziologickým roztokem byly sterilizovány v parním sterilizátoru při 121 °C 20 minut. Byly také použity jednorázové Petriho misky.

4.3 Složení a příprava živných půd

CHLORAMPHENICOL GLUCOSE AGAR (BIOKAR DIAGNOSTICS, FRANCIE)

Živná půda pro stanovení kvasinek a plísní.

Příprava:

Navážka 40,1 g dehydratované půdy se rozpustí v 1 litru destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Konečné pH se upraví na $6,6 \pm 0,2$ při 25 °C. Půda se sterilizuje v autoklávu 15 minut při 121 °C.

Složení živné půdy:

Kvasniční extrakt	5,0 g
Glukóza	20,0 g
Chloramfenikol	0,1 g
Bakteriologický agar	15,0 g
Destilovaná voda	1000 ml

Inkubujeme v termostatu při teplotě 25 °C 120 hodin.

COMPASS ENTEROCOCCUS AGAR (BIOKAR DIAGNOSTICS, FRANCIE)

Živná půda pro stanovení bakterií z rodu Enterococcus.

Příprava:

Navážka 52,9 g sušené půdy se rozpustí v 1 litru destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Konečné pH se upraví na $7,5 \pm 0,2$ při 25 °C. Půda se sterilizuje v autoklávu 15 minut při 121 °C.

Složení půdy:

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

Inkubujeme při teplotě 45 °C 24 hodin.

PLATE COUNT AGAR WITH SKIMMED MILK (BIOKAR DIAGNOSTICS, FRANCIE)

Živná půda pro stanovení CPM a termorezistentních mikroorganismů.

Příprava:

Navážka 21,5 g sušené půdy se rozpustí v 1 litru destilované vody a zahřívá se do úplného rozpuštění. Konečné pH je $7,0 \pm 0,2$ při 25 °C. Půda se sterilizuje v autoklávu 15 minut při 121 °C.

Složení živné půdy:

Trypton	5,0 g
Kvasniční extrakt	2,5 g
Glukóza	1,0 g
Sušené mléko	1,0 g
Bakteriologický agar	12,0 g
Destilovaná voda	1000 ml

Kultivace CPM probíhá při 30 °C 72 hodin.

Stanovení termorezistentních mikroorganismů probíhá po předchozím tepelném ošetření (85 °C 10 minut) při 30 °C 48 hodin.

4.4 Úprava vzorku

Navážka 10 g taveného sýra byla smíchána s 90 ml fyziologického roztoku a homogenizována v homogenizátoru typu STOMACHER po dobu 1 minuty. Následně bylo připraveno desetinné ředění. 1 ml příslušného desetinného ředění se očkovoal do sterilních Petriho misek.

Inokulum se v Petriho miskách zalilo agarovou půdou vychlazenou na 45 °C, důkladně promíchalo krouživým pohybem a ponechalo ztuhnout na vodorovné ploše. Po úplném ztuhnutí se Petriho misky obrátily, aby nestékaly kondenzované páry na povrch půdy. Takto se nechaly inkubovat v termostatu při daném čase a teplotě. Po uplynutí doby inkubace byly spočítány jednotlivé typické narostlé kolonie.

4.5 Vyjádření mikroorganismů

Po ukončení doby inkubace, na Petriho miskách byly spočítány narostlé typické kolonie mikroorganismů. Výsledky počtů mikroorganismů byly přepočteny pomocí rovnice, která je uvedena níže a uvedeny v KTJ/g sýra:

$$N = \frac{\Sigma C}{(n_1 + 0,1 \cdot n_2) \cdot d}$$

ΣC je součet kolonií spočítaných na Petriho miskách

n_1 je počet Petriho misek použitých z prvního ředění

n_2 je počet Petriho misek použitých z druhého ředění

d je faktor prvního pro výpočet použitého ředění

5 VÝSLEDKY A DISKUSE

Mikrobiologická analýza v praktické části bakalářské práce měla za cíl stanovit mikrobiální osídlení různě skladovaných vzorků ochucených a neochucených tavených sýrů. Vzorky byly zakoupeny v obchodní síti a stanovení proběhlo vždy ve dvou opakováních. Čerstvé vzorky byly zakoupeny v den rozboru. Skladování sýrů proběhlo v období od 7. 10. 2016 do 9. 2. 2017 při 21,5 °C a 8,3 °C.

Výsledné počty sledovaných skupin mikroorganismů jsou uvedeny jako průměrné hodnoty ze dvou opakování stanovení v KTJ na 1 gram vzorku.

Tabulka č. 1. Počty významných skupin mikroorganismů ve vzorcích analyzovaných tavených sýrů skladovaných při různých teplotách.

Vzorek č.	Identifikace	CPM	Ent	TAB	Kv / Pl
1	Apetito čerstvé	2	ND	$3,1 \cdot 10^2$	43
2	Apetito skladované při 21,5 °C	$3,5 \cdot 10^2$	ND	ND	$1,9 \cdot 10^2$
3	Apetito skladované při 8,3 °C	$2,6 \cdot 10^2$	ND	$1,8 \cdot 10^2$	88
4	Čerstvé Smetanio se šunkou	$2,8 \cdot 10^2$	ND	$3,8 \cdot 10^2$	ND
5	Smetanito se šunkou skladované při teplotě 21,5 °C	$6,1 \cdot 10^2$	ND	$4,3 \cdot 10^2$	$2,6 \cdot 10^2$
6	Smetanito se šunkou skladované při teplotě 8,3 °C	$3,5 \cdot 10^2$	ND	$1,8 \cdot 10^2$	80

Vysvětlení zkratk:

CPMCelkový počet mikroorganismů

ENTEnterokoky

TAB.....Termorezistentní aerobní bakterie

Kv / Pl.....Kvasinky a plísně

NDNedetekováno

Z výsledků je patrné, že v tavených sýrech byly zjištěny relativně nízké počty kontaminujících mikroorganismů.

Důležitým ukazatelem hygieny při výrobě a skladování potravin je celkový počet mikroorganismů (CPM), který v sobě zahrnuje mezofilní aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy, tedy nejen bakterie, ale i mikroskopické houby (kvasinky a plísně) schopné růst za stanovovaných podmínek při 30 °C (KUCHTÍK et al., 2015). U tavených sýrů to platí pouze částečně vzhledem k tomu, že hlavní surovinou pro výrobu tavených sýrů jsou sýry obsahující kulturní mikroflóru. Přestože jsou tavené sýry při výrobě vystaveny působení vyšších teplot, část mikroorganismů může tyto teploty přežít. V námi analyzovaných vzorcích sýrů byly zjištěny CPM v množství řádově 10^2 KTJ/ g, tedy relativně nízké. U sýrů skladovaných při pokojové teplotě 21, 5 °C byly zjištěny o málo vyšší hodnoty. Příčinou vyšších CPM u sýrů takto skladovaných je právě vyšší teplota umožňující rozvoj mikroorganismů. Další příčinou může být u ochucených sýrů právě vlastní ochucující složka, která může být zdrojem další mikrobiální kontaminace.

Významnou složku mikroflóry tavených sýrů, tvořili termorezistentní aerobní bakterie. Jejich počty se pohybovaly rovněž řádově okolo 10^2 KTJ/ g, s výjimkou sýrů Smetanito ochucené (Šunka) skladovaných při 21,5 °C, kde nebyly tyto bakterie detekovány. Nejvyšší počty $4,3 \cdot 10^2$ KTJ/ g byly zjištěny u vzorku Apetita skladovaného při 21,5 °C. Z hlediska tavených sýrů mezi významné kontaminující termorezistentní bakterie, patří sporolující rody *Bacillus* a *Clostridium* (ŠILHÁNKOVÁ, 2002). Ty mohou kontaminovat základní složku pro výrobu tavených sýrů, což je přírodní sýr. *Clostridium butyricum* a *C. tyrobutyricum* způsobují pozdní duření sýrů. Ve výrobě tavených sýrů se nedoporučuje přidávat do směsi na tavení více než 15 % takových sýrů. *Clostridium sporogenes*, které může kontaminovat tavené sýry při použití ochucujících složek, vytváří v tavených sýrech bílá hnilobná místa, která doprovází hnilobný zápach (GÖRNER, VALÍK, 2004). Výskyt termorezistentních bakterií u vzorků skladovaných v chladničce, může být vysvětlen přítomností psychotrofních mikroorganismů, které mohou růst i chladničkových teplotách. *Bacillus cereus* je schopen růstu v rozmezí teplot od 4 do 37 °C. Jeho vegetativní buňky jsou zničeny pasterací, avšak spory jsou schopny přežít teplotní záhřev (FERNANDES, 2009). Podle nařízení rady ES č. 2073/2005, ČSN 56 9609 o mikrobiologických kritériích potravin, je pro *Bacillus cereus* a *Clostridium perfringens* nejvyšší mezní hodnota v potravinách 10^4 na g (ml).

V tavených sýrech byla zjištěna také přítomnost mikroskopických hub. Jejich počty se

pohybovaly v rozmezí od desítek po 10^2 KTJ/ g s výjimkou vzorku Apetito čerstvé u nějž tyto mikroorganismy nebyly detekovány. Tavené sýry jsou náchylné ke kontaminaci plísněmi, které jsou schopny růst i při chladírenských teplotách v prostředí s atmosférou obsahující nižší koncentraci kyslíku (BUŇKA et al., 2009). Na zhoršení jakosti tavených sýrů se podílejí nejčastěji zástupci rodu *Penicillium* a to *P. commune*, *P. roqueforti* a další. Kvasinky mohou v tavených sýrech vytvářet různé skvrny, popř. změny chuti a vůně (BUŇKA et al., 2010). Přípustné množství mikroskopických hub v potravinách určených k přímé spotřebě je uvedeno v Tabulce č. 2.

Tabulka č. 2. Maximální přípustné hodnoty kvasinek a plísní v potravinách podle nařízení rady ES č. 2073/2005, ČSN 56 9609 o mikrobiologických kritériích potravin.

Mikroorganismus	Nejvyšší mezní hodnota na g (ml)
Kvasinky	10^7
Plísně	růst plísní viditelný pouhým okem

Enterokoky jako bakterie mléčného kvašení, které jsou do značné míry termorezistentní a bývají častou složkou mikroflóry sýrů, nebyly v námi analyzovaných tavených sýrech detekovány.

Přípustné množství dalších vybraných mikroorganismů v potravinách určených k přímé spotřebě je uvedeno v Tabulce č. 3.

Tabulka č. 3. Maximální přípustné hodnoty dalších vybraných mikroorganismů v potravinách podle nařízení rady ES č. 2073/2005, ČSN 56 9609 o mikrobiologických kritériích potravin.

Mikroorganismus	Nejvyšší mezní hodnota na g (ml)
<i>Escherichia coli</i>	10^4
<i>Listeria monocytogenes</i>	negat/ 25
<i>Salmonella ssp.</i>	negat/ 25
Koagulázopozitivní stafylokoky	10^2

6 ZÁVĚR

Tavené sýry zpestřují lidem jídelníček více než sto let. Vyrábějí se z jednoho či více druhů přírodních sýrů tavením za působení vysokých teplot a přídavku tavících solí.

Pro výrobu tavených sýrů je nejen důležité dodržovat správnou volbu surovin a technologických postupů při výrobě, ale také dodržovat správné hygienické zásady. Při jejich nedodržení může dojít ke kontaminaci. Ačkoliv se předpokládá, že vysoké tavící teploty zničí vegetativní formy mikroorganismů, přesto se do tavených sýrů mohou dostat mikroorganismy, které mohou být původci různých onemocnění. Mezi nejčastější kontaminanty tavených sýrů patří bakterie tvořící spory rodu *Clostridium* a *Bacillus*. Při dodržování pravidel výběru kvalitní nekontaminované suroviny a pravidel správné hygienické praxe ve výrobě i skladování, je celkově možno říci, že tavený sýr je z mikrobiologického hlediska pro spotřebitele bezpečnou potravinou (BUŇKA et al., 2010). Většina výrobků pro český trh je vyrobena v modernizovaných továrnách východoevropského regionu (ČR: Želetava, Jaroměřice, Moravské Budějovice, SR: Michalovce, PL: Chorzele), část výrobků je dovážena z Holandska a Francie. Všechny továrny odpovídají celosvětovým standardům kvality a jsou certifikovány normou ISO 9001/2000. Standardy kvality jsou schváleny pro výrobu a distribuci v rámci zemí EU (KOPÁČEK, LIKLER, 2010).

Při experimentální analýze vzorků různě skladovaných tavených sýrů byly zjištěny relativně nízké počty kontaminujících mikroorganismů. Vyšší počty mikroorganismů vykazovaly vzorky skladované při teplotě 21,5 °C, kde příčinou vyššího počtů mikroorganismů je právě skladovací teplota umožňující jejich rozvoj. Další příčinou mohla být u ochucených sýrů vlastní ochucující složka, která mohla být zdrojem další mikrobiální kontaminace.

7 PŘEHLED LITERATURY

ATLAS, R. M., 2006: *Handbook of microbiological media for the examination of food*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC/Taylor & Francis. ISBN 978-1-4200-0298-0.

ANJUM, M. F., THOMSON, N. K., 2000: Characterizing Salmonella Genomes, 58 – 79. In: BARROW, P. A., MEITHNER, U., 2013: *Salmonella in domestic animals*. 2nd ed. Wallingford: CABI. ISBN 978-1-84593-902-1.

BLACK, J. G., 2013: *Microbiology*. 8. ed., internat. student version. Hoboken, NJ: Wiley. ISBN 978-0-470-64621-2.

BUŇKA, F., BUŇKOVÁ, L., KRÁČMAR, S., 2009: *Základní principy výroby tavených sýrů: Basic principles of processed cheese production*. Folia Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně: edice původních vědeckých prací a monografií. ISSN 1803-2109; roč. 2, č. 6, 2009. ISBN 978-80-7375-336-8.

BUŇKA, F., ČERNÍKOVÁ, M., HLADKÁ, K., BUŇKOVÁ, L., 2010: *Základní charakteristika tavených sýrů a jejich analogů*, Potravinářská revue, č. 6, str. 29 – 32.

BUŇKOVÁ, L., BUŇKA, F., DOLEŽÁLKOVÁ, I., 2010: *Faktory ovlivňující mikroflóru tavených sýrů*, Mlékařské listy, č. 126, str. 8 – 12.

CALLEC, Ch., 2002: *Encyklopedie sýrů*. Čestlice: Rebo Productions. ISBN 80-7234-225-8.

CEMPÍRKOVÁ, R., LUKÁŠOVÁ, J., HEJLOVÁ, Š., 1997: *Mikrobiologie potravin*. České Budějovice: Jihočeská univerzita. ISBN 80-7040-254-7.

DOLEŽÁLKOVÁ, I., BUŇKOVÁ, L., JANEČKOVÁ, K., NAVRÁTIL, J., GERGELA, D., JANIŠ, R., 2011: *Růst sporulujících bakterií v tavených sýrech o různém obsahu tuku a přítomnosti monoacylglycerolu kyseliny undekanové*, Mlékařské listy, č. 128, str. 21 - 24.

FERNANDES, R., 2009: *Microbiology handbook: dairy products*. Leatherhead: Leatherhead Publishing. ISBN 978-1-905224-62-3.

GAJDŮŠEK, S., 1998: *Mlékařství. II*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 80-7157-342-6.

GÖRNER, F., VALÍK, L., 2004: *Aplikovaná mikrobiológia potravín*. Bratislava: Vydavateľstvo Malé centrum. ISBN 80-967064-9-7, 528.

HLADKÁ K., RANDULOVÁ, Z., TREMLOVÁ, B., MANČÍK, P., ČESNÍKOVÁ, M., BUŇKA, F., 2011: *Pevnost tavených sýrů vyrobených bez tradičních tavicích solí*, Mlékařské listy, č. 126, str. 1 – 3.

JIČÍNSKÁ, E., HAVLOVÁ, J., 1995: *Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích*. 1. vyd. ISBN 80-85120-47-X.

KADLEC, P., MELZUCH, K., VOLDŘICH, M., 2012: *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing. ISBN 978-80-7418-145-0.

KERESTEŠ, J., 2016: *Mlieko vo výžive ľudí*. Bratislava: CAD Press. ISBN 978-80-88969-72-3.

KLABAN, V., 2011: *Ekologie mikroorganismů: ilustrovaný lexikon biologie, ekologie a patogenity mikroorganismů*. Praha: Galén. ISBN 978-80-7262-770-7.

KOMPRDA, T., 2004: *Obecná hygiena potravin*. Brno: MZLU. ISBN 80-7157-757-X.

KOPÁČEK, J., LIKLER, L., 2010: *TAVENÉ SÝRY – švýcarský vynález, ale tak trochu český fenomén*, Potravinářská revue., č. 6, str. 33 – 41.

KUCHTÍK J., ŠUSTOVÁ, K., KALHOTKA, L., PAVLATA, L., 2015: *Celkový počet mikroorganismů a počet somatických buněk v kozím mléce a jejich korelace*, Mlékařské listy, č. 152, str. 19 – 25.

KUNOVÁ, G., SEDLAŘÍK, V., KLIMEŠOVÁ, M., RAŠKOVÁ, Z., HYRŠLOVÁ, I., ŠALAKOVÁ, A., DRÁB, V., 2014: *Využití syrovátky jako růstového média pro nisin produkční kmeny laktokoků*, Mlékařské listy, č. 146, str. 1 – 4.

KUSSY, D., AYLWARD, E., 2009: Pasteurize Process Cheese, 387 – 402. In: CLARK, S., COSTELLO, M., DRAKE, M., BODYFELT, F.: *The sensory evaluation of dairy products*. 2nd ed. New York, NY: Springer, c2009. ISBN 978-0-387-77406-0.

KYZLINK, V., 1988: *Teoretické základy konzervace potravin: celostátní vysokoškolská učebnice pro studenty vysoké školy chemickotechnologické, skupiny studijních oborů č. 29-24-8 Konzervace potravin a technologie masa*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury.

LEDOUX, D. R., ROTTINGHAUS, G. E., 1999: In vitro and in vitro testing of adsorbent for detoxifying mycotoxins in contaminated feedstuffs, 369 – 379. In: LYONS, T. P., JACQUES, K. A.: *Biotechnology in the feed industry*. Nottingham: Nottingham University Press. ISBN 1-897676-700.

MADIGAN, M. T., BROCK, T. D., 2008: *Brock biology of microorganisms*. 12. ed., internat. ed. San Francisco [u. a.]: Pearson/ Benjamin Cummings. ISBN 0-321-53615-0.

MALÍŘ, F., OSTRÝ, V., 2003: *Vláknité mikromycety (plísně), mykotoxiny a zdraví člověka*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů. ISBN 80-7013-395-3.

PAVELKA, A., 1996: *Mléčné výrobky pro vaše zdraví*. Brno: Litera. ISBN 80-85763-09-5.

PUDIL, F., UVÍRA, R., VÁCLAV, J., 2007: Houbové aroma v tavených sýrech, 217 – 220. In: ŠKRTINA, J., ČURDA, L.: *Celostátní přehledky sýrů: výsledky přehlídek a sborník přednášek semináře Mléko a sýry*. Praha: Ústav technologie mléka a tuků VŠCHT Praha Českomoravský svaz mlékárenský a Odborná skupina pro potravinářskou a agrikulturní chemii, 2007.

NIKOLAOS, R., S., BUŇKA, F., ČERNÍKOVÁ, H., NAGYOVÁ, G., KUCHAR, D., BOČOVÁ, H., MYNARČÍKOVÁ, L., 2014: Ternární směsi tavicích solí obsahující citran sodný a jejich vliv na tvrdost modelových tavených sýrů, 83 – 90. In: ŠKRTINA, J., ČURDA, L.: *Celostátní přehlídka sýrů: výsledky přehlídek a sborník přednášek semináře Mléko a sýry*. Praha: Ústav technologie mléka a tuků VŠCHT Praha Českomoravský svaz mlékárenský a Odborná skupina pro potravinářskou a agrikulturní chemii, 2014. ISBN 978-80-7080-909-9.

SCHINDLER, J., 2014: *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-4771-2.

ŠUSTOVÁ, K., SÝKORA, V., 2011: *Mlékárenské technologie*. Brno: Mendelova univerzita v Brně. ISBN 978-80-7375-704-5.

ŠILHÁNKOVÁ L., 2002: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. vyd. Praha: ACADEMIA. ISBN 80-200-1024-6.

SAMKOVÁ, E., 2012: *Mléko: produkce a kvalita: Milk: production and quality*. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta. ISBN 978-80-7394-383-7.

TAMIME, A. Y., 2011: Processed cheese and analogues: An overview, str. 1 – 14. In: TAMIME, A. Y., 2011: *Processed cheese and analogues*. Ames: Wiley-Blackwell. ISBN 978-1-4051-8642-1.

TAMIME, A. Y., MUIR, D. D., WSZOLEK, M., DOMAGALA, J., METZGER, L., KNEIFEL, W., DÜRRSCHMID, K., DOMIG, J. K., HILL, A., SMITH, A., GUINEE, T. P., AUTY E. A. M., 2011: Quality control in processed cheese manufacture, str. 249 - 339. In: TAMIME, A. Y., 2011: *Processed cheese and analogues*. Ames: Wiley - Blackwell. ISBN 978-1-4051-8642-1.

VELÍŠEK, J., 2002: *Chemie potravin*. 1. Vyd. 2., upr. Tábor: OSSIS. ISBN 80-86659-00-3.

VLKOVÁ, E., RADA, V., KILLER, J., 2009: *Potravinářská mikrobiologie*. 2. vyd. V Praze: Česká zemědělská univerzita. ISBN 978-80-213-1988-2.

WALSTRA, P., WOUTERS T. M. J., GEURTS. J. T., 2006: *Dairy science and technology*. 2nd ed. Boca Raton: CRC/Taylor & Francis. ISBN 978-0-8247-2763-5.

Právní předpisy:

Nařízení rady ES č. 2073/2005, ČSN 56 9609 o mikrobiologických kritériích potravin.

Vyhláška ministerstva zemědělství č.77/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje.

8 SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ

8.1 Obrázky

Obr. 1. Apetito lahodně smetanové (Zdroj: www.kolonial.cz, 2017)

Obr. 2. Smetanito se šunkou (Zdroj: <http://www.belsyry.cz>, 2017)

8.2 Tabulky

Tabulka č. 1. Počty významných skupin mikroorganismů ve vzorcích analyzovaných tavených sýrů skladovaných při různých teplotách.

Tabulka č. 2. Maximální přípustné hodnoty dalších vybraných mikroorganismů v potravinách podle nařízení rady ES č. 2073/2005, ČSN 56 9609 o mikrobiologických kritériích potravin.