

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



**Využití táhlovitých kmenů bakterií mléčného kvašení
při výrobě sýrů**

Bakalářská práce

Autor práce: Magdalena Kráčmarová

Vedoucí práce: Ing. Miroslava Potůčková

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Využití táhlovitých kmenů bakterií mléčného kvašení při výrobě sýrů" jsem vypracovala 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 autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 17. 4. 2015

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Miroslavě Potůčkové, za cenné rady a trpělivost při konzultacích k mé bakalářské práci.

Využití táhlovitých kmenů bakterií mléčného kvašení při výrobě sýrů

Souhrn

Tato bakalářská práce se zabývá možnostmi využití kmenů bakterií mléčného kvašení schopných produkovat exopolysacharidy v sýrařství. Kultury bakterií mléčného kvašení jsou v mlékárenské technologii aplikovány při výrobě kysaných mléčných produktů a sýrů. Někteří zástupci jsou schopni syntetizovat takzvané exopolysacharidy (polysacharidy exkretované do živného prostředí), které mohou mít schopnost pozitivně ovlivňovat vlastnosti mléčných výrobků, a to zejména sensorické a funkční. Dle chemické struktury, tedy podle monosacharidů, z nichž jsou složeny, jsou exopolysacharidy děleny na homopolysacharidy a heteropolysacharidy. Exopolysacharidy produkující kmeny bakterií mléčného kvašení byly například využity při výrobě sýrů čedar a mozzarella, ale také v méně známých sýrech kariech, kasar nebo caciotta. Bylo zjištěno, že aplikace těchto kmenů zlepšuje sensorické a funkční vlastnosti. To se týká zejména nízkotučných variant produktů.

Praktická část práce byla zaměřena na využití kmenů bakterií mléčného kvašení produkujících exopolysacharidy při výrobě nízkotučného čerstvého sýru. Byly vyrobeny 3 vzorky nízkotučného čerstvého sýru za použití následujících mlékařských kultur: smetanová kultura neprodukuje exopolysacharidy (vzorek 350), kultury exopolysacharidy produkující (vzorky 767, 144). Jako Standardu bylo použito čerstvého sýru vyrobeného z nestandardizovaného mléka, jež bylo předkysáno smetanovou kulturou neprodukující exopolysacharidy. Vyrobené sýry byly charakterizovány obsahem sušiny, výtěžností, tavitelností a sensorickým profilem. Bylo zjištěno, že přidavkem kultury produkující exopolysacharidy došlo ke zvýšení obsahu sušiny ($p > 0,05$), výtěžnosti a tavitelnosti. Produkty obsahující exopolysacharidy byly také méně tuhé, gumovité a přilnavější. Bohužel však měly horší chuť a vůni, protože k jejich výrobě nebylo použito smetanové kultury, jež je pro tento druh sýrů typická.

Klíčová slova: exopolysacharidy, bakterie mléčného kvašení, sýr, tavitelnost, sensorická analýza

The application of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria strains in the cheese processing

Summary

This bachelor thesis is focused on applications possibilities of lactic acid bacteria strains which are able to produce exopolysaccharides in cheesemaking. Lactic acid bacteria dairy starters are applied in dairy technology for production of fermented dairy products and cheese. Some strains are able to synthesize exopolysaccharides (polysaccharides which are excreted into the medium) which could positively influence properties of dairy products especially sensory and functional. Exopolysaccharides are divided according to the chemical structure (monosaccharides from which they are composed) into homopolysaccharides and heteropolysaccharides. Exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria strains were used for example for the production of cheddar and mozzarella cheese and also for less known cheese as kariech, kasar and caciotta. It was observed that application of these strains improved sensory and functional properties especially of low-fat variants of cheese.

Experimental part of this thesis was focused on application of lactic acid bacteria strains producing exopolysaccharides for production of low-fat fresh cheese. 3 samples of low-fat fresh cheeses were manufactured using following dairy starters: mesophilic culture which is not able to produce exopolysaccharides (sample 350), cultures which are able to produce exopolysaccharides (samples 767, 144). Standard was fresh cheese made from not standardized milk and mesophilic culture which is not able to produce exopolysaccharides. These products were characterized by the content of dry matter, yield, meltability and sensory profile. It was recorded that the addition of cultures producing exopolysaccharides led to higher content of dry matter ($p > 0.05$), yield and meltability. Cheese containing exopolysaccharides were also softer and had lower gumminess and higher adhesiveness. Unfortunately, they had worse taste and smell because for their production was not used mesophilic culture which is typical for this kind of cheese.

Keywords: exopolysaccharides, lactic acid of bacteria, cheese, meltability, sensory analysis

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Hypotéza a cíl práce.....	9
3	Literární rešerše.....	10
3.1	Bakterie mléčného kvašení.....	10
3.1.1	Druhy bakterií mléčného kvašení.....	10
3.2	Charakteristika rodů bakterií mléčného kvašení.....	11
3.2.1	Rod <i>Lactococcus</i>	11
3.2.2	Rod <i>Leuconostoc</i>	12
3.2.3	Rod <i>Streptococcus</i>	12
3.2.4	Rod <i>Lactobacillus</i>	12
3.2.5	Rod <i>Bifidobacterium</i>	13
3.3	Metabolismus bakterií mléčného kvašení.....	13
3.4	Exopolysacharidy bakterií mléčného kvašení.....	13
3.4.1	Homopolysacharidy.....	14
3.4.2	Heteropolysacharidy.....	15
3.5	Využití exopolysacharidů bakterií mléčného kvašení.....	16
3.5.1	Funkční vlastnosti exopolysacharidů.....	16
3.5.2	Vliv na texturu výrobku.....	16
3.5.3	Interakce exopolysacharidů s mléčnými bílkovinami.....	17
3.6	Sýry.....	18
3.6.1	Výroba sýrů.....	19
3.6.1.1	Standardizace obsahu tuku a bílkovin.....	19
3.6.1.2	Mechanické ošetření.....	19
3.6.1.3	Tepelné ošetření.....	19
3.6.1.4	Sýrařské kultury.....	19
3.6.1.5	Sýření.....	20
3.6.1.6	Zpracování sýřeniny.....	20
3.7	Uplatnění exopolysacharidů bakterií mléčného kvašení při výrobě sýrů. 20	
3.7.1	Čedar.....	21
3.7.2	Mozzarella.....	22
3.7.3	Kariech.....	24
3.7.4	Kasar.....	25
3.7.5	Caciotta.....	26
4	Materiály a metody.....	28
4.1	Použité materiály.....	28
4.2	Použité přístroje.....	28
4.3	Příprava odtučněného mléka.....	28

4.4	Laboratorní výroba sýrů	28
4.5	Stanovení koagulační aktivity syřidla	29
4.6	Stanovení složení mléka pro výrobu sýrů pomocí FTIR spektroskopie ...	30
4.7	Stanovení obsahu sušiny sýrů	30
4.8	Stanovení výtěžnosti sýrů	30
4.9	Tavitelnost sýrů	31
4.10	Senzorická analýza sýrů	31
4.11	Statistická analýza.....	31
5	Výsledky	32
5.1	Příprava odtučněného mléka	32
5.2	Stanovení sušiny sýrů.....	32
5.3	Výtěžnost sýrů	33
5.4	Tavitelnost sýrů	33
5.5	Senzorická analýza.....	36
6	Diskuze	42
7	Závěr	44
8	Seznam použité literatury.....	45
9	Seznam zkratk	49
10	Přílohy	50
	Příloha 1: Obsah minoritních složek a fyzikálně-chemické parametry nestandardizovaného a odtučněného kravského mléka.	50
	Příloha 1: Formulář pro sensorické hodnocení čerstvého sýru.....	50
10.1	Příloha 2: Obsah minoritních složek a fyzikálně-chemické parametry nestandardizovaného a odtučněného kravského mléka.	50

1 Úvod

Ze syrového mléka lze získat pomocí odlišných technologií široký sortiment mléčných výrobků, které mají různé vlastnosti a mohou dokonce příznivě působit na lidské zdraví. Startovací mlékařské kultury bakterií mléčného kvašení mají řadu důležitých schopností, mezi něž patří mikrobiální čistota, rychlá produkce kyseliny mléčné, modulace textury, tvorba specifické chuti a vůně, a v případě probiotických kmenů i vliv na správnou funkci trávicího traktu. Produkci kyseliny mléčné způsobuje fermentace laktózy během růstu bakterií mléčného kvašení, čímž je zajištěna ochrana jejich živného prostředí (mléka) vůči konkurenčním mikroorganismům, které mohou být patogenní nebo mléko zkazit. Acidifikací také dochází k neutralizaci nábojů na mléčné bílkovině kaseinu, což má za následek její koagulaci. Kyselina mléčná navíc dodává fermentovaným mléčným produktům a sýrům příjemně svěží a jemně kyselou chuť. Bakterie mléčného kvašení jsou také schopny generovat z cukrů, organických kyselin, bílkovin a tuků specifické aromatické složky, které jsou pro daný výrobek typické. Některé kmeny mohou také vylepšit texturu a viskozitu fermentovaných výrobků a sýrů, díky syntéze exopolysacharidů. Navíc bylo zjištěno, že určité exopolysacharidy mají i prebiotické účinky, tudíž by mohly prospívat lidskému zdraví stejně jako vláknina a další prebiotika.

Nevhodná výživa je prevalence obzvy a různých dalších onemocnění. Důsledkem toho narůstá poptávka spotřebitelů po nízkotučných výrobcích včetně sýrů. Přesto je nižší než se očekávalo, pravděpodobně kvůli jejich horším sensorickým vlastnostem. Nízkotučné sýry kvůli absenci tuku působí suše, tvrdě, mají atypickou chuť a horší žvýkatelnost. Z tohoto důvodu je současný výzkum zaměřen právě na exopolysacharidy bakterií mléčného kvašení, které by mohly zlepšit organoleptické vlastnosti odtučněných sýrů a tím nepřímo snížit vysokou spotřebu živočišných tuků.

2 Hypotéza a cíl práce

Hypotézou je, že využití kmenů bakterií mléčného kvašení produkujících exopolysacharidy zlepšuje sensorické, texturní, reologické a nutriční parametry sýrů, zejména nízkotučných.

Cílem bakalářské práce je v teoretické části zpracování literární rešerše shrnující současné poznatky o bakteriích mléčného kvašení schopných produkce exopolysacharidů a zkušenosti s jejich využitím při výrobě sýrů. V praktické části pak bude provedena výroba čerstvých sýrů z plnotučného a odstředěného mléka tradičním způsobem a výroba čerstvých sýrů z odstředěného mléka s využitím táhlovitých mlékařských kultur. U získaných produktů bude následně provedeno hodnocení chuťových a texturních atributů sensorickou analýzou.

3 Literární rešerše

3.1 Bakterie mléčného kvašení

Bakterie mléčného kvašení (BMK) se vyskytují především v mléce a fermentovaných mléčných produktech. Jedná se o skupinu Gram pozitivních (G^+) bakterií, které vykazují určité shodné morfologické, fyziologické a metabolické znaky. BMK jsou nesporeující, anaerobní až mikrofilní, koky nebo tyčinky (Dekker, 2005).

BMK našly široké uplatnění v potravinářství díky svým vlastnostem, které mohou pozitivně ovlivnit senzoryckou kvalitu, nutriční hodnotu, mikrobiální nezávadnost a trvanlivost vysoké škály výrobků jako jsou například mléčné, masné nebo zeleninové produkty. Právě mléčná fermentace patří k historicky nejstarším a nejlépe popsaným procesům úpravy potravinářských a krmivářských surovin (Ruas-Madiedo et al., 2002).

V potravinářském průmyslu našly uplatnění zejména následující rody BMK: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus* a *Weissella*. Rod *Bifidobacterium* je sice fylogeneticky rozdílný, ale s BMK má podobné biochemické a fyziologické vlastnosti (Španová et al., 2009).

3.1.1 Druhy bakterií mléčného kvašení

Z biochemického hlediska se BMK dělí na homofermentativní a heterofermentativní. Mezi homofermentativní kmeny patří především laktobacily a koky (např. rod *Streptococcus*). Při jejich kvašení vzniká z laktózy pouze mléčná kyselina. U heterofermentativního kvašení produkují bakterie kromě kyseliny mléčné, také další látky např. CO_2 a ethanol nebo CO_2 a acetát (Vodrážka, 2002).

Při rozhodování o příbuznosti, různých kmenů bakterií hrají roli střední hodnoty obsahu bází guaninu a cytosinu. Rozdělení BMK podle rodů je uvedeno v tabulce 1 (Vodrážka, 2002).

Tabulka 1: Rozdělení BMK podle rodů 1 (Vodrážka, 2002).

Rod	Typ fermentace	Hlavní produkty
<i>Lactococcus</i>	homofermentativní	laktát
<i>Streptococcus</i>	homofermentativní	laktát
<i>Pediococcus</i>	homofermentativní	laktát
<i>Lactobacillus</i>	homofermentativní	laktát
<i>Thermobacterium</i> ¹	homofermentativní	laktát
<i>Streptobacterium</i> ¹	homofermentativní	laktát
<i>Leuconostoc</i>	heterofermentativní	laktát:acetát:CO ₂ 1:1:1
<i>Bifidobacterium</i>	heterofermentativní	laktát:acetát 2:3
<i>Propionibacterium</i>	heterofermentativní	laktát:acetát 1:1
<i>Betabacterium</i>	heterofermentativní	laktát:acetát:CO ₂ 1:1:1

¹ při fermentaci pentóz

3.2 Charakteristika rodů bakterií mléčného kvašení

Mezi nejvyužívanější rody BMK v mlékárenském průmyslu patří *Lactococcus* sp., *Leuconostoc* sp., *Streptococcus* sp., *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp. a *Propionibacterium* sp. (Vodrážka, 2002).

3.2.1 Rod *Lactococcus*

Zástupci rodu *Lactococcus* se řadí mezi G⁺, katalasa negativní bakterie, jsou mikroaerofilní až aerobní. Jejich optimální teplota se pohybuje okolo 10 °C (Madigan et Martinko, 2006; Šilhánková, 2002).

Laktokoky jsou nejstarším rodem BMK používaným v mlékařství v podobě takzvané smetanové nebo mezofilní kultury. V této formě jsou používány při výrobě zakysaných smetan, mléka, podmáslí, tvarohů a sýrů (Gömr, 2004).

Rod *Lactococcus* je taxonomicky řazen mezi streptokoky. K nejznámějším laktokokům patří *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *hordinae*, *Lactococcus raffinolactis*, *Lactococcus garviae* a *Lactococcus plantarum* (Gömr, 2004).

Lactococcus lactis ssp. *cremoris*, česky tzv. smetanový streptokok, se některými vlastnostmi liší od *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*. Vyznačuje se většími buňkami (často tvoří řetízky), má nižší optimální teplotu růstu, tvoří měřitelné množství CO₂ (pokud je pěstován v mléce) a laktózu fermentuje pomaleji (Gömr, 2004).

3.2.2 Rod *Leuconostoc*

Zástupci tohoto rodu jsou G^+ , katalasa negativní mezofilní koky, které se spojují do krátkých řetízků. Jejich vztah ke kyslíku je mikroaerofilní. Na rozdíl od laktokoků je leukonostok méně geneticky a fyziologicky prozkoumán. V mléčářské technologii jsou tyto mikroorganismy pro svůj heterofermentativní způsob kvašení laktózy za vedlejší produkce plynů a aromatických látek využívány při tvorbě typické vůně a chuti některých kysaných mléčných výrobků a sýrů. Jsou součástí aromatické smetanové kultury (Hemme et Foucaud-Scheunemann, 2003; Holland, 2011; Šilhánková, 2002).

3.2.3 Rod *Streptococcus*

Mezi takzvané streptokoky jsou řazeny fakultativně anaerobní, G^+ , katalasa negativní bakterie kulovitého tvaru buněk. Buňky těchto mikroorganismů se často řadí do dvojic, až do řetízků. Pro rod *Streptococcus* je typické diplokokové uspořádání (Votava et al., 2004).

Streptokoky fermentují laktózu za vzniku kyseliny mléčné, ale neprodukují mnoho plynů. Někteří zástupci fermentují také kyseliny, především organické, například kyselinu citronovou, a aminokyseliny, například serin. Jejich optimální teplota se pohybuje okolo 37 °C a nižší (Görrn, 2004; Šilhánková, 2002).

Významným zástupcem rodu *Streptococcus* je *Streptococcus thermophilus*, který se využívá jako startovací kultura v mléčných produktech jako jsou například sýry a jogurty (Šilhánková, 2002).

Zástupci tohoto rodu však mohou být i komenzální, parazitičtí a také saprofytičtí pro lidi a zvířata. Do skupiny streptokoků jsou řazeny nejen příslušníci přirozené mikroflóry sliznic lidí a zvířat, ale také obligátně patogenní druhy, například *Streptococcus salivarius* (Görrn, 2004; Votava et al., 2004).

3.2.4 Rod *Lactobacillus*

Název tohoto rodu je odvozen ze skutečnosti, že většina druhů fermentuje glukózu a laktózu na laktát. Do rodu *Lactobacillus* jsou řazeny také bakterie, které jsou součástí přirozené mikroflóry lidských úst, gastrointestinálního traktu a vagíny např. *Lactobacillus acidophilus* (Madigan et Martinko, 2006; Votava et al., 2004).

Laktobacily jsou robustní nesporulující, G^+ , katalasa negativní bakterie často tvořící řetízky. Jejich vztah ke kyslíku je mikroaerofilní a většina zástupců je schopna růstu okolo 45 °C (Šilhánková, 2002; Votava et al., 2004).

V potravinářství je tento rod tradičně využíván ke konzervaci potravin. Ta je umožněna produkcí kyseliny mléčné, která díky snížení pH potravin, zastavuje množení hnilobných bakterií. V mlékárenství jsou využívány zejména kmeny *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, jež je součástí jogurtové kultury, *Lactobacillus acidophilus* a *Lactobacillus casei* k přípravě acidofilního mléka a dalších probiotických nápojů. K výrobě sýrů jsou využívány kultury rodů *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* a *Lactobacillus helveticus* (Šilhánková, 2002; Votava et al., 2004).

3.2.5 Rod *Bifidobacterium*

Rod *Bifidobacterium* obsahuje G^+ , katalasa negativní a anaerobní buňky nepravidelného tvaru, které nejsou schopny vytvářet spory. Přirozeně se vyskytuje ve flóře dutiny ústní a zažívacího traktu savců, podobně jako aktinomycety. Druh *Bifidobacterium dentium* byl jediný dokázaný jako patogenní pro člověka (Votava et al., 2004).

Bifidobakterie jsou velmi významné v intestinálním traktu kojenců. Díky fermentaci sacharidů produkují kyselinu octovou a mléčnou (v poměru 3:2), které inhibují nežádoucí bakterie a stimulují intestinální peristaltiku. Kyselina octová působí proti Gram negativním (G^-) bakteriím účinněji než kyselina mléčná (Görnr, 2004).

V mlékárenském průmyslu jsou s pomocí bifidobakterií vyráběny probiotické kysané mléčné výrobky, které mají příznivý vliv na složení střevní mikroflóry. Zde se využívají zejména bakterie *Bifidobacterium longum*, které jsou původem z lidského střeva (Görnr, 2004).

3.3 Metabolismus bakterií mléčného kvašení

Fermentace a respirace jsou dva metabolické procesy, při nichž buňka získává energii. Fermentace neboli kvašení je oxidační proces, při němž není uplatňován kyslík. Při fermentaci probíhá předávání elektronů mezi dvěma organickými molekulami. Kyselina pyrohroznová je konečným příjemcem elektronů a je BMK dále přeměňována na kyselinu mléčnou (Votava, 2001).

Při mléčném kvašení dochází ke snížení pH, které zabraňuje rozmnožování nežádoucích bakterií a díky tomu má konzervační účinky (Votava, 2001).

3.4 Exopolysacharidy bakterií mléčného kvašení

Polysacharidy mohou být produkovány bakteriemi, kvasinkami nebo plísněmi. K jejich syntéze však dochází většinou až po růstové fázi mikroorganismu. Můžeme

je rozdělit do tří základních skupin podle jejich umístění v buňce. První skupina se nachází v cytosolu a je zdrojem uhlíku a energie pro buňku. Druhou skupinu tvoří polysacharidy, které jsou součástí buněčné stěny, například lipopolysacharidy nebo peptidoglykany. Do třetí skupiny patří exopolysacharidy (EPS), které jsou vylučovány do extracelulárního prostředí (Donot et al., 2001).

EPS jsou polymerní sacharidické látky tvořené různým počtem stavebních jednotek, jež jsou syntetizovány některými kmeny BMK a exkretovány do jejich živného prostředí. Většina EPS jsou řetězce s kolísající terciální strukturou, nemají tedy pevný tvar (Andrew et al., 2001). Obvyklý rozptyl délky exopolysacharidového řetězce je od disacharidů až po heptasacharidy, tedy od dvou do sedmi základních stavebních jednotek (Ruas-Madiedo et al., 2002).

EPS se mohou vyskytovat v podobě kapslí, které jsou pevně napojeny na buňku a obalují ji, nebo v podobě tzv. slizu, kdy jsou volně uvolňovány do okolního prostředí. Pokud mění konzistenci živného prostředí, jsou označovány jako táhlovité z anglického „ropy“ (Broadbent et al., 2001).

EPS lze z chemického hlediska rozdělit do dvou skupin, na homopolysacharidy (HoPS) a heteropolysacharidy (HePS). Homopolysacharidy obsahují pouze jeden druh monosacharidů, zatímco heteropolysacharidy jsou tvořeny více druhy opakujících se stavebních jednotek (Ruas-Madiedo et al., 2002).

3.4.1 Homopolysacharidy

Extracelulární HoPS mohou být syntetizovány jak uvnitř buňky, tak v buněčné stěně. Syntéza uvnitř buňky probíhá skládáním opakujících se jednotek v cytoplasmatické membráně. Jakmile je jednotka sestavena, je translokována pomocí lipidů přes membránu. Poté může být EPS kovalentně vázán na povrch buňky za vzniku kapsle nebo je uvolňován do prostoru ve formě slizu. K zástupcům této skupiny můžeme řadit například dextran, levan, pullulan nebo curdlan (Broadbent et al., 2003; Donot et al., 2001).

HoPS BMK jsou produkovány například rody *Leuconostoc*, *Streptococcus* nebo *Lactobacillus*.

Molekula dextranu je složena z jednotky glukózy s $\alpha(1-6)$ vazbami a dále se větví vazbami $\alpha(1-2)$ nebo $\alpha(1-3)$. Dextrany jsou syntetizovány G^+ bakteriemi, například rodem *Leuconostoc*, kde je jediný zasahující enzym *D*-glykosyl-transferáza. Jsou využívány zejména ve farmaceutickém průmyslu jako přídavek do léčiv. Mají schopnost zlepšovat jejich stabilitu, například regulovat jejich uvolňování v organismu (Casettari et al., 2014; Donot, 2012).

Levan, složený ze zbytků *D*-fruktózy je též syntetizován vně buňky. Získáván je obvykle fermentací sacharózy bakteriemi *Zymomonas* (*Z. mobilis*) nebo *Bacillus* (*B. subtilis*). Je produkován ale i BMK jako jsou například *Streptococcus salivarius*, *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F nebo *Lactobacillus reuteri* LB121 a *Lactobacillus sanfranciscensis* LTH 2590. Jeho využití je zejména v potravinářství. Levan získávaný z *Lactobacillus sanfranciscensis* LTH 2590 má prebiotické účinky (Donot, 2012; Srikanth et al, 2014).

Pullulan je složen z jednotek glukózy stejně jako dextrans. V jeho struktuře se opakují sekvence trimérů maltotriózy s vazbami α -(1–4)-Glu- α -(1–4)-Glu- α -(1–6). Pullulan je syntetizován v cytosolu a následně vylučován do venkovního prostředí (Donot et al., 2001). Je produkován kmeny *Aureobasidium pullulans*. Díky tomu, že je biologicky odbouratelný, bez zápachu a chuti je využíván jako obalový materiál při výrobě doplňků stravy (Sheng et al., 2014; Singh, 2014).

Curdlan je lineární HoPS tvořený molekulami glukózy spojených β (1–3) glykosidovou vazbou. Je produkován především kmenem *Agrobacterium*. Je používán zejména v kosmetickém, potravinářském a farmaceutickém průmyslu (Donot et al., 2012; Periasamy et al., 2013).

3.4.2 Heteropolysacharidy

HePS BMK jsou většinou produkovány rody *Lactobacillus* a *Streptococcus* (De Vuyst et al., 2001). Jsou složeny z opakujících se podjednotek, které mohou být buď rozvětvené v různých polohách, nebo nerozvětvené. HePS mají oproti HoPS složitější biosyntetickou dráhu. Jejich tvorba může být rozdělena do následujících třech kroků: asimilace jednotlivých cukrů a jejich převedení do nukleotidových derivátů, shromáždění pentasacharidových podjednotek připojených k lipidovým transportérům, polymerace opakujících se jednotek v pentasacharidu a sekrece do extracelulárního prostředí. Jedním z dobře známých zástupců HePS je xanthan, který je produkován *Xanthomonas campestris*. Základní stavební jednotka je složena ze dvou *D*-glukóz, dvou *D*-manóz, a *D*-glukuronové kyseliny. Xanthan obsahuje 2 – 8 opakujících se základních stavebních jednotek (Donot et al., 2001; Kanmani et al, 2011).

Ze studie, která se zabývala produkcí xanthanu, a z další řady studií vyplynulo, že koncentraci EPS výrazně ovlivňují tři faktory: zdroj uhlíku a jeho koncentrace, zdroj dusíku a jeho koncentrace a pH. Pro xanthan je ideálním zdrojem uhlíku glukóza nebo sacharóza, dusíku glutamát a vhodná hodnota pH je mezi 6 a 8 (Donot et al., 2001).

Inulin je sacharid skládající se z jednotek fruktóz spojených $\beta(2-1)$ glykosydovou vazbou. Řada studií prokázala, že je vhodnou náhražkou tuku. Význačný je také díky prebiotickým a biologickým vlastnostem. Bylo prokázáno, že inulin zlepšuje fyziologické pochody, například zvyšuje absorpci vápníku (Meyer et al., 2011; Sołowiej et al., 2015).

3.5 Využití exopolysacharidů bakterií mléčného kvašení

EPS BMK jsou využívány v potravinářství, farmacii i kosmetologii. V potravinářském průmyslu jsou používány díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem zejména jako zahušťovadla, stabilizátory, látky vážící vodu a želírovací látky (Prasanna et al., 2014).

EPS BMK jsou také látkami s potenciálně prebiotickým účinkem. U některých druhů EPS byl prokázán pozitivní vliv na růst a kolonizaci střeva intestinálními kmeny bakterií. EPS, které jsou produkovány rodem *Bifidobacterium* jsou odolné vůči trávení, proto mohou mít pro ně ochrannou funkci při průchodu gastrointestinálním traktem. Tato ochranná vrstva může bifidobakteriím pomoci přežít silně kyselé prostředí žaludku a vysokou koncentraci žluče a žlučových solí, které se nacházejí v horní části tenkého střeva. EPS tak mohou zajistit průchod rodu *Bifidobacterium* celým trávicím traktem, tedy od dutiny ústní po tenké střevo, bez nepříznivých vlivů na jejich životaschopnost (Laws, 2001; Prasanna et al., 2014).

Inulin byl použit jako náhražka tuku v mnoha mléčných produktech zahrnující i sýr. Sołowiej a kol. (2015) uvádí, že může nahradit až 63 % tuku v imitaci sýra. Koca a Metin (2004) se zabývali změnou struktury, senzorických vlastností a tavitelnosti u sýru kasar, při jehož přípravě byla část tuku nahrazena inulinem. Zjistili, že až 70% náhrada tuku může vylepšit strukturu a senzorické vlastnosti produktu (Sołowiej et al., 2015).

3.5.1 Funkční vlastnosti exopolysacharidů

Mezi dvě základní funkční vlastnosti EPS patří viskozita a elasticita. Díky elasticitě je možné obnovení původní struktury hmoty po vzniklé deformaci. Naopak viskozita deformaci předchází. Tato vlastnost může být v rámci fermentovaných výrobků popsána jako slizkost nebo tekutost (Duboc, 2001; Holland, 2001).

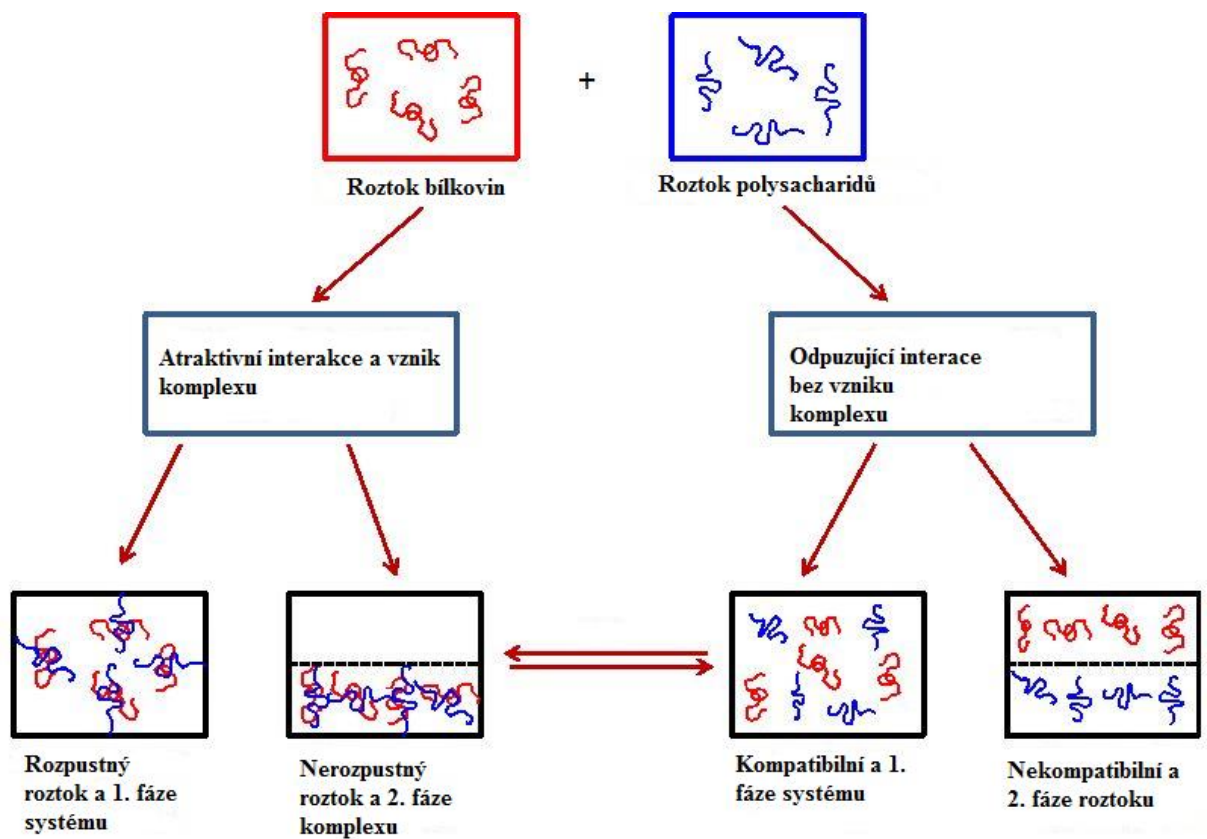
3.5.2 Vliv na texturu výrobku

Produkce EPS mlékárenskými kulturami může vylepšit reologii produktu díky jejich zahušťovací funkci. EPS jsou také schopny vázat vodu a tím omezit vylučování syrovátky.

Díky interakcím EPS s mléčnou bílkovinou (zejména kaseinem) mohou též působit proti přílišné synerezi proteinové sítě (Holland, 2001).

3.5.3 Interakce exopolysacharidů s mléčnými bílkovinami

EPS jsou obecně hydrofilní látky, které zůstávají ve vodné fázi. Díky tomu jsou schopny působit jako zahušťovadla, želírující látky nebo stabilizační činidla. Vznik a stálost komplexu mezi EPS a mléčnými bílkovinami závisí na řadě faktorů, například pH, teplotě a iontové síle roztoku. Pokud je pH sníženo pod izoelektrický bod (pI) bílkoviny, kladný náboj bílkoviny a záporný EPS vytvoří stabilní elektrostatický komplex. Možné způsoby interakcí mezi EPS a mléčnými bílkovinami jsou znázorněny na obrázku 1 (Ghos et Bandyopadh, 2012).



Obrázek 1: Možné způsoby interakcí mezi polysacharidy a proteiny (Ghos et Bandyopadh, 2012).

3.6 Sýry

Sýr je definován jako mléčný výrobek vyrobený vysrážením mléčné bílkoviny z mléka působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel, prokysáním a oddělením podílů syrovátky (Vyhláška 336/2013).

Sýry můžeme dělit podle různých kritérií: podle obsahu vody v tukuprosté hmotě (tabulka 2), tuku v sušině (tabulka 3), a podle zrání (tabulka 4) (Vyhláška č. 336/2013).

Tabulka 2: Klasifikace sýrů podle obsahu vody v tukuprosté hmotě (Vyhláška č. 336/2013).

Sýr	Obsah vody v tukuprosté hmotě [% hm.]	Zástupce
extra tvrdý	< 41	parmazán
tvrdý	49 – 56	ementál
polotvrdý	54 – 63	gouda
poloměkký	61 – 69	brie
měkký	> 67	cottage

Tabulka 3: Klasifikace sýrů podle obsahu tuku v sušině (Vyhláška 336/2013).

Sýr	Obsah tuku v sušině [% hm.]	Zástupce
vysokotučný	≥ 60	lučina
plnotučný	≥ 45	čedar
polotučný	≥ 25	parmazán
nízkotučný	≥ 10	cottage
odtučněný	< 10	olomoucké tvarůžky

Tabulka 4: Klasifikace přírodního sýra podle zrání (Vyhláška 336/2013).

Sýr	Charakteristika
čerstvý	nezrající termizovaný
zrající	na povrchu s mazem na povrchu v celé hmotě
Z toho Plísňový	s plísní na povrchu s plísní uvnitř hmoty sýra dvouplísňový

3.6.1 Výroba sýrů

Základní technologické kroky pro výrobu sýrů jsou shodné pro všechny kategorie. Patří mezi ně: standardizace obsahu tuku a bílkovin, mechanické ošetření, tepelné ošetření, přidání sýrařských kultur, sýření a zpracování sýřeniny (Bylund, 1995; Walstra et al., 2006).

3.6.1.1 Standardizace obsahu tuku a bílkovin

Tuk v sušině je jedním z parametrů, podle něž lze sýry klasifikovat. Během roku v mléce kolísá obsah tuku a bílkovin, z tohoto důvodu musí být poměr mezi nimi standardizován na požadovanou hodnotu finálního výrobku (Bylund, 1995; Walstra et al., 2006).

3.6.1.2 Mechanické ošetření

Mechanické ošetření mléka separuje ze suroviny mikroorganismy na základě jejich velikosti. Toto ošetření tedy nezajistí zdravotní nezávadnost, neboť není selektivní, ale lze ho s výhodou použít pro zvýšení mikrobiální kvality mléka pro výrobu sýrů (Bylund, 1995; Walstra, 2006).

3.6.1.3 Tepelné ošetření

Původní surovinou pro výrobu sýrů bylo syrové mléko. Pokud jsou dnes sýry vyráběny ze syrového mléka, surovina je před zpracováním pouze schlazena, aby nemohlo dojít k množení mikroorganismů přítomných v mléce, které by následně mohly změnit chuť mléka. V případě, že mléko staré minimálně 24 – 28 h nemůže být zpracováno během následujících 12 h, je doporučeno jeho zchlazení na 4 °C nebo termizace. Termizace je mírný ohřev na 65 °C po dobu 15 s následovaný ochlazením mléka na 4 °C. Tímto ošetřením lze prodloužit trvanlivost suroviny, ne však zajistit její zdravotní nezávadnost (Bylund, 1995; Walstra et al., 2006).

Takzvaná HTST pasterace (vysoká teplota, krátká doba) znamená zahřívání na 72 – 74 °C po dobu 15 – 20 s. Toto tepelné ošetření již zajistí zdravotní nezávadnost mléka a je standardně používáno v sýrařství (Bylund, 1995; Walstra et al., 2006).

3.6.1.4 Sýrařské kultury

Základními předpoklady sýření je přidavek startovacích kultur a syřidla. Startovací kultura má zásadní význam při výrobě sýrů. Obsahuje mikroorganismy, které upravují surovinu pro působení syřidla a podílí se na tvorbě typické chuti, vůně, textury a vzhledu

výrobku. Základní kulturou pro výrobu sýrů je kultura mezofilní. Její optimální teplota růstu je 20 – 30 °C. Zástupci této kultury jsou rody *Lactococcus* a *Leuconostoc*. Některé sýrařské kultury jsou schopny produkovat i CO₂. Tyto startéry jsou využívány při výrobě sýrů s tvorbou ok. Jedná se například o *Lactobacillus helveticus*, který je doplňkovou kulturou při výrobě sýrů ementálského typu a *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*, které produkuje kyselinu propionovou, kyselinu octovou a CO₂ (Bylund, 1995).

3.6.1.5 Sýření

Sýření je souhrn reakcí, které v mléce nastávají po přidavku syřidla a vedou ke vzniku kompaktního koagulátu – sýřeniny. Ta je tvořena kaseinovým gelem, jenž vznikl zesílením kaseinových vláken po rozpadu jeho micel. Rozpad micel je způsoben štěpením κ -kaseinu na para- κ -kasein a kaseinomakropeptid účinkem enzymu chymosinu (složka syřidla), který hydrolyzuje vazbu mezi 105. a 106. aminokyselinou κ -kaseinu (Bylund, 1995; Walstra et al., 2006).

3.6.1.6 Zpracování sýřeniny

Zpracování sýřeniny jsou operace, jež následují po vzniku koagulátu a vedou k finálnímu výrobku. Liší se dle typu sýra a obvykle zahrnují procesy krájení sýřeniny, uvolňování syrovátky, formování, solení a zrání (Bylund, 1995; Walstra et al., 2006).

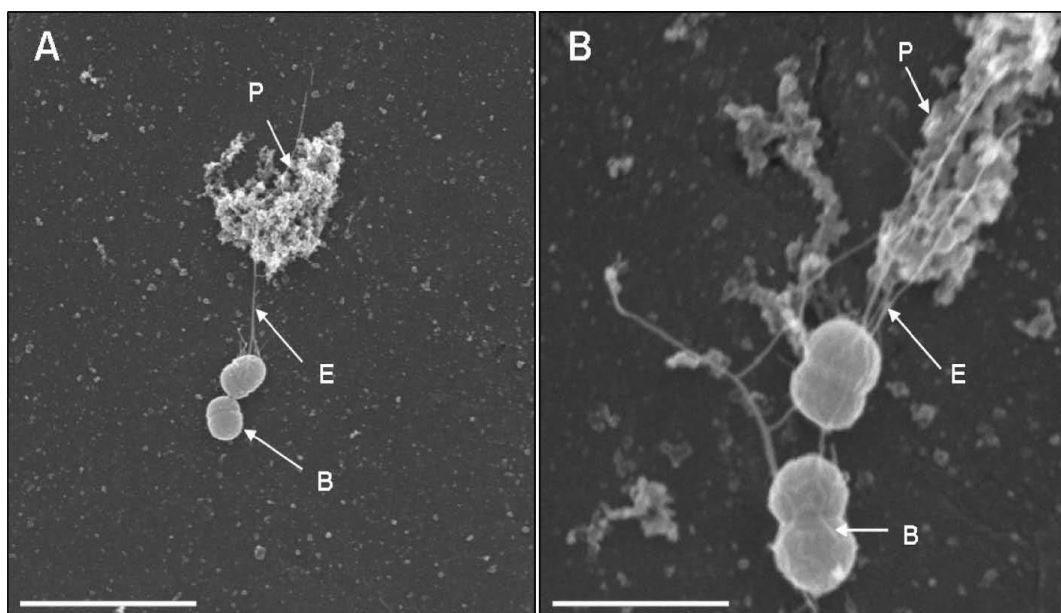
3.7 Uplatnění exopolysacharidů bakterií mléčného kvašení při výrobě sýrů

Sýry s nízkým obsahem tuku mívají často problémy s reologickými, texturními a sensorickými parametry.

Obsah tuku je velmi důležitý pro vnímání chutnosti sýra. Tuk je jednak komponenta, jež tvoří výplň kaseinového gelu a zabraňuje jeho přílišné synerezi a odloučení syrovátky, a je také rezervoárem aromatických látek. Proto je znatelný rozdíl mezi organoleptickými vlastnostmi plnotučných a nízkotučných výrobků, neboť většina sensoricky aktivních složek je lipofilní. Právě EPS byly díky svým vlastnostem navrženy jako in vivo produkovaná aditiva zlepšující reologii, texturu a sensorické aspekty sýrů (Costa et al., 2010).

Bylo zjištěno, že EPS dokáží zadržovat vodu, a tím v podstatě nahrazují přítomnost tukových kuliček, kterých je v odtučněných sýrech menší množství. Pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM) je na obrázku 2 viditelné propojení bakterie a proteinu pomocí EPS řetězce. Tímto propojením vzniká takzvaný bílkovinný matrix. Z tohoto důvodu

je řada studií zaměřena na aplikaci exopolysacharidy produkujících (EPS⁺) kultur při výrobě sýrů (Ayala-Hernandez et al, 2008; Di Cagno et al., 2014).



Obrázek 2: Mikroskopická analýza interakcí mezi EPS a mléčnými proteiny. Úsečka na obrázku A odpovídá 3000 nm, úsečka na obrázku B 1200 nm; B - bakteriální buňka, E - EPS, P - protein (Ayala-Hernandez et al, 2008).

3.7.1 Čedar

Čedar je tvrdý sýr s nízkodohřívanou sýřeninou tradiční pro anglicky mluvící země. K výrobě polotučného čedaru byly použity dva startéry *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* (DPC6532 a DPC6533), které se lišily ve schopnosti produkovat EPS. Kmen DPC6532 byl EPS⁺, kmen DPC6533 exopolysacharidy neprodukoval (EPS⁻). Bylo zjištěno, že sýry obsahující EPS⁺ startér měly výtěžnost na 100 kg mléka o 8,17 % vyšší a o 9,49 % zvýšenou vlhkost. Na obrázku 3 je viditelná táhlovitost EPS⁺ kultury zákysu (růstové médium tvořilo odtučněné mléko) (Costa et al., 2010).



Obrázek 3: Táhlovitost růstového média EPS⁺ *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* DPC6532 (Costa et al., 2010).

Zlepšení bylo viditelné v textuře i vlastnostech sýra pro tepelnou úpravu. Vzorek EPS⁺ ve srovnání s EPS⁻, vykazoval výrazně nižší tvrdost, která se ještě snížila během zrání sýrů. To lze vysvětlit tím, že syntetizované EPS vyplnily prostory v kaseinové síti a tím sýr získal strukturu, jež připomínala plnotučný čedar. Zároveň EPS⁺ kultura neměla negativní dopad na aromatické vlastnosti produktu (Costa et al., 2010).

K podobným výsledkům došel i Awad a kol. (2005) při výrobě nízkotučného čedaru s dodáním EPS⁺ kmenů *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* JFR1. U tohoto sýra nebyly viditelné rozdíly v tvrdosti, pružnosti a žvýkatelnosti v porovnání s kontrolním vzorkem s normálním obsahem tuku (Awad et al., 2005).

Při skladování byla v této studii mimo jiné pozorována také přilnavost sýrů. Sýr s EPS⁺ kulturou měl stejnou přilnavost jako sýr plnotučný na rozdíl od sýra bez EPS, kde byla přilnavost po 6 měsících zrání výrazně nižší (Awad et al., 2005).

3.7.2 Mozzarella

Mozzarella je italský čerstvý sýr z pařeného těsta, jež je často používán nejen ve studené kuchyni k přípravě salátů, ale je také jednou ze základních ingrediencí pro ochucení pizzy. Broadbent a kol. (2001) při výrobě nízkotučného sýru mozzarella (obsah tuku 6 % hm.) použil EPS⁺ BMK *Streptococcus thermophilus* MR-1C a *Lactobacillus*

delbrueckii subsp. *bulgaricus* MR-1R. Tento sýr pak obsahoval více vody a díky tomu vykazoval lepší vlastnosti (například tavitelnost), než sýr s běžnou kulturou (*Streptococcus thermophilus* TAO61 a *Lactobacillus helveticus* LH100) (Broadbent et al., 2001).

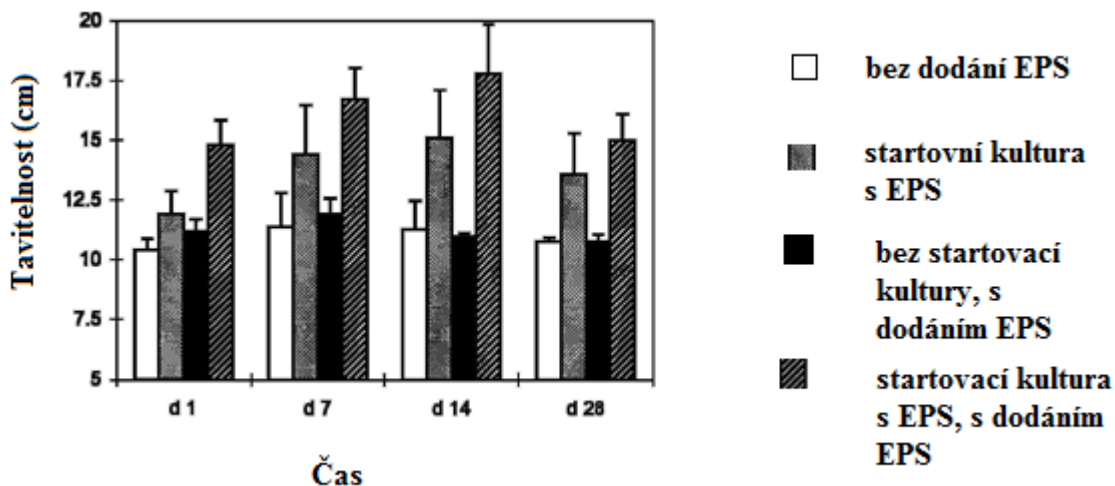
Pro ověření, jestli za zádrž vody byla zodpovědná kultura MR-1C, MR-1R nebo obě, byly provedeny kontrolní výroby s kombinací dvojic EPS⁺ a EPS⁻ streptokoků a laktobacilů. Pokus ukázal, že sýry s kulturou MR-1R and MR-1C měly významně vyšší obsah vlhkosti hlavně díky kmenu *Streptococcus thermophilus* MR-1C. Tato kultura byla schopna zvýšit vlhkost až o 1,5 %. Na obrázku 4 je uveden příklad mikrostruktury (pomocí SEM) nízkotučné mozzarely s EPS⁺ kmenem *Streptococcus thermophilus* a EPS⁻ kmenem *Lactobacillus helveticus*, na němž je patrné, jak kapsulární EPS vytváří výplň proteinové sítě (Broadbent et al., 2001).



Obrázek 4: Mozzarella s nízkým obsahem tuku vyrobená za pomoci EPS⁺ *Streptococcus thermophilus* MR-1C a EPS⁻ *Lactobacillus helveticus* LH100 (Broadbent et al., 2001).

Další vlastnost, která je hodnocena u mozzarely je tavitelnost, jež je důležitým aspektem například při pečení pizzy. Perry a kol. (1997) při výrobě nízkotučného sýru mozzarella (obsah tuku 6 % hm.) použil startovací kultury produkující EPS (*Streptococcus thermophilus* MR-1C a *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* MR-1R). Jeho kontrolní vzorek obsahoval kmeny *Streptococcus thermophilus* TA061 a *Lactobacillus helveticus* LH100, které EPS neprodukovaly. Dále byl sledován rozdíl po dodání přídavné EPS⁺ kultury k oběma jmenovaným startérům. Přidaný zákys byl tvořen EPS⁺ kmeny *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* a *L. lactis* ssp. *cremoris*. Výrobní vzorky byly skladovány a průběžně kontrolovány na míru tavitelnosti, jak je znázorněno na obrázku 5. U kontrolního sýra (bez kultury produkující EPS) se v průběhu skladování tavitelnost nezvýšila, zatímco u sýra s EPS⁺ startovací kulturou se od 1. do 14. dne zvyšovala a od 14. do 28. dne snižovala. Úplně nejvyšší tavitelnost po celou dobu skladování (den 1. až 28.) měl sýr s kombinací EPS⁺

startovací a EPS⁺ přídavné kultury. Ze závěru práce vyplynulo, že sýry s vyšším obsahem vody mají i vyšší tavitelnost (Perry et al., 1997).



Obrázek 5: Změna tavitelnosti nízkotučného sýru mozzarella v průběhu skladování (Perry et al., 1997).

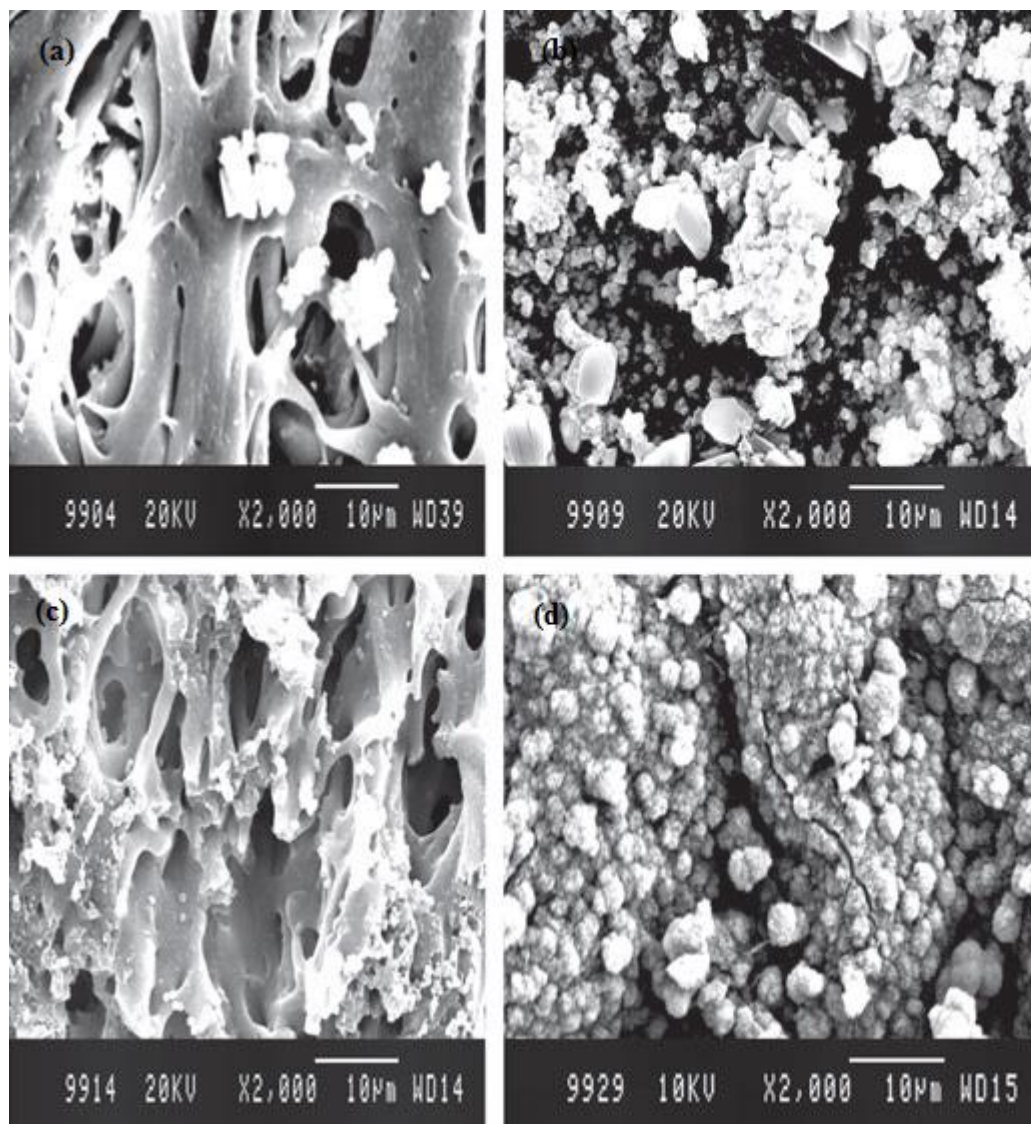
3.7.3 KariECH

KariECH je nejstarší a nejpopulárnější sýr v Egyptě. Pro jeho výrobu je tradiční surovinou směs kravského a buvolího mléka. Při použití EPS⁺ kultur (SB-EPS *Streptococcus thermophilus* MR-1C, *Lactobacillus delbrueckii* sub. sp. *bulgaricus* MR-1R, *Bifidobacterium* spp. a *Lactobacillus acidophilus*, SH-EPS *Streptococcus thermophilus* TA061, *Lactobacillus helveticus* LH110, *Bifidobacterium* sp. a *Lactobacillus acidophilus*) byl výnos sýru vyšší v porovnání s tradiční kulturou. To lze vysvětlit schopností EPS vázat více vody (u SB-EPS ve studii Ayana a Ibrahim (2015) byla vlhkost 73,96 %, jež během skladování klesla na 72,41 %, což bylo o 3 % více než u kontrolního vzorku, v případě Ahmeda a kol. (2005) pak o 2 % než u EPS⁻ sýrů), což jim umožňuje interakci s mléčnými bílkoviny. Pod elektronovým mikroskopem EPS v mikrostruktúře sýru připomínaly vlákna, která jsou připojena k bakteriím a bílkovinnému komplexu (Ahmed et al., 2005; Ayana et Ibrahim, 2015).

Dále byl hodnocen obsah acetaldehydu a diacetylu, tedy chuťových složek závislých na typu bakterií, případně průběhu fermentace. Snížení obsahu tuku má pravděpodobně za následek sníženou zádrž a obsah acetaldehydu a diacetylu, které pak negativně ovlivňují chuť sýru. Obecně lze říci, že texturní vlastnosti jako například konzistence, adhezivita nebo žvýkatelnost byly viditelně nižší u sýrů kariECH s dodáním EPS (Ahmed et al., 2005).

3.7.4 Kasar

Kasar je turecký sýr vyráběný tradičně z ovčího a kravského mléka. Na obrázku 6 lze vidět rozdíl v mikrostruktuře nízkotučného sýru Kasar měřený pomocí SEM mikroskopie v rámci studie Şanlı a kol. (2013). Ten je způsoben dodáním nebo absencí EPS. Na obrázku 6 (a) je zobrazen sýr obsahující 10 % hm. tuku v sušině s EPS⁺ kulturami EPS10. Obrázek 6 (b) je kontrolní vzorek C10, obsahující stejné množství tuku jako sýr, ale EPS⁻ na obrázku 6 (a). Obrázek 6 (c) zobrazuje strukturu sýru s obsahem 20 % hm. tuku v sušině s EPS⁺ kulturami EPS20. Obrázek 6 (d) je kontrolní výroba s tučností shodnou se sýrem 6 (c), EPS⁻ kulturou (Şanlı et al., 2013). Přítomnost EPS je viditelná v bílkovinné síti, která je více otevřená a má houbovitější strukturu. Tyto vzniklé dutinky pak mohou obsahovat více vody. Výsledky jsou shodné s Hassanem a kol. (2004), kteří se domnívali, že otevřená struktura je výsledkem přítomnosti EPS. Podle Şanlı a kol. (2013) je přítomnost EPS více patrná u sýru, obsahujícího 20 % hm. tuku v sušině, a to díky snížení tuhosti textury, jež zapříčiňuje vznik houbovitější a otevřenější struktury (Hassan et al., 2004; Şanlı et al., 2013).



Obrázek 6: Mikrostruktura vzorků sýra Kasar. 6 (a) EPS10: 10 % hm. tuku v sušině, EPS⁺ startér, 6 (b) C10: 10% hm. tuku v sušině, EPS⁻ startér, 6 (c) EPS20: 20 % hm. tuku v sušině EPS⁺ startér, 6 (d) C20: 20 % hm. tuku v sušině, EPS⁻ startér, úsečka = 10µm (Şanlı, 2013).

3.7.5 Caciotta

Caciotta je jeden z nejstarších zrajících sýrů pocházejících z Itálie. Studie Di Cagna a kol. (2014) se zabývala vlivem EPS na parametry tohoto nízkotučného sýra. Stejně jako v předchozích studiích byl potvrzen pozitivní vliv na vlhkost a následně na výtěžnost produktu. Také se zde projevila vyšší přítomnost těkavých látek, díky kterým je nízkotučný sýr celkově sensoricky přijatelnější. Konkrétně nízkotučný sýr s EPS⁺ kulturou (*Streptococcus thermophilus* ST446) měl jednotnou barvu a velmi dobrou konzistenci. Sýr s EPS⁺ kulturami (*Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus rhamnosus* LRA) byl vyznačován

příjemnou žvýkatelností a intenzitou chuti. To potvrzuje, že nízkotučné sýry s EPS⁺ kulturami mohou být využity jako varianta plnotučného sýra Caciotta (Di Cagno et al., 2014).

4 Materiály a metody

4.1 Použité materiály

- kravské syrové mléko (TOKO AGRI a.s., CZE)
- smetanová kultura Laktoflora sušená (Milcom a.s., CZE)
- tekuté syřidlo Laktochym 1:1000 (Milcom, a.s., CZE)
- kultura BMK *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* CCDM 767 (Milcom, a.s., CZE)
- kultura BMK *Streptococcus thermophilus* CCDM 144 (Milcom, a.s., CZE)

4.2 Použité přístroje

Bylo použito běžného přístrojového vybavení analytické laboratoře a přístroje MilkoScan FT 120 (FOSS, DNK).

4.3 Příprava odtučněného mléka

Odtučněné mléko bylo připraveno odstředěním ($10\,000\text{ min}^{-1}$, 10 min, 21 °C) 2/3 syrového kravského mléka (TOKO AGRI a.s., CZE) na automatické odstředivce (Centrifuge 5416, Eppendorf, DE) v 50 ml zkumavkách. Odstředěné mléko bylo smícháno se zbytkem (1/3) syrového mléka a jeho složení bylo stanoveno FTIR spektroskopií na přístroji MilkoScan FT 120 (FOSS, DNK) dle ČSN 57 0536.

4.4 Laboratorní výroba sýrů

Byla provedena laboratorní výroba 4 různých druhů čerstvých sýrů, jež se lišily výchozí surovinou a použitou zákysovou kulturou, dle tabulky 5.

Tabulka 5: Složení jednotlivých vzorků sýrů.

Vzorek	Surovina	Kultura
Standard	nestandardizované kravské mléko	smetanová kultura Laktoflora
350	odtučněné kravské mléko	smetanová kultura Laktoflora
767	odtučněné kravské mléko	kultura <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> CCDM 767
144	odtučněné kravské mléko	kultura <i>Streptococcus thermophilus</i> CCDM 144

Požadovaný objem suroviny (1 l) byl přelit do nerezového výrobníku a tepelně ošetřen (vodní lázeň EL-20 R, Kavalier Votice, CZE) šetrnou pasterací na 72 – 74 °C po dobu 15 s. Po tepelném ošetření bylo mléko zchlazeno na teplotu 30 – 32 °C pod studenou tekoucí vodou. Při této teplotě bylo zaočkováno 1 % hm. sýrařské kultury (Milcom, a.s., CZE) dle typu výrobku. Po inokulaci kulturou byl materiál řádně promíchán, aby kysání probíhalo rovnoměrně v celém objemu, a směs byla předežrávána v klidu 30 min při teplotě 30 – 32 °C (Biological termostat BT 120, Laboratorní přístroje Praha, CZE). Po předkysání bylo mléko zasýřeno. 1 ml koncentrovaného syřidla Laktochym (Milcom, a.s., CZE) o aktivitě 1:1000 SU. Směs byla opět promíchána a vrácena zpět do termostatu (Biological termostat BT 120, Laboratorní přístroje Praha, CZE). Sýření probíhalo přibližně 60 min, po kterých následovala první kontrola konzistence sýřeniny. Další kontroly následovaly vždy po 15 až 30 min. Po vytvoření kompaktního koagulátu byla sýřenina pokrájena na kostičky zhruba o velikosti 1 cm².

Pokrájená sýřenina byla nechána dalších 30 min v klidu při teplotě 30 – 32 °C (Biological termostat BT 120, Laboratorní přístroje Praha, CZE), aby došlo k dalšímu uvolňování syrovátky a synerezi koagulátu. Po uplynulém čase byl celý objem výrobníku opatrně, aby nedošlo k poškození syrovátkových zrn, přelit do uzavíratelného tvořítka. Zde došlo k lisování sýřeniny vlastní vahou, jež bylo doprovázeno samovolným odkapáváním syrovátky. Tvořítka bylo obráceno v intervalu 15 min minimálně pětkrát za sebou, aby došlo k rovnoměrnému lisování. Vylisované sýry byly ponechány do druhého dne prokysat při teplotě 5 °C. Pro každý vzorek byla provedena 1 výroba.

4.5 Stanovení koagulační aktivity syřidla

Koagulační aktivita syřidla (MCA) udává počet ml neporušeného mléka, které je sraženo přidáním 1 ml tekutého syřidlového extraktu nebo 1 g práškového syřidla při 35 °C za dobu 40 min. Při stanovení neznámé aktivity použitého syřidla Laktochym (Milcom, a.s., CZE) bylo toto srovnáváno se standardem, o známé aktivitě 1:5000 SU. Koagulační aktivita syřidla Laktochym byla vypočtena dle vzorce (1).

$$MCA_{VZ} = \frac{t_{st} * MCA_{st} * m_{st}}{t_{VZ} * m_{VZ}} \quad (1), \text{ kde}$$

MCA_{VZ} - koagulační aktivita neznámého syřidla [SU],

t_{st} - doba kompletního vysrážení mléka po přidavku standardu [s]

t_{VZ} - doba kompletního vysrážení mléka po přidavku neznámého syřidla [s]

MCA_{st} - deklarovaná koagulační aktivita standardu syřidla [SU]

m_{st} - navážka standardního syřidla v odpipetovaném podílu [g]

m_{vz} - navážka neznámého syřidla v odpipetovaném podílu [g]

Stanovení koagulační aktivity syřidla bylo provedeno 3x. Aktivita syřidla byla 1:1000 SU (Černá et Cvak, 1986).

4.6 Stanovení složení mléka pro výrobu sýrů pomocí FTIR spektroskopie

Složení mléka (obsah sušiny, tukuprosté sušiny, tuku, laktózy, hrubých bílkovin, kaseinu) pro výrobu sýrů bylo stanoveno metodou FTIR spektroskopie na přístroji MilkoScan FT 120 (FOSS, DNK) dle ČSN 57 0536. Principem analýzy je měření absorpce specifických vlnových délek v infračervené oblasti světla typických pro jednotlivé komponenty mléka.

Vzorek mléka byl vytemperován na teplotu 40 °C (vodní lázeň EL-20 R, Kavalier Votice, CZE) a změřen programem Improved milk. Příslušné kalibrace pro použitý program jsou zmíněny v tabulce 6. Měření bylo provedeno pro každý vzorek 4x.

Tabulka 6: Referenční metody programu Improved milk.

Stanovení	Název metody
Sušina	vážkové stanovení
Tukuprostá sušina	vážkové stanovení
Tuk	Rösse-Gottliebova metoda
Laktóza	Boehringer-Mannheimův enzymatický test
Hrubé bílkoviny	Kjeldahlova metoda
Kasein	Kjeldahlova metoda

4.7 Stanovení obsahu sušiny sýrů

Sušina sýru byla stanovena rychlometodou pomocí infraváhy (Precisa HA 300, Precisa AG, 310M, CHE). Vzorek o hmotnosti cca 1 g byl vložen na váhu (Precisa HA 300, Precisa AG, 310M, CHE) a sušen do konstantní hmotnosti. Pro každý vzorek byla provedena 2 paralelní měření.

4.8 Stanovení výtěžnosti sýrů

Výtěžnost výroby sýrů byla vypočtena z hmotnosti sýru, odloučené syrovátky a výchozí suroviny dle vzorce (2).

$$\text{výtěžnost [SJ]} = \frac{\text{hmotnost sýra [kg]} * \text{sušina [% hm.]}}{\text{hmotnost mléka [kg]}} \quad (2), \text{ kde}$$

SJ – sušinové jednotky, které přejdou do sýru z 1 kg mléka

4.9 Tavitelnost sýrů

Tavitelnost sýrů byla stanovena pomocí mikrovlnné trouby (Moulinex, FRA) při 500 W po 30 s.

Vzorek o velikosti 4 x 0,5 x 0,5 cm byl vložen na podložním sklíčku do trouby (Moulinex, FRA) a taven. Následně byla odečtena změna velikosti vzorku a zhodnocena rovnoměrnost taveniny. Pro každý vzorek byla provedena 2 paralelní měření.

4.10 Senzorická analýza sýrů

Pro porovnání senzorických parametrů jednotlivých sýrů byla použita senzorická analýza pořadovou zkouškou s dělenou 7 bodovou stupnicí. Hodnocenými parametry byly vzhled, vůně, tuhost, gumovitost, přilnavost, homogennost, konzistence, suchost a příjemnost chuti. Senzorický panel tvořilo 10 profesionálních hodnotitelů ve věku 22 – 50 let (ISO 11035). Formulář pro senzorickou analýzu je přiložen v příloze 2.

4.11 Statistická analýza

Statistická analýza souborů vybraných dat byla provedena v programu Microsoft Excel 2010 (Microsoft, USA). Výsledky jednotlivých stanovení byly nejprve podrobeny vyloučení odlehlých výsledků. Dále byly spočítány aritmetické průměry a směrodatné odchylky příslušných analýz vzorků. Rozdíl mezi jednotlivými sýry byl hodnocen Studentovým *t*-testem na hladině významnosti $P(\alpha) = 0,05$.

5 Výsledky

5.1 Příprava odtučněného mléka

Pro výrobu nízkotučných sýrů bylo jako surovina použito odtučněné mléko. To bylo připraveno ze syrového nestandardizovaného mléka (TOKO AGRI a.s., CZE) jeho částečným odstředěním (viz. kap. 4.3). Složení výchozí suroviny a suroviny po odstředění z hlediska hlavních složek je uvedeno v tabulce 7. Obsah minoritních složek a fyzikálně-chemické vlastnosti jsou přiloženy v příloze 1. Mléko bylo z průměrné tučnosti 3,5 % hm. odtučněno na 0,8 % hm.

Tabulka 7: Složení hlavních složek nestandardizovaného a odtučněného mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 4 paralelních stanovení \pm směrodatná odchylka.

Vzorek	Sušina [% hm.]	Sušina tukuprostá [% hm.]	Tuk [% hm.]	Laktóza [% hm.]	Hrubé bílkoviny [% hm.]	Kasein [% hm.]
Nestandardizované mléko	12,43 \pm 0,02	8,81 \pm 0,01	3,54 \pm 0,01	4,95 \pm 0,01	3,34 \pm 0,01	2,53 \pm 0,01
Odtučněné mléko	9,70 \pm 0,01	8,92 \pm 0,02	0,77 \pm 0,01	5,15 \pm 0,01	3,26 \pm 0,01	2,42 \pm 0,01

5.2 Stanovení sušiny sýrů

Sušina vyrobených vzorků sýrů byla stanovena gravimetricky rychlometodou pomocí vah s infračerveným ohřevem (Precisa HA 300, Precisa AG, 310M, CHE). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 8, výsledky statistické analýzy pak v tabulce 9.

Tabulka 8: Obsah sušiny vzorků sýra. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních stanovení \pm směrodatná odchylka.

Vzorek	Sušina [% hm.]
Standard	29,94 \pm 0,47
350	24,92 \pm 0,40
767	32,76 \pm 0,64
144	29,34 \pm 0,30

Tabulka 9: Studentův t -test rozdílů v sušině mezi vzorky sýrů. $P(\alpha) = 0,05$; $u_{\alpha} = 19,00$.

Statistický pár	u
Standard – 350	51,81
Standard – 144	6,98
Standard – 767	17,26
350 – 144	69,49
350 – 767	51,06
144 – 767	23,34

Nejvyšší obsah sušiny byl zaznamenán u vzorku 767, ve kterém byla přítomna kultura EPS⁺ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Nejnižší naopak u analytu 350 vyrobeného z odtučněného mléka a EPS⁻ smetanové kultury. Mezi Standardem a vzorkem 350, vzorky 350 a 144, 350 a 767 a 144 a 767 byl nalezen statisticky významný ($p > 0,05$) rozdíl v obsahu sušiny.

5.3 Výtěžnost sýrů

Výtěžnost sýrů byla vypočítána s ohledem na hustotu vzorků podle vzorce (2) v kap. 4.8 a výsledky jsou uvedeny v tabulce 10.

Tabulka 10: Výtěžnost vzorků sýrů. Výsledky jsou uvedeny v sušinových jednotkách, které přejdou do sýra z 1 kg mléka.

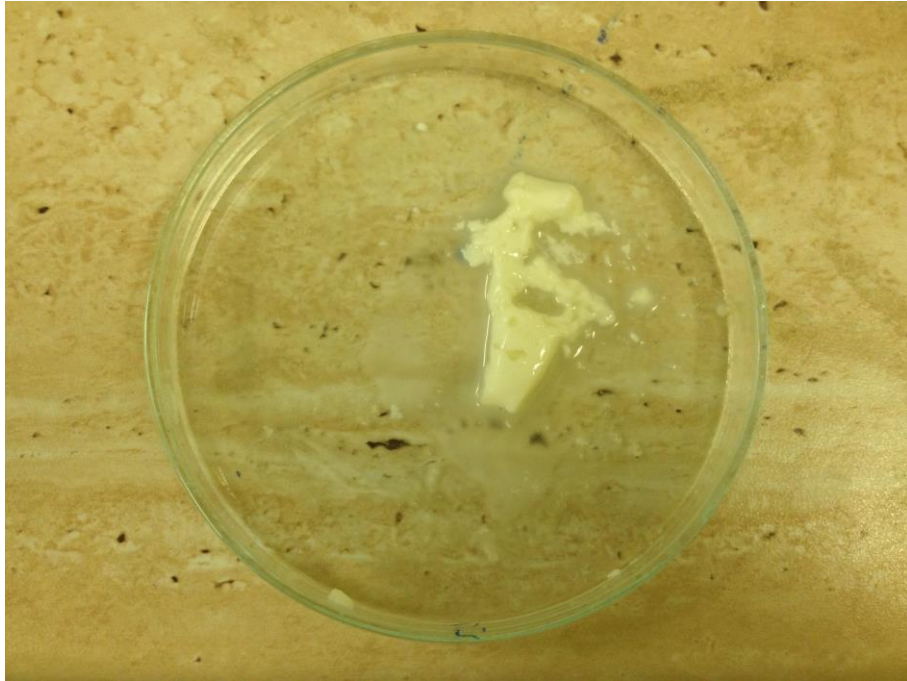
Vzorek	Výtěžnost [SJ]
Standard	6,14
350	4,00
767	4,23
144	4,63

5.4 Tavitelnost sýrů

Tavitelnost vyrobených vzorků byla stanovena postupem uvedeným v kapitole 4.8. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce 11 a na obrázcích 7 – 10.

Tabulka 11: Tavitelnost vzorků sýrů. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 2 paralelních měření.

Vzorek	Počáteční rozměry [cm]	Plocha po roztavení [cm]
Standard	4 x 0,5 x 0,5	1 x 4
350	4 x 0,5 x 0,5	2 x 1 a 2 x 0,5
767	4 x 0,5 x 0,5	2 x 5
144	4 x 0,5 x 0,5	9 x 9



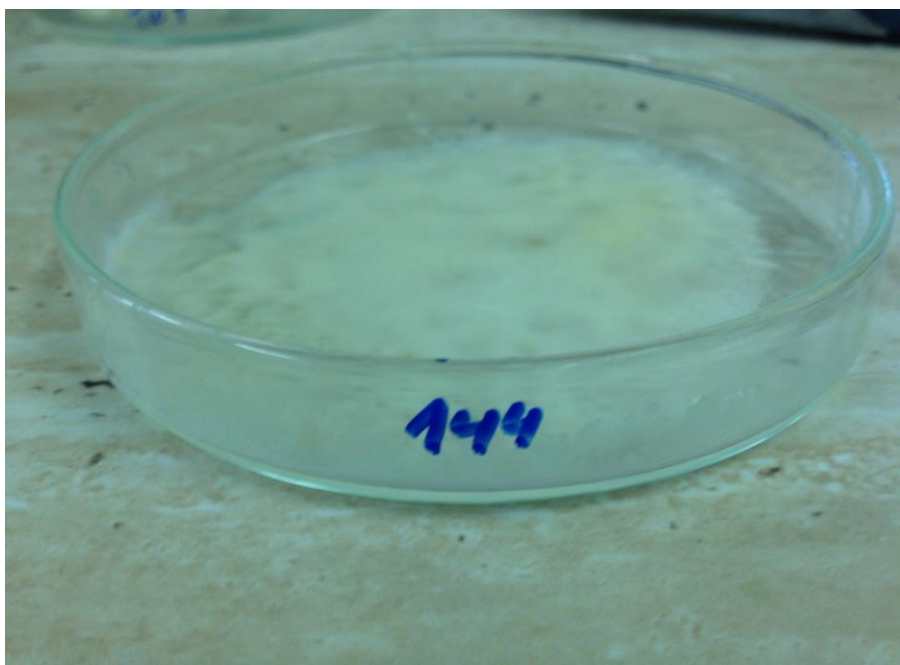
Obrázek 7: Tavitelnost standardního sýru (EPS⁻ smetanová kultura).



Obrázek 8: Tavitelnost sýru 350 (EPS⁻ smetanová kultura).



Obrázek 9: Tavitelnost sýru 767 (EPS⁺ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*).



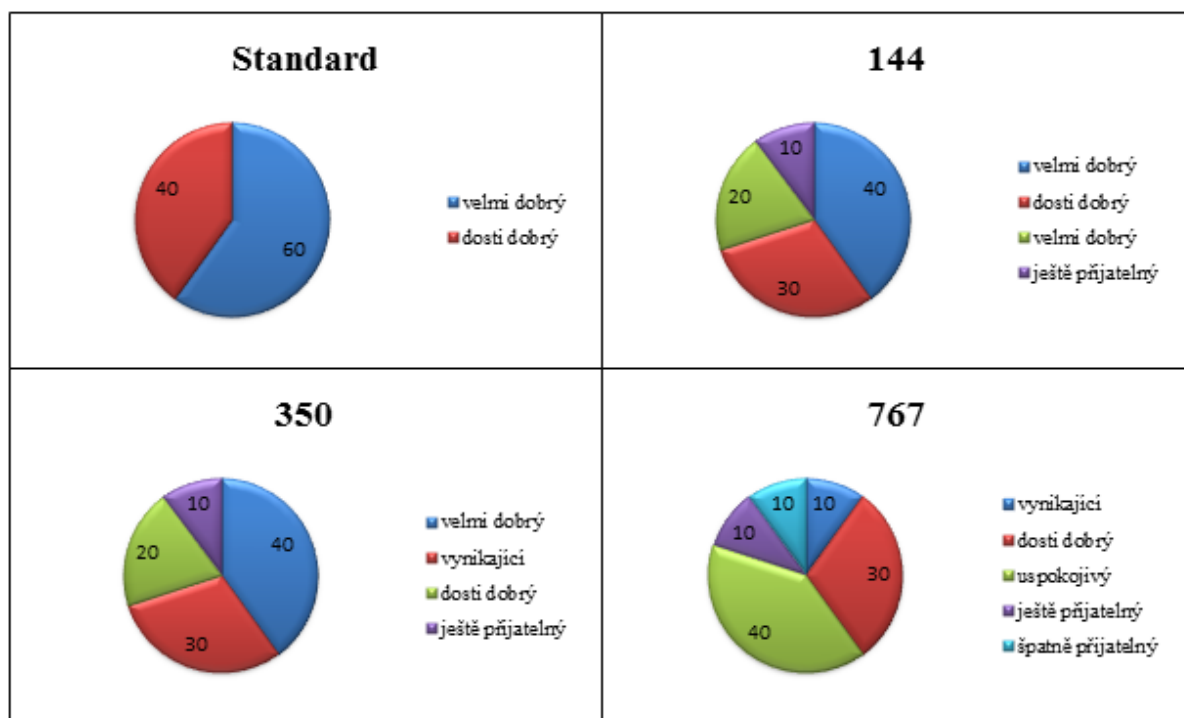
Obrázek 10: Tavitelnost sýru 144 (EPS⁺ *Streptococcus thermophilus*).

Nejhorší tavitelnost prokázaly oba vzorky s EPS⁻ smetanovou kulturou (Standard a 350), jejichž tavenina se během záhřevu potrhala. U sýru 350 byla navíc sýřenina během

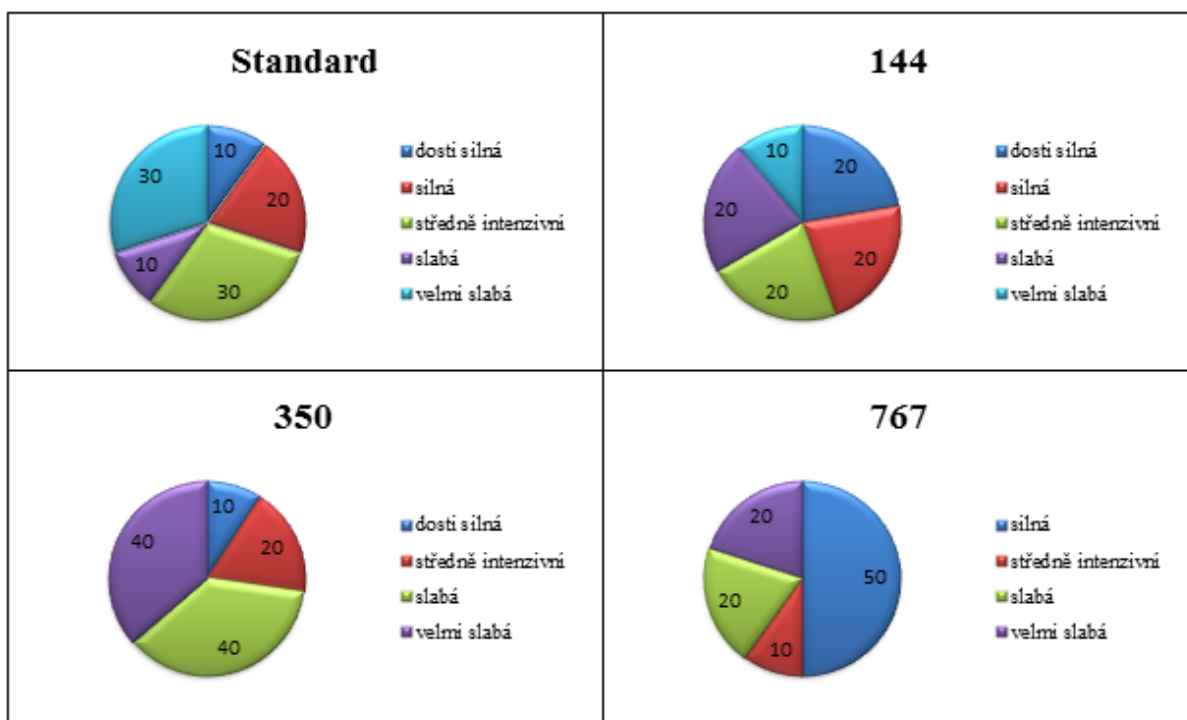
tavení roztrhána na samostatné části. Nejlepší tavitelnost a rovnoměrnost taveniny byla naopak zaznamenána pro vzorek 144 obsahující EPS⁺ kulturu *Streptococcus thermophilus*.

5.5 Senzorická analýza

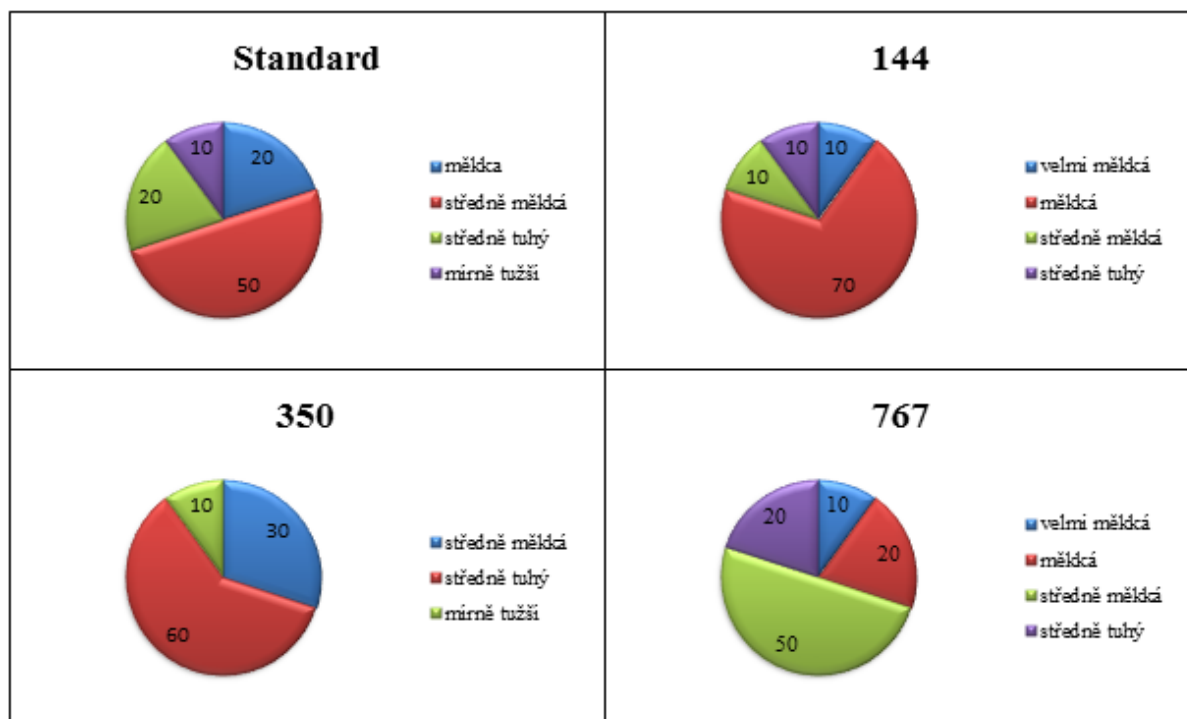
Senzorická analýza byla prováděna pomocí dotazníku, který je uveden v příloze 2. Posuzován byl vliv EPS na následující vlastnosti sýrů: vzhled, vůně, tuhost, gumovitost, adhezivita, homogennost, konzistence, suchost a příjemnost chuti. Výsledky sensorického hodnocení jsou uvedeny na obrázcích 11 – 19.



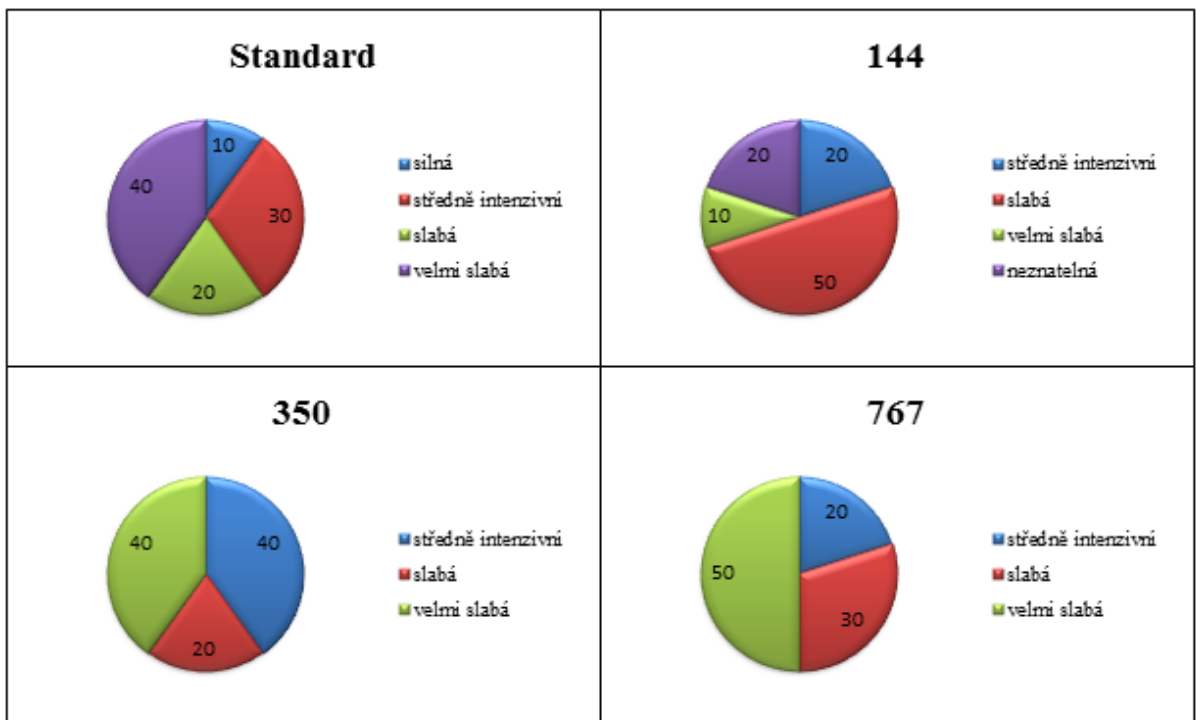
Obrázek 11: Senzorické hodnocení vzhledu sýrů. Výsledky jsou znázorněny jako četnosti 10 paralelních hodnocení.



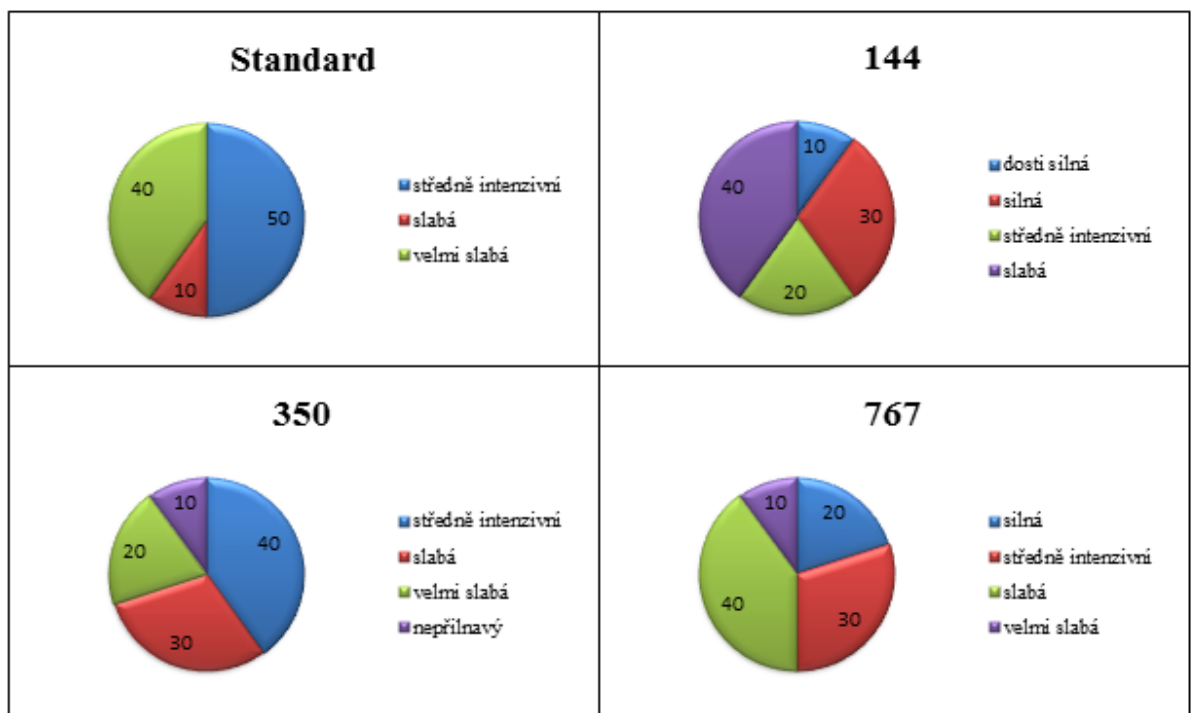
Obrázek 12: Senzorické hodnocení vůně sýrů. Výsledky jsou znázorněny jako četnosti 10 paralelních hodnocení.



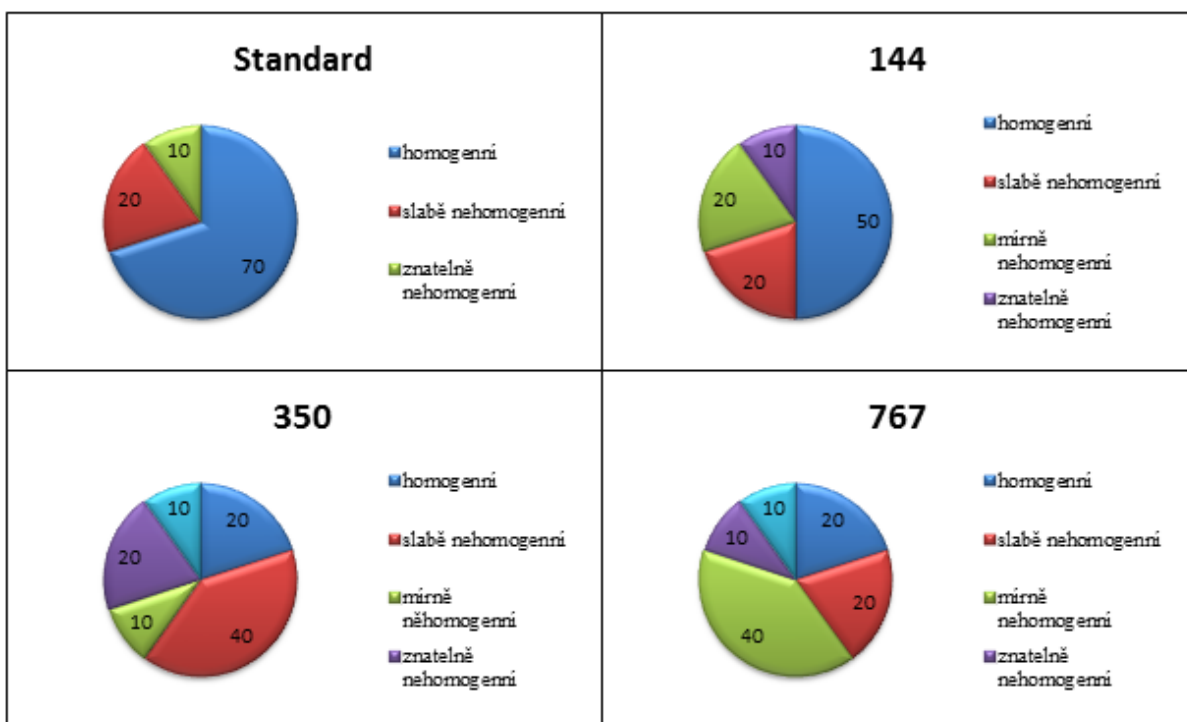
Obrázek 13: Senzorické hodnocení tuhosti sýrů. Výsledky jsou znázorněny jako četnosti 10 paralelních hodnocení.



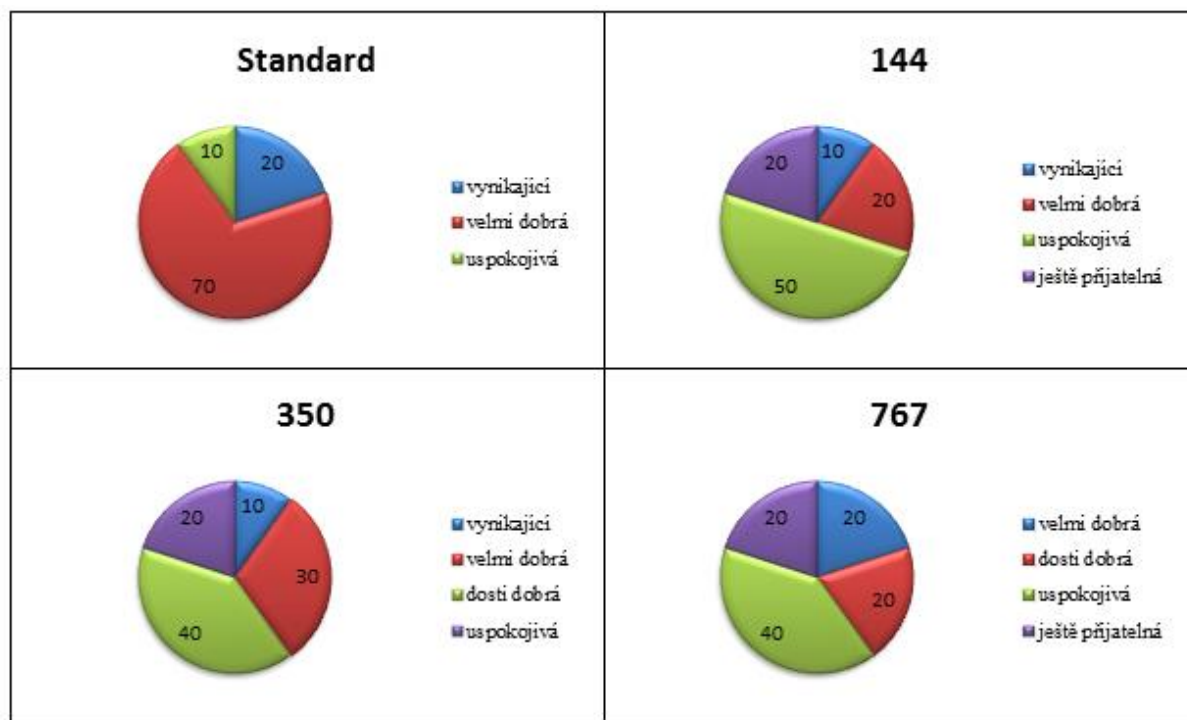
Obrázek 14: Senzorické hodnocení gumovitosti sýrů. Výsledky jsou znázorněny jako četnosti 10 paralelních hodnocení.



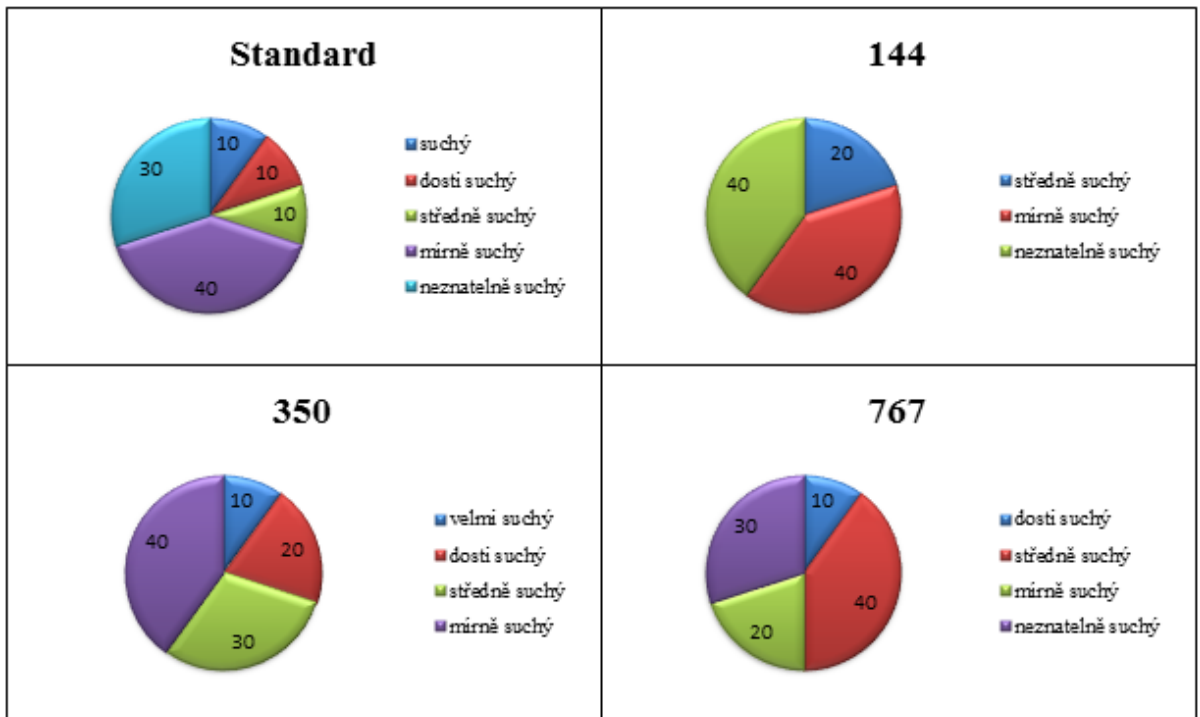
Obrázek 15: Senzorické hodnocení adhezivity sýrů. Výsledky jsou znázorněny jako četnosti 10 paralelních hodnocení.



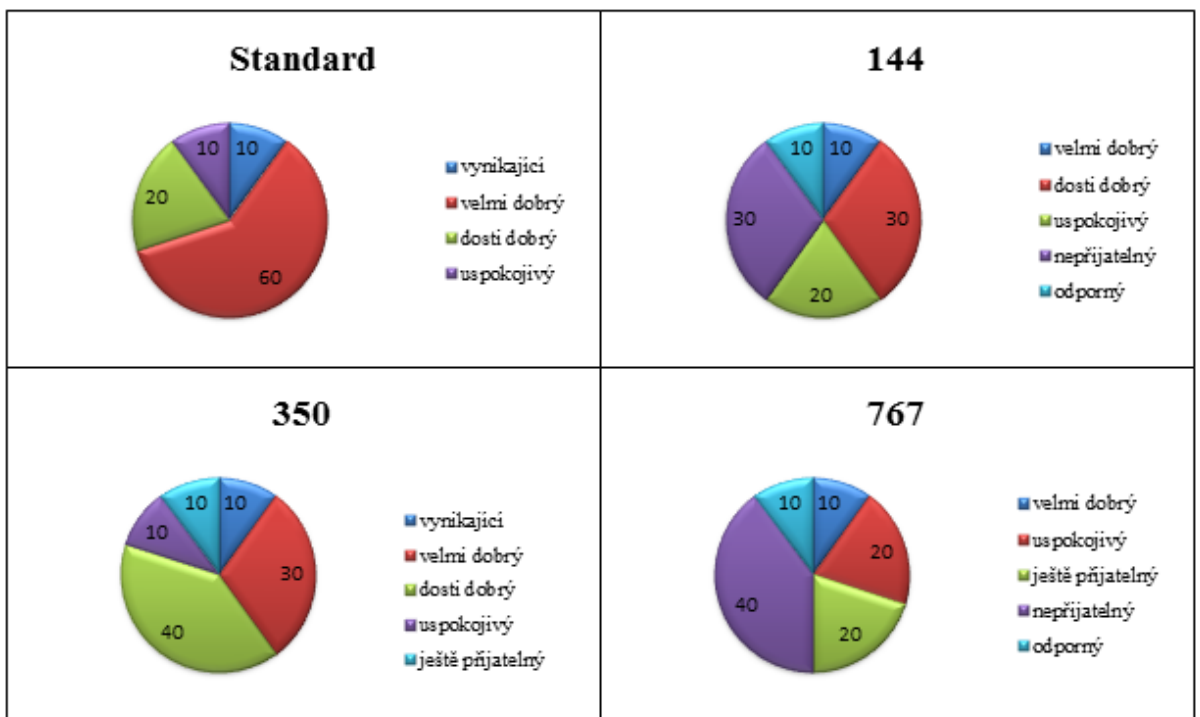
Obrázek 16: Senzorické hodnocení homogeneity sýrů. Výsledky jsou znázorněny jako četnosti 10 paralelních hodnocení.



Obrázek 17: Senzorické hodnocení celkové konzistence sýrů. Výsledky jsou znázorněny jako četnosti 10 paralelních hodnocení.



Obrázek 18: Senzorické hodnocení suchosti sýrů. Výsledky jsou znázorněny jako četnosti 10 paralelních hodnocení.



Obrázek 19: Grafické znázornění celkové příjemnosti chuti sýrů. Výsledky jsou znázorněny jako četnosti 10 paralelních hodnocení.

Z výsledků znázorněných na obrázcích 12 – 19 je patrné, že sýry s obsahem EPS (144 a 767) byly respondenty hodnoceny jako méně tuhé, gumovité a přilnavější. Vzorek 144 byl vyhodnocen nejvíce podobný Standardu z hlediska homogenosti a vzhledu. V příjemnosti chuti byl preferován sýr z nestandardizovaného mléka, jež byl předezrán EPS⁻ smetanovou kulturou.

6 Diskuze

V této práci byly testovány 4 čerstvé nezrající sýry lišící se tučností a zákysovou kulturou. Pro výrobu Standardu bylo použito kravské nestandardizované mléko (průměrný obsah tuku 3,54 % hm.) předkysané EPS⁻ smetanovou kulturou. Ostatní vzorky byly z odtučněného kravského mléka (průměrný obsah tuku 0,77 % hm.) předkysaného EPS⁻ smetanovou kulturou (sýr 350), EPS⁺ kmenem *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* CCDM 767 (vzorek 767) a EPS⁺ kmenem *Streptococcus thermophilus* CCDM 144 (sýr 144). U těchto vzorků byla stanovena sušina, výtěžnost, tavitelnost a byla u nich provedena senzorická analýza vzhledu, vůně, tuhosti, gumovitosti, přilnavosti, homogennosti, konzistence, suchosti a příjemnosti chuti.

Nejvyšší obsah sušiny obsahoval vzorek 767, ve kterém byla přítomna EPS⁺ kultura *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (32,76 % hm.). Druhý nejvyšší obsah sušiny byl pak zaznamenán u sýrů Standard a 144. Bylo zjištěno, že oproti vzorku 350 nebyl statisticky významný rozdíl ($p > 0,05$) při porovnání množství sušiny Standardu se sýry obsahujícími EPS. Navýšení obsahu sušiny u vzorků z odtučněného mléka přezrálými EPS⁺ kulturami lze vysvětlit právě produkcí EPS, jež se stanou součástí pevného podílu. EPS mohou v matici sýru nahradit chybějící tuk a vytvořit tak produkt o srovnatelné nebo i vyšší sušině a tedy s vyšší nutriční hodnotou oproti výrobku bez odebraného tuku (Di Cagno et al., 2014). Po provedení statistické analýzy byl také prokázán statisticky významný rozdíl ($p > 0,05$) v obsahu sušiny mezi sýry obsahujícími různé EPS⁺ kultury (144 a 767), což naznačuje, že kmen *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* CCDM 767 by mohl být schopen produkovat vyšší množství EPS (Donot et al., 2012; Ruas-Madiedo, et al, 2002).

U nízkotučných variant sýrů s EPS⁺ kulturami byly zaznamenány řadou autorů vyšší výtěžnost a vlhkost oproti produktům se stejným obsahem tuku vyrobených pomocí EPS⁻ startérů, jež byly vysvětlovány přítomností a interakcí EPS v proteinové síti, kde působí jako náhrada tukových kuliček a zamezí částečně synerezi kaseinového gelu (Ahmed et al., 2005; Ayana et Ibrahim, 2015; Broadbent et al., 2001; Costa et al., 2010; Di Cagno et al., 2014). Výsledky získané v této práci jejich závěry potvrzují, neboť vzorky obsahující kultury EPS⁺ (144 a 767) měly oproti analytu 350 vyšší výtěžnost. Charakterizovaný parametr však nekoreloval s obsahem sušiny, neboť vyšší výtěžnost byla zaznamenána u sýru 144, který měl nižší sušinu než produkt 767. Tato skutečnost může být vysvětlena odlišnou strukturou a tedy funkčními vlastnostmi EPS jednotlivých kultur, kdy kmen *Streptococcus thermophilus*

CCDM 144 byl pravděpodobně schopen produkovat EPS s lepší vazností vody a tím pádem výrobek předkysaný tímto startérem měl vyšší výtěžnost (Donot et al., 2012; Ruas-Madiedo, et al, 2002).

Tavitelnost je další z vlastností sýrů, kterou lze dle dostupné literatury pozitivně ovlivnit EPS⁺ startéry. Tato vlastnost je vítána při nejrůznějších kulinárních úpravách, například při přípravě pizzy (Broadbent et al., 2001; Costa et al., 2010; Perry et al., 1997). Na obrázcích 9 a 10 je možno názorně vidět, že u vzorků 767 a 144, kde byly přítomné kultury EPS⁺ BMK, byla tavitelnost výrazně vyšší a rovnoměrnější než u Standardu a vzorku 350 s EPS⁻ zákysem, které jsou zachyceny na obrázcích 7 a 8.

Senzorická analýza prokázala pozitivní vliv EPS⁺ kmene *Streptococcus thermophilus* CCDM 144 na vzhled a homogenost sýru, jež byl v těchto parametrech vyhodnocen jako nejvíce podobný Standardu. V souladu s literaturou prokázaly též vzorky obsahující EPS nižší tuhost, gumovitost a vyšší přilnavost (Şanlı et al., 2013; Awad et al, 2005). Konzistence sýrů s EPS⁺ kulturami byla hodnocena jako uspokojivá, což je oproti Standardu horší výsledek. Mohl by být zapříčiněn například nižším obsahem vody, než byl u standardního produktu, který měl nejvyšší výtěžnost (Ahmed et al., 2005; Ayana et Ibrahim, 2015; Broadbent et al., 2001; Costa et al., 2010; Di Cagno et al., 2014). U hodnocení suchosti nebyl potvrzen pozitivní vliv EPS⁺ kultur na tento parametr, jež je popsán v literatuře (Ahmed et al., 2005; Ayana et Ibrahim, 2015; Broadbent et al., 2001; Costa et al., 2010; Di Cagno et al., 2014). Respondenti nezaznamenali výrazné rozdíly mezi jednotlivými vzorky, což může být vysvětleno typem produktu, neboť čerstvé sýry obsahují ve své struktuře přirozeně velké množství vody, tudíž její úbytek při odtučnění suroviny nemusí být senzoričky tak znatelný a projevovat se konkrétně na tomto parametru (Bylund 1995; Walstra, et al, 2006).

Z hlediska celkové příjemnosti chuti byl nejlépe hodnocen Standard. U sýrů s EPS koreluje jejich horší chutnost pravděpodobně s vůní, která sice byla u vzorku 144 klasifikována jako nejsilnější, ale zároveň bylo u obou výrobků poznamenáno, že je jejich vůně odlišná a atypická oproti sýrům obsahujícím EPS⁻ smetanovou kulturu. Protože typická chuť a vůně výrobků je výrazně ovlivněna typem startéru a tedy průběhem fermentace, bylo by vhodnější pro výrobu čerstvých nezrajících produktů použití EPS⁺ zástupců smetanové kultury (Ahmed et al., 2005; Bylund 1995; Costa et al., 2010; Walstra, et al, 2006).

7 Závěr

Cílem této bakalářské práce, bylo zhodnotit vliv aplikace EPS BMK při výrobě čerstvých nezrajících sýrů. Byly vyrobeny 4 vzorky čerstvých, nezrajících sýrů z nestandardizovaného (Standard) a odtučněného (350, 767, 144) mléka s dodáním EPS⁺ (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* CCDM 767 a *Streptococcus thermophilus* CCDM 144) a EPS⁻ kultur (smetanová kultura 350). Následně byla stanovena sušina, výtěžnost, tavitelnost a sensorický profil (vzhled, vůně, tuhost, gumovitost, přilnavost, homogennost, konzistence, suchost a příjemnost chuti) těchto produktů.

Byl zaznamenán statisticky významný ($p > 0,05$) nárůst obsahu sušiny u vzorků z odtučněného mléka předkysaných EPS⁺ kulturou, díky kterému bylo její množství u obou produktů srovnatelné ($p > 0,05$) se standardním výrobkem z neodtučněného mléka. Nárůst obsahu sušiny však nekoreloval s výtěžností a tedy zadržel vodu. Bylo zjištěno, že kmen *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* CCDM 767 produkuje pravděpodobně oproti kmenu *Streptococcus thermophilus* CCDM 144 vyšší množství EPS, které však mají horší schopnost zadržovat v kaseinové matici vodu a tím zvyšovat výtěžnost sýru. Tavitelnost výrobků obsahujících EPS byla viditelně lepší a rovnoměrnější než vzorku 350 a Standardu bez EPS. V sensorickém hodnocení byl zaznamenán pozitivní vliv EPS⁺ kultur na tuhost, gumovitost (pokles), přilnavost (nárůst), vzhled a homogennost (*Streptococcus thermophilus* CCDM 144) sýrů a negativní vliv na příjemnost chuti.

Do budoucích prací lze proto doporučit použití EPS⁺ kultur, které nebudou atypické chutí a vůní, případně vhodnou kombinaci EPS⁻ smetanové kultury a EPS⁺ kmenů BMK jiných, než smetanová kultura. Lze říci, že hypotéza práce byla v rámci většiny parametrů (kromě pozitivního vlivu použitých EPS⁺ kultur na chuť a vůni) potvrzena.

8 Seznam použité literatury

Ahmed, N. H., El Soda, M., Hassan, A. N., Frank, J. 2005. Improving the textural properties of an acid-coagulated (Karish) cheese using exopolysaccharide producing cultures. *LWT Food Science and Technology*, 38 (8), 843-847.

Awad, S., Hassan, A. N., Muthukumarappan, K. 2005. Application of exopolysaccharide-producing cultures in reduced-fat cheddar cheese: Texture and melting properties. *Journal of Dairy Science*, 88 (12), 4204-4213.

Ayala-Hernandez, I., Goff, H. D., Corredig, M. 2008. Interactions Between Milk Proteins and Exopolysaccharides Produced by *Lactococcus lactis* Observed by Scanning Electron Microscopy. *Journal of Dairy Science*, 91, 2583-2590.

Ayana A. A. A., Ibrahim, A. E., 2015. Attributes of Low-Fat Yogurt and Kariach Cheese Made Using Exopolysaccharides Producing Lactic Acid Bacteria. *American Journal of Food Technology*, 10 (1), 48-57.

Broadbent, J. R., McMahon, D. J., Welker, D. L., Oberg, C. J., Moineau, S. 2003. Biochemistry, Genetics and Applications of Exopolysaccharide Production in *Streptococcus thermophilus*: A Review. *Journal of Dairy Science*, 86, 407-423.

Broadbent, J. R., McMahon, D. J., Oberg, C. J., Welker D. L. 2001. Use of exopolysaccharide-producing cultures to improve the functionality of low fat cheese. *International Dairy Journal*. 433-439.

Bylund, G. 1995. Dairy processing Handbook. Tetra Pak Dairy. Sweden. p. 436. ISBN: 9163134276.

Casettari, L., Bonacucina, G., Morris, G. A., Perinelli, D. R., Lucaiolo, P., Cespi, M., Palmieri, G. F. 2015. Dextran and its potential use as tablet excipient Casettari. *Powder Technology* 273, 125-132.

Costa, N. E., Hannon, J. A., Guinee, T. P., Auty M. A. E., McSweeney, P. L. H. Beresford. T. P. 2010. Effect of exopolysaccharide produced by isogenic strains of *Lactococcus lactis* on half-fat Cheddar cheese. *Journal Dairy Science*, 93, 3469-3486.

Černá, E., Cvak, Z. 1986. Analytické metody pro mléko a mlékárenské výrobky. Mlékárenský průmysl, Výzkumný ústav mlékárenský / Technické publikace, Číslo 377, Praha, 439 s. DT: 637.12.074:543.

ČSN ISO 11035 (560061). Senzorická analýza – Identifikace a výběr deskriptorů pro stanovení senzorického profilu pomocí mnohorozměrového přístupu. 2002. Český normalizační institut. Praha. 29 p.

ČSN 57 0536. Stanovení složení mléka infračerveným absorpčním analyzátozem. 1999. Český normalizační institut. Praha. 12p.

De Vuyst, L., Zamfir, M., Mozzi, F., Andriany, T., Marshall, V., Degeest, B., Vaningelgem, F. 2003. Exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* strains as functional starter cultures in the production of fermented milks. *International Dairy Journal*, 13, 707-717.

Dekker, M., 2005. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. Taylor&Francis e-Library. New York. p. 633. ISBN: 0-203-02673-X.

Di Cagno, R., De Pasquale, I., De Angelis, M., Buchin, S., Rizzello, C. G., Gobbetti, M. 2014. Use of microparticulated whey protein concentrate, exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* and adjunct cultures for making low-fat Italian Caciotta-type cheese. *Journal of Dairy Science*, 97 (1), 72-84.

Donot, F., Fontana, A., Baccou, J. C., Schorr-Galindo, S. 2012. Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. *Carbohydrate polymers*, 87, 951-962.

Duboc, P., Mollet, B. 2001. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11, 759-768.

Ghos, A. K., Bandyopadhyay, P. 2012. *The Complex World of Polysaccharides*. Desiree Nedra Karunaratne. p. 648. ISBN: 978-953-51-0819-1.

Görnr, F. 2004. *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*. Malé centrum. Bratislava. p. 528 ISBN: 80-967064-9-7.

Hemme, E., Foucaud-Scheunemann, C. 2004. *Leuconostoc*, characteristics, use in dairy technology and prospects in functional foods. *International Dairy Journal*, 14, 467-494.

Holland, R., Liu, S. Q. 2011. Lactic Acid Bacteria *Leuconostoc* spp. In: Fuquay, J. W. (ed.) *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*. San Diego: Academic Press.

Kanmani, P., Satish Kumar, R., Yuvaraj, N., Paari, K. A., Pattukumar, V., Arul, V. 2011. Production and purification of a novel exopolysaccharide from lactic acid bacterium *Streptococcus phocae* PI80 and its functional characteristics activity in vitro. *Bioresource Technology*, 102, 4827-4833.

Koca N and Metin M (2004) Textural, melting and sensory properties of low-fat fresh Kasar cheeses produced by using fat replacers. *International Dairy Journal*, 14, 365–373.

Laws, A. P., Marshall, V. M. 2001. The relevance of exopolysaccharides to the rheological properties in milk fermented with rropy strains of lactic acid bacteria. *International dairy Journal*, 1, 709-721.

Madigan, M. T., Martinko, J. M. 2006. Brock biology of microorganisms. 11th edition. Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River, USA. 992 p. ISBN: 0-13-144329-1.

Meyer, D., Bayarri, S., Tárrega, A., Costell, E. 2011. Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, 25, 1881-1890.

Periasamy, A., Shadiac, N., Amalraj, A., Garajová, S., Nagarajan, Y., Waters, S., D. T. Mertens, H., Hrmova, M. 2013. Cell-free protein synthesis of membrane (1,3)- β -D-glucan (curdlan) synthase: Co-translational insertion in liposomes and reconstitution in nanodiscs. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1828, 743-757.

Perry, D. B., McMahon, D. J., Oberg, C. J. 1997. Effect of exopolysaccharide-producing cultures on moisture retention in low fat mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 80 (5), 799-805.

Prasanna, P. H. P., Grandison, A.S., Charalampopoulos, D. 2014. Bifidobacteria in milk products: An overview of physiological and biochemical properties, exopolysaccharide production, selection criteria of milk products and health benefits. *Food research international*, 55, 247-262.

Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., Zoon, P. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. 2002. *International Dairy Journal*, 12, 163-171.

Şanlı, T., Gursel, A., Şanlı, E., Acar E., Benli, M. 2013. The effect of using an exopolysaccharide-producing culture on the physicochemical properties of low-fat and reduced-fat Kasar cheeses. *International Journal of Dairy Technology*, 66 (4), 535-542.

Sheng, L., Zhu, G., Tong, Q. 2014. Effect of uracil on pullulan production by *Aureobasidium pullulans* CGMCC1234. *Carbohydrate polymers*, 101, 435-437.

Singh, R. S., Kaur, N., Kennedy, J. F., 2015. Pullulan and pullulan derivatives as promising biomolecules for drug and gene targeting. *Carbohydrate Polymers*, 123, 190-207.

Sołowiej, B., Glibowski, P., Muszyński, S., Wydrych, J., Gawron, A., Jeliński, T. 2015. The effect of fat replacement by inulin on the physicochemical properties and microstructure of acid casein processed cheese analogues with added whey protein polymers. *Food Hydrocolloids*, 44, 1-11.

Srikanth, R., Reddy, Ch. S., Siddartha, G., Ramaiah, M. J., Uppuluri, K. B., 2015. Review on production, characterization and applications of microbial levan. *Carbohydrate polymers*, 120, 102-114.

Šilhánková, L. 2002. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. Academia. Praha. 364 s. ISBN: 802001024b.

Španová, A., Rittich, B., Kšicová, K., Dráb, V. 2009. Identifikace bakterií mléčného kvašení (významných v mlékárenském průmyslu) pomocí polymerasové řetězové reakce. Mlékařské listy 116. 12-15.

Vodrážka, Z. 2002. Biochemie. Akademie věd České republiky. Praha. 191 s. ISBN: 80-200-0438-6.

Votava a kol., M. 2004. Lékařská mikrobiologie obecná. Neptun. Brno. 454 s. ISBN: 80-902896-6-5.

Votava, M. 2001. Lékařská mikrobiologie obecná. Neptun. Brno. 247 s. ISBN: 80-902896-2-2.

Vyhláška číslo 336/2013 SB., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. 2013. Ministerstvo zemědělství. Praha. 5969 s.

Walstra, P., Wouters, J. T. M., Geurts, T. J. 2006. Dairy Science and Technology. 2nd ed. 4th part. Taylor & Francis Group. New York., p. 687-739. ISBN 0-8247-2763-0.

9 Seznam zkratk

BMK – bakterie mléčného kvašení

EPS – exopolysacharidy

EPS⁺ – produkující EPS

EPS⁻ – neprodukující EPS

HePS – heteropolysacharidy

HoPS – homopolysacharidy

MCA – koagulační aktivita syřidla

PS – polysacharidy

SEM – skenovací elektronová mikroskopie

10 Přílohy

Příloha 1: Obsah minoritních složek a fyzikálně-chemické parametry nestandardizovaného a odtučněného kravského mléka.

Příloha 1: Formulář pro sensorické hodnocení čerstvého sýru

10.1 Příloha 2: Obsah minoritních složek a fyzikálně-chemické parametry nestandardizovaného a odtučněného kravského mléka.

Příloha 2a: Složení minoritních složek nestandardizovaného a odtučněného kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 4 paralelních stanovení \pm směrodatná odchylka.

Vzorek	Kyselina citronová [% hm.]	Močovina [% hm.]	Volné mastné kyseliny [ml/10 l]
Nestandardizované mléko	0,14 \pm 0,00	0,03 \pm 0,00	4,03 \pm 0,48
Odtučněné mléko	0,15 \pm 0,00	0,04 \pm 0,00	1,18 \pm 0,35

Příloha 2b: Složení fyzikálně-chemických vlastností nestandardizovaného a odtučněného kravského mléka. Výsledky jsou uvedeny ve formě aritmetického průměru ze 4 paralelních stanovení \pm směrodatná odchylka.

Vzorek	Hustota [g/cm ³]	Kyselost [SH]	Bod mrznutí [-°C]
Nestandardizované mléko	1031,45 \pm 019	7,03 \pm 0,20	0,56 \pm 0,00
Odtučněné mléko	1034,95 \pm 017	6,92 \pm 14	0,54 \pm 0,00

Příloha 2: Formulář pro senzorické hodnocení čerstvého sýru.

Jméno: Datum hodnocení: Věk a pohlaví:

1. Zhodnoťte, prosím, vzhled a konzistenci sýra a porovnejte ji se standardem.

č. vzorku	vynikající	velmi dobrý	dosti dobrý	uspokojivý	ještě přijatelný	špatný, nepřijatelný	velmi špatný, odporný
-----------	------------	-------------	-------------	------------	------------------	----------------------	-----------------------

Nalezené vady: nehomogenost, odlučování syrovátky, odlučování tuku, výskyt trhlinek a případně jiné

2. Zhodnoťte, prosím, vůni sýra a porovnejte ji se standardem.

č. vzorku	velmi silná	dost silná	silná	středně intenzivní	slabá	velmi slabá	neznatelná
-----------	-------------	------------	-------	--------------------	-------	-------------	------------

Vzorky vložte do úst, ochutnejte a zaškrtněte odpovídající intenzitu čerstvého sýra a porovnejte se standardem.

3. Zhodnoťte, prosím, tuhost sýra a porovnejte ji se standardem.

	velmi měkká	měkká	středně měkká	středně tuhá	mírně tužší	tuhá	velmi tuhý
--	-------------	-------	---------------	--------------	-------------	------	------------

4. Zhodnoťte, prosím, gumovitost sýra a porovnejte ji se standardem.

č. vzorku	velmi silná	dost silná	silná	středně intenzivní	slabá	velmi slabá	neznatelná
-----------	-------------	------------	-------	--------------------	-------	-------------	------------

5. Zhodnoťte, prosím, adhezivitu (přilnavost) sýra a porovnejte ji se standardem.

č. vzorku	velmi silná	dost silná	silná	středně intenzivní	slabá	velmi slabá	neznatelná
-----------	-------------	------------	-------	--------------------	-------	-------------	------------

6. Zhodnoťte, prosím, homogenost sýra v ústech a porovnejte ji se standardem.

č. vzorku	homogenní <i>hladká</i>	slabě nehomogenní <i>slabě moučnatá</i>	mírně nehomogenní <i>znatelně moučnatá</i>	znatelně nehomogenní <i>krupičkovitá</i>	silně nehomogenní <i>slabě písčitá</i>	dosti nehomogenní <i>písčitá</i>	velmi nehomogenní <i>hrudkovitá</i>
-----------	----------------------------	--	---	---	---	-------------------------------------	--

7. Zhodnoťte, celkovou konzistenci sýra a porovnejte ji se standardem.

	vynikající	velmi dobrá	dosti dobrá	uspokojivá	ještě přijatelná	špatná	velmi špatná
--	------------	-------------	-------------	------------	------------------	--------	--------------

Nalezené vady: nehomogenost, odlučování syrovátky, odlučování tuku, výskyt trhlinek a případně jiné

.....

8. Zhodnoťte, prosím, suchost sýra a porovnejte ji se standardem.

č. vzorku	extrémně suchý	velmi suchý	suchý	dost suchý	středně suchý	mírně suchý	neznatelně suchý
-----------	----------------	-------------	-------	------------	---------------	-------------	------------------

9. Zhodnoťte, prosím celkovou příjemnost chuti a porovnejte ji se standardem.

	vynikající	velmi dobrá	dosti dobrá	uspokojivá	ještě přijatelná	špatná	velmi špatná
--	------------	-------------	-------------	------------	------------------	--------	--------------