

Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních
zdrojů**

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Optimalizace výroby a hodnocení kvality
fermentovaných masných výrobků**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Romana Korandová

Obor studia: Kvalita a zpracování zemědělských produktů

Vedoucí práce: Ing. Daniel Bureš, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Optimalizace výroby a hodnocení kvality fermentovaných masných výrobků" jsem vypracoval(a) samostatně pod vedením vedoucího diplomové 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 diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 24.7.2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu diplomové práce, Ing. Danielu Burešovi, Ph.D. za vstřícnost, ochotu a odborné vedení při zpracování této diplomové práce. Dále bych chtěla moc poděkovat doc. Ing. Rudolfu Šefčíkovi, Ph.D. a celému jeho týmu za odborné vedení, praktické rady a čas a v neposlední řadě paní Ing. Aleně Kolkopové za podporu při přípravě a zpracování diplomové práce.

Optimalizace výroby a hodnocení kvality fermentovaných masných výrobků

Souhrn

Diplomová práce je zaměřena na problematiku produkce trvanlivých fermentovaných masných výrobků. Konkrétně na hodnocení použití rozdílných startovacích kultur, u kterých byl sledován vliv na průběh fermentace a zrání a sensorické parametry konečného produktu. Trvanlivé fermentované masné produkty jsou výrobky u kterých je mikrobiální stabilita zaručena kombinací několika konzervačních zákroků. Princip působení konzervačních zákroků, kterými je zaručena stabilita produktu se označuje jako překážkový nebo bariérový efekt. Zákroky, které se podílejí na překážkovém efektu v případě trvanlivých fermentovaných masných výrobků jsou zejména snížení aktivity vody, snížení pH, obsah soli a dusitanu sodného přítomnost fytoncidních látek v koření a působení konkurenční mikroflóry ve formě startovací kultury. Startovací kultura nepůsobí jen jako přímý konkurent, ale podílí se na potlačení patogenní a kazící mikroflóry také produkcí antimikrobiálních látek. Hlavní antimikrobiální látkou, kterou startovací kultury produkují je kyselina mléčná, která se podílí na snižování pH a aktivity vody finálního produktu.

Cílem této diplomové práce bylo na základě výsledků vybraných fyzikálních a organoleptických parametrů zhodnotit využití původně používané startovací kultury a její porovnání s inovovanými startovacími kulturami lišícími se složením. Hodnocení startovacích kultur probíhalo na komerčně připravovaných vzorcích. V rámci diplomové práce byly vybrány a připraveny dva druhy fermentovaných masných výrobků, a to Brdská klobása a salám Třemšín. Příprava vzorků masných výrobků probíhala v provozních podmínkách společnosti Uzeniny Příbram a.s.

U masných výrobků bylo hodnoceno pH, aktivita vody, obsah sušiny a tuku v průběhu zrání. Dle sledování těchto parametrů nebyl mezi tradičně používanou a inovovanou startovací kulturou shledán signifikantní rozdíl.

V rámci této práce byl dále porovnán vliv standartně používané startovací kultury a inovované startovací kultury. Při sensorickém hodnocení byla hodnocena barva, vůně, textura, chuť a celkový vzhled. Inovovaná startovací kultura měla pozitivní vliv na některé organoleptické parametry a byla panelem hodnotitelů v určitých deskriptorech preferována. Zejména byl prokázán pozitivní vliv inovovaných startovacích kultur na konečnou chuť výrobku.

Klíčová slova: fermentovaný masný výrobek, překážkový efekt, startovací kultura, sensorická analýza, aktivita vody

Production optimization and quality evaluation of fermented meat products

Summary

The master thesis is focused on the production of fermented meat products. Specifically, on the evaluation of the use of different starter cultures, in which the impact on the process of fermentation and maturation and sensory parameters of the final product were monitored. Fermented meat products are products for which microbial stability is guaranteed thanks to a combination of several preservatives. The principle of preservatives technics, which guarantee the stability of the product, is called hurdle or barrier effect. The technics that contribute to the hurdle effect in the case of fermented meat products are in particular the reduction of water activity, lowering of pH, salt and sodium nitrite content, the presence of phytoncidal substances in spices and the effect of competing microflora in the form of starter culture. The starter culture is not only a direct competitor, but also contributes to the suppression of pathogenic and spoiling microflora by the production of antimicrobial compounds. The main antimicrobial compound produced by starter cultures is lactic acid, which is involved in lowering the pH and water activity of the final product.

The goal of this master thesis was to evaluate the use of the originally used starter culture and its comparison with innovated starter cultures differed in composition, based on the results of selected physical and organoleptic parameters. Evaluation of starter cultures was performed on commercially prepared samples. In this master thesis, two types of fermented meat products were selected and prepared, namely Brdká sausage and Třemšín salami. The meat samples were produced in the company Uzeniny Příbram a.s.

At the meat products, pH, water activity, dry matter and fat content during maturation were evaluated. According to the monitoring of these parameters, no significant difference was found between the traditionally used and innovated starter culture.

In this master thesis, the influence of the standardly used starter culture and the innovated starter culture was further compared. Color, smell, texture, taste and overall appearance were evaluated during sensory evaluation. The innovated starter culture had a positive effect on some organoleptic parameters and was preferred by the panel of evaluators in certain descriptors. In particular, the positive effect of innovated starter cultures on the final taste of the product has been demonstrated.

Keywords: Fermented meat product, hurdle effect, starter culture, sensory analysis, water activity

Obsah

1	Úvod.....	12
2	Cíl práce	13
3	Literární rešerše	14
3.1	Historie	14
3.2	Rozdělení TFMV	14
3.2.1	TFMV středomořského stylu.....	15
3.2.2	TFMV severního stylu.....	15
3.3	Konzervace kombinací konzervačních technik	15
3.3.1	Překážková teorie	16
3.3.1.1	Aktivita vody.....	17
3.3.1.2	Hodnota pH	17
3.3.1.3	Konkurenční bakteriální mikroflóra.....	17
3.4	Technologie výroby TFMV.....	18
3.4.1	Suroviny a přísady pro výrobu TFMV	19
3.4.1.1	Maso.....	19
3.4.1.2	Sádlo.....	19
3.4.1.3	Dusitanová solící směs	20
3.4.1.4	Koření.....	20
3.4.1.5	Sacharidy.....	21
3.4.1.6	Ostatní aditiva	21
3.4.1.7	Obaly	22
3.4.2	Technologie výrobního procesu TFMV	23
3.4.2.1	Příprava díla	23
3.4.2.2	Plnění	23
3.4.2.3	Uzení	24
3.4.2.4	Sušení (zrání)	25
3.4.2.5	Procesy probíhající v průběhu fermentace a zrání	25
3.4.2.6	Balení a skladování	26
3.5	Mikrobiální rizika při výrobě TFMV	27
3.6	Startovací kultury.....	27
3.6.1	Historie startovacích kultur	28
3.6.2	Základní funkce a vlastnosti.....	28
3.6.3	Vliv startovacích kultur na chuť, struktura a barvu.....	29
3.6.3.1	Vliv na chuť	29
3.6.3.2	Vliv na texturu.....	29
3.6.3.3	Vliv na barvu.....	29

3.6.4	Složení mikrobiálních kultur	30
3.6.4.1	Bakterie mléčného kvašení (BMK).....	30
3.6.4.2	Katalázově pozitivní koky.....	31
3.6.4.3	Mikroorganismy pro povrchové pokrytí	31
3.6.5	Bioprotekce startovacích kultur.....	32
3.6.6	Parametry výběru startovacích kultur.....	33
3.6.7	Fermentované masné výrobky jako funkční potravina.....	33
3.7	Senzorická analýza	34
4	Materiál a metodika	36
4.1	Výroba	36
4.1.1	Seznam použitých surovin.....	36
4.1.2	Postup přípravy Brdské klobásy a Třemšínu.....	37
4.2	Metodika senzorického hodnocení.....	40
4.2.1	Senzorická analýza	40
4.2.1.1	Zkušební místnost	40
4.2.1.2	Vybavení kóje	40
4.2.1.3	Příprava a podávání vzorků.....	40
4.2.1.4	Vlastní hodnocení.....	41
4.3	Metodika fyzikálně–chemické analýzy	41
4.3.1	Stanovení pH.....	41
4.3.2	Stanovení a_w	42
4.3.3	Stanovení sušiny.....	42
4.3.4	Stanovení tuku.....	42
4.3.5	Měření sorpčních izoterem.....	43
4.4	Metodika prověření účinnosti startovacích kulturovení (měření velikosti inhibičních zón)	44
4.5	Metodika statistického vyhodnocení senzorické analýzy	44
5	Výsledky	45
5.1	Výsledky senzorického hodnocení.....	45
5.1.1	Výsledky senzorického hodnocení Brdské klobásy	45
5.1.2	Výsledky senzorického hodnocení salámu Třemšín.....	46
5.2	Výsledky fyzikálně-chemické analýzy	47
5.2.1	Stanovení pH.....	47
5.2.2	Stanovení aktivity vody.....	50
5.2.3	Stanovení sušiny.....	52
5.2.4	Stanovení obsahu tuku.....	54
5.2.5	Stanovení sorpční izotermy	55
5.3	Stanovení účinnosti startovacích kultur	58
6	Diskuze	59
6.1	Fyzikálně chemická analýza	59

6.1.1	pH.....	59
6.1.2	Aktivita vody.....	59
6.1.3	Sušina	60
6.1.4	Tuk.....	60
6.1.5	Sorpční izoterma.....	60
6.2	Účinnost startovacích kultur proti <i>L. innocua</i>.....	61
6.3	Senzorické hodnocení.....	61
6.3.1	Senzorické hodnocení Brdské klobásy	61
6.3.2	Senzorické hodnocení salámu Třemšín	63
7	Závěr.....	65
8	Literatura	66
9	Samostatné přílohy.....	I

Seznam grafů

Graf 1 – Pavučinový graf senzorických profilů vzorků Brdské klobásy	46
Graf 2 - Pavučinový graf senzorických profilů vzorků salámu Třemšín.....	47
Graf 5 - Změna pH během výrobního procesu Brdské klobásy u setu 2	48
Graf 6 - Změna pH během výrobního procesu Brdské klobásy u setu 1	48
Graf 7 - Změna pH během výrobního procesu salámu Třemšín u setu 2	49
Graf 8 - Změna pH během výrobního procesu salámu Třemšín u setu 1	49
Graf 9 - Změna aktivity vody během výrobního procesu Brdské klobásy u setu 1.....	50
Graf 10 - Změna aktivity vody během výrobního procesu Brdské klobásy u setu 2.....	50
Graf 11 - Změna aktivity vody během výrobního procesu salámu Třemšín u setu 2.....	51
Graf 12 - Změna aktivity vody během výrobního procesu salámu Třemšín u setu 1	51
Graf 13 - Změna obsahu sušiny během výrobního procesu Brdské klobásy u setu 2	52
Graf 14 - Změna obsahu sušiny během výrobního procesu Brdské klobásy u setu 1	52
Graf 15 - Změna obsahu sušiny během výrobního procesu salámu Třemšín u setu 2 ...	53
Graf 16 - Změna obsahu sušiny během výrobního procesu salámu Třemšín u setu 1 ...	53
Graf 15 - Změna obsahu tuku během výrobního procesu Brdské klobásy	54
Graf 16 - Změna obsahu tuku během výrobního procesu salámu Třemšín	55
Graf 17 - Průběh sorpční izotermy u vzorku Brdské klobásy.....	56
Graf 18 - Průběh sorpční izotermy u vzorku salámu Třemšín.....	57

Seznam tabulek

Tabulka 1 – Procesy a nastavení komor u Brdské klobásy.....	37
Tabulka 2 – Procesy a nastavení komor u salámu Třemšín.....	38
Tabulka 3 - Použité receptury u klobásy Brdská	38
Tabulka 4 - Použité receptury u salámu Třemšín	38
Tabulka 5 - Popis deskriptorů pro senzorické hodnocení.....	41
Tabulka 6 - Výsledné hodnoty senzorického hodnocení u Brdské klobásy	45
Tabulka 7 - Výsledné hodnoty senzorického hodnocení u salámu Třemšín	47
Tabulka 8 - Výsledné hodnoty měření pH brdské klobásy.....	48
Tabulka 9 - Výsledné hodnoty měření pH salámu Třemšín	49
Tabulka 10 - Výsledné hodnoty měření aktivity vody u Brdské klobásy.....	50
Tabulka 11 - Výsledné hodnoty měření aktivity vody u salámu Třemšín.....	51
Tabulka 12 - Výsledné hodnoty měření obsahu sušiny u Brdské klobásy	52
Tabulka 13 - Výsledné hodnoty měření obsahu sušiny u salámu Třemšín	53
Tabulka 14 - Výsledné hodnoty měření obsahu tuku u brdské klobásy	54
Tabulka 15 - Výsledné hodnoty měření obsahu tuku u salámu Třemšín.....	55
Tabulka 16 - Koeficienty DLP modelu u vzorku Brdské klobásy.....	56
Tabulka 17 - Koeficienty GAB modelu u vzorku Brdské klobásy.....	56
Tabulka 18 - Koeficienty DLP modelu u vzorku salámu Třemšín.....	57
Tabulka 19 - Koeficienty GAB modelu vzorku salámu Třemšín.....	57
Tabulka 20 - Průměrné velikosti inhibičních zón startovacích kultur	58

Seznam obrázků

Obrázek 1 - Použití překážek pro mikrobiální stabilitu TFMV (Kameník, 2011)	16
Obrázek 2 - Obecný postup výroby TFMV (Kameník, 2011).....	18
Obrázek 3 - Sekačka masa	39
Obrázek 4 - Míchání díla v kutru	39
Obrázek 5 - Připravené dílo Brdské klobásy v kutru	39
Obrázek 6 - Narážení díla	39
Obrázek 7 - Vyndávání díla	39
Obrázek 8 - Zrání v komoře salámu Třemšín	39
Obrázek 9 - Navěšená Brdská klobása na udírenském koši	39
Obrázek 10 - Průběh senzorického hodnocení slámu Třemšín.....	40
Obrázek 11 - Hodnocení celkového vzhledu Brdské klobásy	62
Obrázek 12 - Hodnocení vzhledu na řezu Brdské klobásy	62
Obrázek 13 - Hodnocení konzistence u salámu Třemšín	64

1 Úvod

Trvanlivé fermentované masné výrobky (TFMV) nejsou během technologického procesu vystaveny tepelnému ošetření, ale i přesto patří mezi produkty, které jsou stabilní, a navíc u nich není nutné skladování při chladírenských teplotách. Právě tato vlastnost společně s dlouhou trvanlivostí a sensorickými vlastnostmi jsou důvodem oblíbenosti u spotřebitelů.

Výroba TFMV je vzhledem k tomu, že neprochází tepelným ošetřením velmi náročná, a to díky požadavkům na hygienu prostředí, nízkou mikrobiální kontaminaci vstupních surovin, technologickou náročnost celé výroby a také díky časové náročnosti výroby. Údržnosti je dosahováno především nízkou aktivitou vody a snížením hodnoty pH. Samozřejmě mají vliv na trvanlivost i další faktory jako je například použití dusitanové solící směsi a přídavek startovacích kultur.

Kvalita TFMV úzce souvisí s procesem fermentace a zrání, který dodává produktu barvu, chuť, aroma a stabilizuje jejich údržnosti. Tyto vlastnosti jsou výsledkem mikrobiologických, biochemických, fyzikálněchemických změn během zrání za definovaných podmínek teploty a relativní vlhkosti vzduchu. K zajištění procesu fermentace se dříve využívalo spontánní fermentace působením přirozeně se vyskytujících mikroorganismů. Dnes se v průmyslových procesech se k zajištění fermentačních procesů využívají směsi mikroorganismů, které jsou označovány jako startovací kultura (Leroy et al., 2006).

Biokonzervace (cenoanabiosa) je důležitý technologický krok vedoucí k zachování mikrobiologické kvality a bezpečnosti trvanlivých fermentovaných masných produktů. K mikrobiální stabilizaci pomocí cenoanabiosy slouží například použití bakterií mléčného kvašení s jejich antibakteriálními vlastnostmi, jako je produkce kyseliny mléčné a bakteriocinů. Kromě prodloužení doby trvanlivosti bakteriociny také snižují riziko nárůstu patogenních mikroorganismů. Využití cenoanabiosy umožňuje snížení používání běžně využívaných konzervačních látek. V poslední době se používají startovací kultury nepopisuje jen díky produkci antimikrobiálních látek, ale hodnotí se také jejich pozitivní funkční hodnota v důsledku jejich probiotických vlastností. Tyto vlastnosti nejsou popisovány jen u výrobků z mléka a zeleniny, ale i u fermentovaných masných výrobků. Trvanlivé fermentované masné výrobky jsou většinou definovány jako směs mletého libového masa, tuku, soli (dusitanové solící směsi), cukru, koření a startovací kultury, která je naražena do obalu a podrobena procesům fermentace a sušení (Leroy et al., 2006).

2 Cíl práce

Cílem této diplomové práce bylo zhodnotit změny kvalitativních parametrů u vybraných trvanlivých fermentovaných masných výrobků během procesů fermentace, zrání, sušení a distribuce k zákazníkovi. V literární rešerši bylo cílem zpracovat problematiku výroby trvanlivých fermentovaných masných výrobků, zhodnotit jednotlivé technologické procesy a zhodnotit využívání startovacích kultur. V praktické části bylo cílem porovnání použití stávajících a inovovaných startovacích kultur na průběh fermentace, sušení a zrání u dvou typů produktů (Brdská klobása a salám Třemšín) pomocí měření pH, změny vodní aktivity, obsahu vody a tuku, průběhu sorpčních izoterm a senzorického hodnocení finálních výrobků.

Hypotéza

Nové druhy startovacích kultur přidávané do fermentovaných masných výrobků budou ve srovnání se stávajícími a komerčně využívanými pozitivně působit na vybrané fyzikální a organoleptické parametry.

3 Literární rešerše

3.1 Historie

Výroba uzenin začala před mnoha tisíci lety a je to i dnes rostoucím odvětvím masného průmyslu. Zatímco některé jeho základní postupy jsou téměř stejně staré jako lidská civilizace, průmyslové zpracování, stále přijímá nové postupy získané díky vývoji v oblasti vědy a prohlubování technických znalostí (Vandendriessche, 2008).

Tradiční metody konzervace masa jsou sušení, solení a fermentace. Poslední uvedený proces lze vysledovat už v Babylonii a byl praktikován v Asii a Evropě. Většina fermentovaných masných produktů konzumovaných v Evropě má svůj původ v oblasti středomoří, odkud se rozšířilo velké množství jejich typů. Fermentace masných výrobků je tradiční metoda vedoucí k jejich uchování a takto připravené masné výrobky jsou známy a konzumovány od starověku (Hammes et al., 1990). Popis takovýchto druhů výrobků byl nalezen ve starořeckých, římských, a dokonce i babylonských knihách. Říká se, že úspěch římské armády v dobývání byl i díky znalostem konzervace masa (produkce sušených šunek a fermentovaných klobás), díky čemuž byla armáda zásobena i na velké vzdálenosti (Vandendriessche, 2008).

Technologie konzervace pomocí poklesu aktivity vody v kombinaci se snížením pH lze považovat za nejstarší technologie. Snížení aktivity vody lze dosáhnout solením nebo sušením. Historicky probíhalo sušení na vzduchu a solení bylo dosaženo pomocí ponoření do solného roztoku nebo nanesením hrubé soli na povrch masa. Pokud došlo k fermentaci, bylo to hlavně díky organismům přirozeně přítomným v mase (Vandendriessche, 2008).

Moderní slovo „klobása“ je odvozeno z latinského slova „salsus“, což znamená solené. Termín byl pravděpodobně původně používán ve spojení s uzeným a soleným masem. V pozdějších dobách, kdy lidé ještě nemohli používat chlazení masa se pro jeho uchování, začali vyrábět různé klobásy jako řešení tohoto problému (Erkmen et Bozoğlu, 2016).

Dnes tvoří v zemích Evropské Unie fermentované masné výrobky 20 – 40 % z celkového počtu zpracovaného masa. Největší oblibu si tyto produkty zachovávají v Itálii spolu s Německem a Španělskem, kde se vyrábí široká škála fermentovaných masných výrobků. V některých případech jsou tyto výrobky vzhledem ke své specifčnosti výrobního procesu chráněny registrací označení původu (Di Cagno et al., 2008).

Fermentované klobásy jsou definovány jako směs mletého libového masa, tuku, soli (dusitanové solící směsi), cukru, startovací kultury a koření, která je naražena do obalu a podrobena fermentaci a sušení. Trvanlivé fermentované masné výrobky jsou stabilní (bez chlazení) a běžně se spotřebovávají bez použití jakéhokoli tepelného procesu (Hammes et al., 1990; Leroy et al., 2006).

3.2 Rozdělení TFMV

Trvanlivé fermentované masné výrobky (TFMV) můžeme dělit podle několika hledisek (hodnoty pH finálního výrobku, typu fermentace, typu struktury, povrchu výrobku, tj. přítomností nebo absencí plísně) (Steinhauser, 1995). Npříklad Flores (1997) vytvořil

pojmy „severní evropská technologie“ a „středomořská technologie“. Díky tomu lze dnes obvykle trvanlivé fermentované masné výrobky rozdělit do dvou skupin: TFMV středomořského stylu a TFMV severního stylu.

3.2.1 TFMV středomořského stylu

Tento typ se vyrábí ve středomořském regionu Evropy po staletí. Klimatické podmínky a vyšší teploty vzduchu zde tvoří optimální podmínky pro správný průběh sušení. Produkty jsou často charakterizovány růstem povrchových plísní, místní podmínky nebyly vhodné pro použití ohně (tedy kouře) a povrch neuzených produktů byl přirozeně kolonizován plísněmi, jejichž bílé až šedobílé mycelium tvoří vzhled typický pro tento typ produktů (Kameník, 2017).

Proces výroby středomořských uzenin je pomalejší a vede k výrobkům s nízkou konečnou vodní aktivitou a dlouhou skladovatelností při vysokých teplotách, zatímco hodnoty pH po fermentaci se obvykle pohybují mezi 5,0 – 5,3 a během následného sušení a zrání se postupně zvyšují, zejména pokud na povrchu rostou plísně a kvasinky (Lücke, 2017).

3.2.2 TFMV severního stylu

Výrobky v severním stylu mají nižší hodnoty pH (obvykle pod 5,0 díky fermentaci) a jsou uzené. Tento způsob je běžnější v regionech, kde klimatické podmínky nejsou pro sušení na vzduchu příhodné, např. v mořských a horských oblastech s velkým množstvím srážek a tam, kde je dostatek dřeva (Holck et al., 2015). Venkovní teploty vzduchu v severnějších zemích jsou nižší, proto byl vzduch ohříván v přirozených sušárnách pomocí ohně a kromě tepla se při spalování dřeva uvolňoval také kouř, proto se historicky fermentované výrobky severního stylu udily (Kameník, 2017).

Tento typ výrobků je velmi populární v severní Evropě a Spojených státech. V závislosti na průměru produktu zraje 7 až 28 dní a jsou méně intenzivně sušeny, čímž získávají kyselou, slanou, méně výraznou chuť a jemnější strukturu (Houben et van't Hooft, 2005). Pro tuto skupinu výrobků je charakteristický přídavek sacharidů (0,5 % a více), přídavek tzv. startovacích kultur a vyšších teplot fermentace (20 – 27 °C) (Lücke, 2017).

3.3 Konzervace kombinací konzervačních technik

Výroba TFMV je proces konzervace syrového masa. Po usmrcení zvířete je maso stále živý materiál, ve kterém dochází k bohatým enzymatickým reakcím a změnám. Řada dějů je při výrobě žádoucí a jiným se snažíme zabránit (Buckenhüskes, 1993). K řízení růstu mikroorganismů se používá mnoho metod konzervování potravin. Některé z faktorů používaných při konzervování potravin jsou:

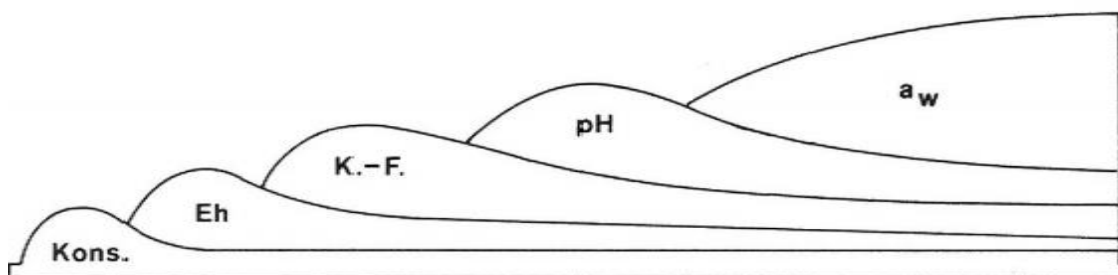
- teplota
- aktivita vody (a_w)
- pH
- oxidačně-redukční (Eh)
- konzervační látky (Kameník, 2017).

3.3.1 Překážková teorie

Kombinace překážek pro uchování potravin je synergický přístup ke konzervování označovaný jako překážkový efekt (bariérová teorie). Kombinace překážek vede k metabolickému vyčerpání a narušení buněčné homeostázy, čímž dochází ke kontrole mikrobiální populace v produktu. Tato technologie je využívána během celého procesu zpracování až po balení a skladování masných výrobků. Zařazení více překážek v různých procesních krocích vede k dosažení mikrobiální bezpečnosti a účinnému zachování kvality masných výrobků (Gragg et Brashears, 2014). Znalosti teorie se dnes využívají k výrobě nových produktů a ke snižování energeticky náročných překážek jako je chlazení nebo použití chemických konzervačních látek (tj. dusitanů) (Muñoz et al., 2007).

Teorii překážek sestavili roku 1976 Leistner a Rödel, mezi něž se řadí:

- konzervační prostředky – dusitanová solící směs (kons.)
- redoxní potenciál (Eh)
- bakteriální mikroflóra (K. – F.)
- aktivita vody (a_w)
- pH (Kameník, 2011).



Obrázek 1 - Použití překážek pro mikrobiální stabilitu TFMV (Kameník, 2011)

První překážku tvoří do díla přidávána dusitanová solící směs (značena na obrázku jako „Kons.“). Dusitanovou solící směs tvoří chlorid sodný (jedlá sůl), který snižuje počáteční a_w masa z 0,98 na 0,96–0,97 a jeho vysoká hladina také inhibuje různé saprofytické a patogenní bakterie. Dále nejčastěji používaná složka dusitanové solící směsi je dusitan sodný, který se uplatňuje bakteriostaticky a bakteriocidně proti patogenním mikroorganismům (Majou et Christiesans, 2018).

Jako další překážka se uplatňuje redoxpotenciál (hodnota Eh). Hodnota Eh je do značné míry závislá na chemickém složení a obsahu vzdušného kyslíku v potravine, jakož i na hodnotě pH. Snižováním hodnoty Eh se snižuje schopnost růstu aerobních bakterií. Snižování hodnoty lze dosáhnout přidáním redukčních činidel, jako je kyselina askorbová/ askorbátu sodného nebo působením vakua během výroby produktu (Feiner, 2016). K dalšímu poklesu hodnoty Eh dochází během fermentace a klesání hodnoty pH, kdy se množí mikroorganismy, především bakterie mléčného kvašení. Tímto množstvím se objevují další překážky. Jednak jde o kompetitivní působení konkurenční mikroflóry a spolu s ním i produkce antimikrobiálních látek (K.-F.). Vznikající kyselina mléčná snižuje hodnotu pH, což je další velmi podstatná

a účinná bariéra, zejména při technologii s přidavkem startovacích kultur a sacharidů (hodnota pH). Při procesu zrání začíná nastupovat jedna z nejdůležitějších překážek, a to pokles hodnot vodní aktivity (hodnota a_w) (Kameník, 2011).

3.3.1.1 Aktivita vody

Čerstvé maso vykazuje a_w kolem 0,98, což znamená že kolem 98 % celkové vody v masu je ve formě volné vody a dostupné pro bakterie, proto je tento parametr důležitý ukazatel při sledování zdravotní nezávadnosti potravin. Správně vysušený výrobek po ztrátě asi 25 – 50 % hmotnosti během fermentace a a sušení vykazuje $a_w \leq 0,90$. Navzdory skutečnosti, že hodnota a_w se může zdát stále vysoká, lze považovat výrobek na takové úrovni stabilní při nechlazeném skladování, vzhledem k tomu, že škodlivé mikroorganismy, jako je *Staphylococcus aureus* a *Salmonella spp.* neprodukují při těchto hodnotách toxiny. Hodnotu a_w lze snížit vlivem sušení (odebrání vody), přidáním cukru nebo soli (navázání vody přes ionty), přidáním tuku nebo vymražením (imobilizace vody) (Feiner, 2016). Při snižování a_w platí, že nejdříve zastavují svoji činnost bakterie, pak kvasinky a nakonec plísně. Legislativní limit a_w pro TFMV je stanoven na $a_{w(max)}$ 0,93 (Bláhová, 2011).

3.3.1.2 Hodnota pH

Obecně mají bakterie jako přijatelný rozsah pH 3,0 – 8,0, pro kvasinky se rozsah zužuje na pH 3,0 – 6,0 a pro plísně je optimum 3,0 – 7,0 (Shuler et Kargi, 2002). Při fermentačních procesech se pH může během mikrobiálního růstu a tvorby produktů měnit. Rozsah a rychlost poklesu pH lze ovládat v závislosti na druhu a množství přidávaných cukrů, startovací kultury a teplotě. Hodnota pH je důležitá hlavně u TFMV s krátkou dobou zrání a s vyšším obsahem vody (vyšší hodnota a_w), kde se hodnota pH pohybuje kolem 5,2. Naopak u výrobku s delší dobou zrání a nižším obsahem vody (nižší a_w) se hodnota pH pohybuje v rozmezí 5,8 – 6,0 (Buckenhüskes, 1993).

Nízké pH je důležité pro mikrobiologickou bezpečnost a stabilitu TFMV. Snížení pH také sníží vazebné vlastnosti masa a tím zkrátí dobu sušení. Snížení pH pramení ze vzniku kyseliny mléčné bakteriemi startovací kultury. Nízká hodnota pH zvyšuje množství nedisociované formy kyseliny mléčné, která může pronikat přes buněčné membrány a okyselovat vnitřní prostředí buňky. Další rychlý způsob snížení pH je pomocí gluko-delta-laktonu (GdL) (Holck et al., 2011).

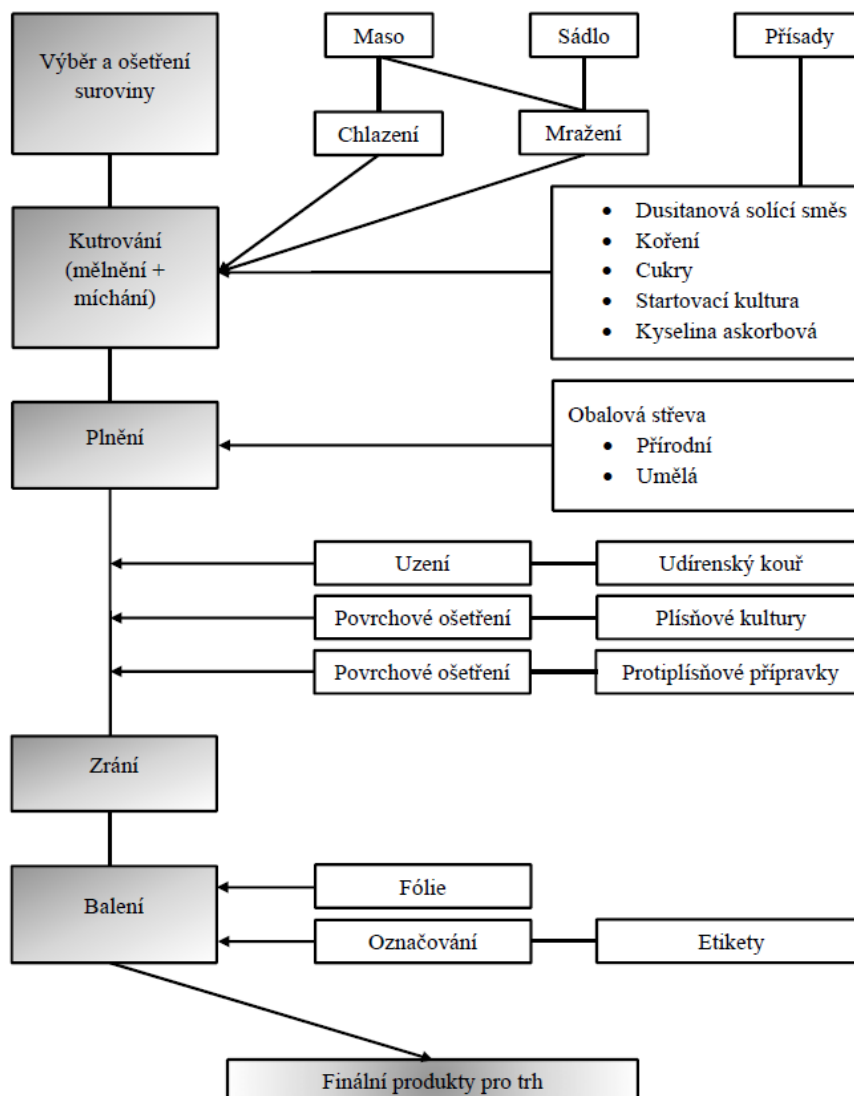
3.3.1.3 Konkurenční bakteriální mikroflóra

Startovací kultura se obvykle velmi rychle přizpůsobí prostředí, a proto je silný konkurent ve využívání živin. Kromě toho bakterie mléčného kvašení způsobují rychlý pokles pH produkcí kyseliny mléčné (Gálvez et al., 2007). A také produkuje další bakteriocidní/ bakteriostatické sloučeniny, jako je peroxid vodíku, oxid uhličitý, diacetyl a bakteriociny (Ammor et al., 2006). Některé bakterie mléčného kvašení používané jako startovací kultury mají schopnost redukovat antibakteriální peptidy zvané bakteriociny. Mnohé z těchto sloučenin jsou schopny zabít konkurenční bakterie vytvářením pórů v cytoplazmatické membráně a podporují lýzu buněčných stěn, což způsobuje uvolňování

metabolitů a kolaps buňky. Bylo zjištěno, že tyto antimikrobiální látky jsou účinnější proti grampozitivním bakteriím (Montville et al., 1995; Työppönen et al. 2003).

3.4 Technologie výroby TFMV

Obecný postup výroby fermentovaných masných výrobků je znázorněn na obrázku 2. Maso je krájeno nebo mleto na vhodné kousky, ochuceno a jsou přidány další přísady. V této fázi dochází i k přidávku startovacích kultur a sacharidů. Pokud by poslední zmíněné ingredience nebyly přidány, docházelo by stále ke spontánní fermentaci (Ojha et al., 2015). Po naražení výrobky mírně zahříváme na teploty obvykle mezi 15 °C a 22 °C, případně až na 26 °C, což zvyhodňuje růst mikroorganismů zahrnutých do startovacích kultur. Po tomto počátečním stádiu fermentace se udržují po dobu několika dnů až týdnů v podmínkách s regulovanou teplotou a relativní vlhkostí, dokud není dosaženo požadovaných parametrů aktivity vody (a_w) (García-Diéz et Patarata, 2017).



Obrázek 2 - Obecný postup výroby TFMV (Kameník, 2011)

3.4.1 Suroviny a přísady pro výrobu TFMV

3.4.1.1 Maso

Nejčastěji se zpracovává vepřové maso, které může být smícháno s hovězím masem. Lze použít i jiné druhy jako je jehněčí, kozí, koňské anebo oslí. Složení masa se liší podle anatomické partie a věku zvířete, přičemž výhodné je maso od dospělých zvířat s pevným tukem, které má vysokou teplotu tání a nízký obsah polynenasyceným mastných kyselin (PUFA). Maso starších zvířat má nižší obsah vody a vyšší obsah tuku, což příznivě podporuje sušení a má vyšší obsah myoglobinu důležitého pro barvu produktu (Heinz et Hautzinger, 2007).

Klíčem úspěšné výroby fermentovaných masných výrobků je kvalita masa. Maso by mělo být vynikající mikrobiologické kvality se správným průběhem zrání, tzn. pH₂₄ u hovězího masa by nemělo být větší než 5,8, u vepřového pak 6,0 (Pipek, 1998). Maximální podíl DFD (Dark, Firm, Dry) a PSE (Pale, Soft, Exudative) masa při výrobě by neměl přesáhnout 20 %, ale většinou v praxi nemají velký význam, protože se díky zpracování masa pocházejících od více zvířat odchylky vyrovnají (Steinhauser, 1995). Důležitější je sledování a kontrola mikrobiologické kontaminace, kde by celkový počet kontaminující mikroflóry měl být menší než 10⁵ KTJ v 1 g pro aerobní a fakultativně anaerobní mikroorganismy, optimálně v rozmezí 10² až 10³ KTJ v 1 g a maso by nemělo být skladováno při mrazírenském uchování při -18 °C až -20 °C déle než 8 až 12 měsíců (Feiner, 2006). Vysoké vstupní počty saprofytické mikroflóry by mohly vést k znesnadnění přístupu živin pro bakterie ze startovacích kultur, což by zapříčinilo, že se fermentace může ubírat nežádoucím směrem (Kameník, 2011).

V dnešní době je trendem produkce prasat s nižším obsahem tuku, aby to uspokojilo poptávku spotřebitele po velmi libovém a křehkém masu. Toto maso je nedostatečné pro výrobu sušených výrobků, protože jakmile je kinetika sušení velmi rychlá, tak nízké množství tuku ohrožuje šťavnatost a chuť produktu. U takových výrobků se očekává i světlejší barva (Toldrá et Reig, 2007).

3.4.1.2 Sádlo

TFMV jsou masné výrobky s vysokým obsahem tuku a do výrobku je přidáván v množství kolem 30 %. V důsledku sušení se zvýší podíl tuku až na 40 – 50 %. Tuk přispívá k chuti, struktuře, šťavnatosti a mazlavosti, které určují kvalitu a přijatelnost TFMV. Tuk má i technologickou funkci, kdy pomáhá k plynulému vypařování vody z vnitřní části výrobku (Olivares et al., 2010). Pokud by tyto tukové částičky chyběly, libové maso by se pevně spojilo a následné sušení by bylo velmi problematické (Kameník, 2011).

Nejčastěji se používá vepřové sádlo, které má být jadrné a tuhé, a proto se využívá sádlo hřbetní anebo z krční části tzv. hřivny (Kameník, 2011). Díky vysokému množství nasycených mastných kyselin mají vysoký bod tání a nedochází k mazání tuku (Feiner, 2006). Měkký tuk je ve výrobě nežádoucí díky snazší oxidaci a jeho mazání při míchání a narážení. Pokud by tuk obsahoval vyšší množství nenasyčených mastných kyselin, které jsou náchylnější k oxidaci, docházelo by k jeho žluknutí (Kameník, 2011).

3.4.1.3 Dusitanová solící směs

Primární důvod přidávání soli je ochrana masa před mikrobiálním znehodnocením a sekundární role je zlepšení enzymatické stability (Barat et Toldrá, 2011). Sůl má v uzeninách důležitou funkci, jako je snížení hodnoty aktivity vody a_w , což představuje důležitou počáteční překážku proti růstu nežádoucích mikroorganismů. Dále sůl dodává výrobku typickou chuť (Heinz et Hautzinger, 2007).

Proteiny rozpustné v soli se extrahují z nasekaného masa v její přítomnosti a tyto solubilizované nebo želatinové proteiny vážou částice masa a tuku, kdy hladina soli přímo ovlivňuje rozpustnost proteinů. Výsledkem je stále pevnější struktura v průběhu sušení a zrání. Přídavek soli by měl být do 35 g/kg, kdy obsah soli v konečném produktu bude vyšší díky snížení obsahu vody (Heinz et Hautzinger, 2007; Weiss, 2010).

Dusitany a dusičnany se používají pro jejich silnou antimikrobiální aktivitu (inhibice růstu spor *Staphylococcus aureus* a *Clostridium botulinum*), dále přispívají ke vzniku typicky červené barvy tvorbou nitrosomyoglobinu, zpomaluje žluknutí během skladování a přispívají k typické chuti masných výrobků. Antimikrobiální aktivita je výsledkem tvorby nedisociované kyseliny dusičné (HNO_3), která prochází iontovou bariérou bakteriální buněčné stěny a vykazuje intracelulární toxicitu (Pleaden et Bogdanović, 2016; Sebranek et Bacus, 2007; Weiss, 2010).

Na druhou stranu je dusitan považován za toxickou látku, proto je jeho obsah v masných výrobcích regulován. Nařízení (ES) č. 1333/2008 stanovující podmínky použití přídatných látek při výrobě potravin, limituje obsah dusitanu na 150 mg/kg masného výrobku. Dusitan se přidává ve formě sodných nebo draselných solí (E250, E249). Smí být použit pouze ve směsi s chloridem sodným ve formě dusitanové solící směsi, která standardně obsahuje 80 až 240 mg/kg (Honikel, 2008).

Dusitan může reagovat se sekundárními aminy a produkovat silné karcinogenní nitrosaminy. Množství N-nitrosaminů ve fermentovaných uzeninách závisí na řadě faktorů, jako je přidané množství dusitanu, podmínky zpracování a přítomnost antioxidantů (Honikel, 2008). V čerstvém mase sekundární aminy nejsou přítomny anebo se nacházejí ve velmi malém množství. Potenciálním prekurzorem sekundárních aminů jako kreatin a kreatinin, volné aminokyseliny prolin a hydroxyprolin, stejně jako určitá dekarboxylace produktu mohou vést k tvorbě sekundárních aminů během fermentace a skladování masných výrobků. Pro vznik sekundárních aminů je dále vhodné nízké pH (méně než 6,55) (Andrée et al., 2010).

3.4.1.4 Koření

Koření jsou rostliny nebo části rostlin, které přispívají k aroma, vůni a chuti. Přibližně 50% světové výroby koření se používá v masném průmyslu. Většina použitého koření je sušena, zmrazena nebo konzervována ve slaném nálevu. Přídavek koření do masných výrobků se obvykle pohybuje v množství 3 až 6g/kg díla. Směsi koření obvykle obsahují plniva a nosiče ve formě cukru nebo soli (Feiner, 2016).

V České republice se nejvíce užívá pepř černý mletý, paprika, česnek, kmín nebo hřebíček (Kameník, 2011). Bylo zjištěno, že některé druhy koření, například pepř nebo česnek urychlují aktivitu startovací kultury. Na druhé straně, některé koření (česnek, muškátový oříšek,

paprika, rozmarýn a šalvěj) obsahují silné antioxidanty, které mohou prodloužit skladovatelnost fermentovaných uzenin. Ostatní koření, jako je česnek (obsahující allicin) nebo rozmarýn, vykazují prostřednictvím svých éterických olejů antimikrobiální účinky (Lachowicz et al., 2012). Kromě toho podle Nassu a kolektiv (2003) extrakt z rozmarýnu v koncentraci 0,05 % vykazoval účinnou ochranu proti oxidaci ve fermentovaných klobásách z kozího masa.

3.4.1.5 Sacharidy

Fermentovatelné sacharidy se přidávají do díla s cílem zajistit tvorbu optimálního množství kyseliny mléčné z hlediska zajištění správného průběhu zrání (Lücke, 1985). Složení a množství sacharidů přidaných do díla ovlivňuje množství tvorby kyseliny mléčné a tím i konečnou hodnotu pH. Běžně používané cukry jsou monosacharidy (glukóza, fruktóza), disacharidy (sacharóza, laktóza) a škrobové hydrolyzáty (Lücke, 2017). Většina startovacích kultur umí přímo fermentovat glukózu, proto je zdaleka nejčastěji používaná (Feiner, 2016). Často se používá směs různých cukrů, protože glukóza a fruktóza podporují časný pokles pH a rozklad disacharidů je pomalejší (Medić, 2017).

Přidání 0,3 % glukózy je optimální dávka pro výrobky s dobou zrání čtyř a více týdnů, zatímco 0,5 – 0,7 % je vhodné pro produkty s kratší dobou zrání do 3 týdnů. Doporučená dávka sacharidů umožňuje pokles pH na 4,8 – 5,0, což odpovídá obsahu asi 25g kyseliny na kg sušiny. Výše dávky je dále závislá i na počátečním pH, pokud by totiž bylo vyšší jak 6,0, musí být dávka sacharidů úměrně zvýšena až na jedno procento (Kameník, 2017).

3.4.1.6 Ostatní aditiva

Pro výraznější okyselení je možno použít aditiva, jejichž přidání se odrazí na výsledné barvě, textuře a mikrobiální stabilitě (Feiner, 2006).

Často využívaný derivát cukru glukono-delta-lakton (GdL) je v uzeninách hydrolyzován krátce po plnění, čímž se získá kyselina glukonová, která se následně fermentuje na kyselinu mléčnou a kyselinu octovou (Lücke, 2017).

Böhme a kolektiv (1996) ve své studii porovnávali mikrobiologické vlastnosti, pH a senzorické vlastnosti fermentovaného klobásy vyrobené z pštrošího a vepřového masa. Autoři porovnávali šarže s použitím startovacích kultur a šarže bez použití startovacích kultur, ale s přídavkem 1 % GdL (w/w). Klobásy s GdL podle očekávání vykazovaly rychlý pokles pH z původních 7,0 až na 5,2 v první den fermentace, poté zůstala hladina pH na této úrovni a nikdy nedosáhly hodnoty pH pod 5,0. U šarže s použitím startovacích kultur pH klesalo postupně a na hodnotu pod 5,0 se dostalo během šesti dnů. Při senzorickém hodnocení byla šarže s GdL hodnotiteli nejméně preferována. V průměru je dnes doporučený přídavek 3 až 12 g/kg GdL, který umožní pokles pH z počáteční hodnoty 5,6 na 4,5 až 4,7. V zásadě 1 g GdL sníží hodnotu pH o 0,07 – 0,09 (Feiner, 2016). Během skladování dochází k mírnému štěpení kyseliny glukonové, což může způsobit vznik krupičkové konzistence a metalické chuti (Barenz et Schwing, 2005).

Kyselina askorbová, askorbát sodný a erythrobát sodný jsou látky, které se používají ke zlepšení a stabilizaci barvy finálního výrobku a zpomalení oxidace (Ockerman et Basu, 2017). Kyselina askorbová je redukční činidlo, které transformuje oxid dusnatý ze zbytkového

dusitanu a tím zvýší hladinu nitsosomyoglobinu (Kameník, 2011). Kyselina askorbová je donor vodíkového kationtu (H^+), což vede k deaktivaci volných radikálů. Askorbát, je v tučích nerozpustný a vykazuje velmi malý antioxidační účinek. Po zavedení do masa, které má přirozeně mírně kyselé prostředí, dochází k přeměně na nedisociovanou formu kyseliny askorbové nebo erythorbové a tyto sloučeniny mohou také být donorem H^+ (Feiner, 2016).

3.4.1.7 Obaly

U fermentovaných uzenin lze použít přírodní nebo umělá střeva. Hlavními požadavky je pevnost, elasticita a stabilita. Dále musí být propustná pro kouř, vodní páru a plyny. Pro střeva použitá na výrobu je nesmírně důležité, aby přilnula k dílu nejen při narážení, ale i během doby sušení, kdy se objem snižuje (Djordjevic et al., 2015).

3.4.1.7.1 Přírodní střeva

Tento typ obalů je tradičním obalem masných výrobků. Přírodní střeva jsou dost pevná pro zvládnutí tlaku při narážení, jsou dobře propustná pro vodní páru, plyny, kouř a jsou elastická. Nevýhodou je nestandardnost, ani kalibrovaná střeva nedrží vždy uvedený kalibr (Djordjevic et al., 2015).

Přírodní střeva se skladují sušená a solená v uzavřených nádobách, čímž jsou chráněny před působením světla, které může způsobit žluknutí tuků. Lze je skladovat při 6–8 °C po dobu 6 měsíců až 3 let. Doba skladování se zkracuje se zvyšující skladovací teplotou a může být ovlivněna jakýmkoliv zbytkovým střevním tukem, který kromě zpomalení procesu sušení může způsobit oxidaci a zkracuje trvanlivost (Šerkhal, 2012).

3.4.1.7.2 Umělá střeva

Počátek výroby se datuje na začátek dvacátého století s rozvojem masného průmyslu, který překonal zásoby přírodních střev. Umělá střeva mají nespornou výhodu z hygienického hlediska, protože vzhledem k tomu, že jejich mikrobiologická kontaminace je zanedbatelná, není potřeba je skladovat při nízkých teplotách. Dle struktury a složení je lze rozdělit do dvou skupin: umělá střeva z přírodních materiálů a umělá střeva ze syntetických materiálů. V první skupině jsou střeva vyrobená z celulóзовého materiálu a kolagenová střeva. Umělá střeva ze syntetických materiálů jsou vyrobena z polymeru (plastu) a z důvodu nepropustnosti pro plyny a vodní páry je nelze použít při výrobě masných výrobků, které musí projít fází sušení (Djordjevic et al., 2015)

Celulózové obaly jsou rostlinného původu a získávají se z dřeva nebo bavlny. Vzhledem k vysoké mechanické odolnosti a schopnosti se přizpůsobit změnám objemu, propustnosti plynů, kouře a vodních par mohou být ekvivalentní náhradou přírodních střev. Z různých typů obalů na základě celulózy pro výrobu fermentovaných uzenin jsou nejvhodnější fibrousové (fázrové) obaly. Jsou složeny z celulózy a zpevněny vlákny listů palmy banánovníku textilního. Tento typ obalu se musí namočit do teplé vody před použitím nejméně na 30 minut, protože jsou tyto obaly dostatečně odolné, lze je používat pro výrobky s velkým průměrem a mohou být i uzena. Použití fibrousového obalu je zvláště vhodné při produkci uzenin, kde je důležitá mechanická pevnost a rovnoměrnost průměru kvůli jeho krájení a balení (Djordjevic et al., 2015; Šerkhal, 2012).

Kolagen je živočišného původu získán převážně z kůže hovězího dobytka. Kolagenní střeva jsou propustná pro kouř a vodní páry. Výhodou je jejich jednotný průměr a velká pevnost (Djordjevic et al., 2015; Šerkhal, 2015).

3.4.2 Technologie výrobního procesu TFMV

3.4.2.1 Příprava díla

Základem pro přípravu TFMV je míchání a mělnění, kdy ze základních surovin je vytvořeno salámové dílo. U TFMV se požaduje dokonale vypracované dílo s typickou mozaikou, kde jsou zřetelně oddělena částice masa a tuku (Steinhauser, 1995). Základní předpoklad pro dosažení požadované jemnosti díla a výsledné mozaiky je teplota surovin. Maso pro výrobu by mělo být zchlazeno nebo mírně zmrazeno a sádlo by mělo být zmrazeno, tak aby bylo dosaženo čistého řezu a zabránilo se rozmazání (Ordóñez et de la Hoz, 2007). Teplota díla by se měla pohybovat mezi -4 a -1° C. Hodnota pH po zamíchání nemá být vyšší než 5,9 a aktivita vody (a_w) 0,96 pro optimální rozvoj bakterií mléčného kvašení a tím pro správný průběh zrání (Kameník, 2011).

Obecně se rozlišují dva základní způsoby přípravy díla pro TFMV. První využívá k míchání a mělnění kutr a druhý řezačku pro získání požadované velikosti zrna a následuje promíchání na míchačce (Kameník et al., 2014).

Pro produkci výrobků s velikostí zrna 0,8 – 3 mm se nejčastěji využívá pouze kutr. Kusy masa a sádla se převedou nejčastěji do vakuového kustru a vytvoří se dílo spolu se všemi přísadami (sůl, dusitany, cukry, startovací kultury, koření atd.). Míchání by mělo být dostatečné k rovnoměrné distribuci složek. Výrobky s velikostí zrna 4 – 13 mm a větší se připravují pomocí řezačky, kde se nejprve nasekají kusy masa a sádla a následně je dílo promícháno na míchačce, kde jsou přidána všechna aditiva (Feiner, 2006; Ordones a de la Hoz, 2007). Výhodou druhého zmíněného způsobu je získání stejných částic masa a sádla, čehož při míchání v kustru je hůře dosahováno (Kameník et al., 2014).

3.4.2.2 Plnění

Dílo by mělo být okamžitě plněno při chladících teplotách do solených střev (nebo umělých střev propustných pro vodní páru a kouř) tak pevně, aby se vyloučily vzduchové kapsy. Pokud by se vyskytly vzduchové praskliny, mohlo by dojít ke vzniku neuspokojivého výsledku (Erkmen et Bozoglu, 2016):

- zašedlé zbarvení masa
- snížení trvanlivosti klobásy
- nerovnoměrné chlazení
- nerovnoměrná hmotnost
- zakřivení produktu

V dnešní době se využívají převážně vakuové narážky, tj. vybavené vývěvami k odsávání vzduchu. Tato operace se provádí ve vakuu, aby se vyloučil kyslík pro potlačení nežádoucího zbarvení masa, vývoji nežádoucích chutí a zvýšení skladovatelnosti (Lücke, 2017).

Naplňené klobásy se uchovávají na zvláštním místě nebo v místnosti tak, aby povrchová vlhkost mohla odcházet při teplotě 22 °C a relativní vlhkosti vzduchu (RVV) pod 80 %. (Erkmen et Bozoglu, 2016).

3.4.2.3 Uzení

Tradičně lze uzení rozdělit na dva způsoby – studeným a horkým kouřem. V obou případech se kouř vytváří spalováním dřeva nebo štěpek. Při použití studeného kouře teploty obvykle nepřekračují 20 – 30 °C, zatímco při horkém kouři teplota dosahuje 80 °C. Při výrobě TFMV se v převážné většině používá studený kouř, protože jakmile by teploty byly moc vysoké, měly by smrtelný účinek na mikrobiotu produktu (Roseiroet et al., 2012).

Kouř se aplikuje od několika dnů po 3 týdnů. Hustota kouře a její distribuce v udírně jsou udržovány na požadované úrovni pomocí vybavení pro cirkulaci vzduchu, teploty a vlhkosti. K výrobě kouře se nejčastěji používají tvrdá dřeva (dub, buk, javor, bříza, ořech atd.). Pryskyřice dřeva dodávají výrobku nepříjemnou chuť a měkké dřevo má sice nízký obsah pryskyřic, ale produkuje velké množství sazí, které zabarvují produkt (Roseiroet et al., 2012).

Složení kouře je definováno druhem dřeva a podmínkami při uzení (teplota, čas, vlhkost, rychlost proudění vzduchu) a následnými úpravami kouře. Kouř je složen z více než 400 těkavých složek obsahující 48 kyselin, 22 alkoholů, 131 karbonylů, 22 esterů, 46 furanů, 16 laktonů, 75 fenolů a asi 50 různých sloučenin (Woods, 2003). Chemické sloučeniny kouře mají různé účinky na konečný produkt. Například thymol, formaldehyd, kyseliny (mravenčí, octová a benzoová), kresol, guajakol dodávají produktům příjemnou vůni. Během prvních dnů dochází k vybarvení produktů díky reakci těkavých sloučenin ze skupin fenolů a derivátů furfuralu s myoglobinem (Bozkurt et Bayram, 2006). Hlavní příčinou vybarvení jsou však produkty Maillardových reakcí. Na druhé straně některé sloučeniny mají na produkty nežádoucí účinky, například fenol má negativní vliv na chuť, aceton a nenasycené sloučeniny s dlouhým řetězcem mají negativní vliv na aroma (Ledesma et al., 2016).

Během procesu horkého uzení by měla být relativní vlhkost udržována na přibližně 80 %. Příliš nízká vlhkost způsobuje dehydratování proteinového povrchu klobásy a také nadměrný úbytek hmotnosti a scvrklý vzhled produktu. Uzení při vysoké teplotě obvykle zkracuje dobu uzení, ale zpracování při příliš vysoké teplotě způsobí příliš rychlý úbytek hmotnosti a praskání celulózových obalů, zatímco příliš studený kouř způsobuje ztuhnutí obalu (Simko, 2005).

Možnou zdravější alternativou klasického kouře je tzv. kapalný kouř, který je ve vodě rozpustný chemický roztok obsahující aroma, které lze nanášet na povrch klobás. Kapalný kouř vzniká kondenzací a frakční destilací kouře z tvrdého dřeva. Kouř je poté tlačěn do rafinovacích nádob a následně filtrován tak, aby došlo k odstranění toxických a karcinogenních sloučenin (Simko, 2005). Kapalné kouře sice neobsahují karcinogenní sloučeniny, ale nemohou poskytnout totožnou chuť srovnatelnou s použitím přirozeného uzení. Kapalný kouř lze aplikovat různými způsoby, a to jmenovitě: ponořením, sprchováním, atomizací V posledním zmíněném způsobu je kondenzát kouře smíchán se stlačeným vzduchem a výrobek se zabarvuje a aromatizuje pomocí vzniklého aerosolu (Lingbeck et al., 2014).

3.4.2.4 Sušení (zrání)

Sušení (zrání) je klíčová operace při výrobě TFMV, její rychlost by měla být co nejnižší. Nejkritičtějším bodem v sušení je vyhnout se výrazné povrchové koagulaci proteinů a tvorbě krusty na povrchu salámu nebo klobásy. Pokud salám nebo klobása ztratí vlhkost příliš rychle při počátečních fázích sušení, povrch ztvrdne a bezprostředně pod střevem se vytvoří krusta případně tzv. kroužek. Kroužek brání dalšímu odvodu vlhkosti a klobása má nadměrně vlhké centrum. Použití nižší relativní vlhkosti na začátku procesu umožní, aby vlhkost migrovala z vnitřní do vnější vrstvy. Pokud je rychlost sušení přiměřeně pomalá, obal klobásy umožní postupné sušení. Na začátku procesu může být RVV až 98 % a v následujících 2 – 4 dnech musí docházet k postupnému snižování RVV.

Při výrobě TFMV závisí úspěch sušení na několika faktorech, které lze rozdělit na vnější a vnitřní. Do první skupiny řadíme environmentální faktory jako relativní vlhkost vzduchu (RVV), rychlost cirkulace vzduchu a teplota. Skupina vnitřních faktorů zahrnuje specifické vlastnosti každého produktu, jako je propustnost obalů, velikost kusů masa, obsah tuku, pH díla, přítomnost jiných složek a mimo jiné i obsah soli ovlivňující kinetiku dehydratace (Kumar et al., 2017). Při řízení procesu je obtížné manipulovat s vnitřními faktory, protože závisí na složení produktu, které udává jeho specifickou. Vnější faktory ale musí být nastaveny podle charakteristik každého produktu tak, aby se zabránilo příliš rychlému sušení s negativním dopadem na texturní vlastnosti nebo velmi pomalé sušení, obvykle spojené s vývojem aerobních mikroorganismů, tj. kvasinek a plísní na povrchu výrobku (Fraqueza et al., 2016).

Je vhodné regulovat RVV podle poklesu hodnoty aktivity vody (a_w) produktu. RVV by měl být přibližně o 4 % nižší, než je hodnota a_w produktu. Například, když je hodnota a_w produktu 0,96, měla by být RVV sušárny asi 92 %. Příliš velká vlhkost v sušárně by podporovala vývoj plísní a osliznutí produktu. Místnost pro sušení by měla být vybavena ventilátorem a zařízením pro odvlhčování a chlazení nebo ohřívání vzduchu pomocí nástrojů na regulaci vlhkosti a teploty (Fraqueza et al., 2018).

3.4.2.5 Procesy probíhající v průběhu fermentace a zrání

Kvalita trvanlivých fermentovaných masných výrobků je výsledkem biochemických, mikrobiologických, fyzikálních a smyslových změn, ke kterým dochází během zrání za definovaných podmínek teploty a relativní vlhkosti (RVV).

3.4.2.5.1 Biochemické procesy

Během zpracování fermentovaných uzenin dochází k mnoha biochemickým reakcím bílkovin, tuků a sacharidů, které určují konečné vlastnosti produktu. Tyto reakce jsou způsobeny převážně endogenními a mikrobiálními enzymy (Stahnke et al., 2002).

Jedna z nejvýznamnějších reakcí je proteolýza, která se podílí na vývoji chuti a textury. Proteiny podléhají hydrolýze, nejprve na polypeptidy a dále na menší peptidy působením peptidázy a ve finále až tvorba volných aminokyselin. Peptidy s nízkou molekulovou hmotností a volné aminokyseliny jsou hlavními složkami frakcí nebílkovinného dusíku (NPN) ve fermentovaných uzeninách, které přímo nebo nepřímo přispívají k tvorbě těkavých i netěkavých aromatických sloučenin (Hughes et al., 2002). Degradace valinu, leucinu

a isoleucinu na aldehydy, kyseliny a alkoholy je spojená se zrající vůní fermentovaných potravin (Stahnke et al., 2002).

Lipidy jsou hydrolyzovány enzymy a vytvářejí se volné mastné kyseliny, které jsou substráty pro oxidační změny zodpovědné za aromatické sloučeniny. Pokročilá lipolýza zahrnuje uvolňování mastných kyselin, které podléhají pozdějším oxidačním procesům, což vede ke vzniku karbonylových sloučenin a dalším nízkomolekulárních látek (alkoholy, karboxylové sloučeniny atd.), které dávají velmi intenzivní aroma (Toldrá, 1998).

Pokud jsou do díla přidány sacharidy, bakterie jim v průběhu fermentace dávají přednost před bílkovinami a tuky za vzniku především kyseliny mléčné, způsobující silné okyselení díla (Pipek, 1995).

3.4.2.5.2 Mikrobiální procesy

Od počátku se v díle nacházejí mikroorganismy, a to v množství řádově 5 – 6 log KTJ/g (Kameník, 2011). Maso jako základní vstupní surovina obsahuje mikroorganismy stojící za spontánní fermentací, která však nemůže vždy zaručit produkt stabilní a bezpečný. Při spontánní fermentaci se uplatňují druhy bakterií mléčného kvašení (MBK) *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus* a *Lactobacillus plantarum* (Rantsiou et Cocolin, 2006).

Při spontánní fermentaci bez přídavku startovacích kultur se počty BMK pohybují kolem 3,2 až 5,3 log KTJ/g. Růst BMK je často korelován se snížením pH v počátku zrání (Cocolin et al., 2001). Počty koaguláza negativních koků se vyvíjí z počáteční úrovně 3,1 až 4,4 log KTJ/g, a během fermentace mohou dosáhnout hodnot 10^6 – 10^8 KTJ/g (Comi et al., 2005; Lebert et al., 2007).

Bakterie způsobující kažení, jako jsou rody *Pseudomonas* a čeleď *Enterobacteriaceae*, jejichž počáteční hladiny se pohybovali v rozmezí 1,7 až 4,4 log KTJ/g pro *Enterobacteriaceae* a 1,5 až 5,2 log KTJ/g pro *Pseudomonas* (Lebert et al., 2007).

U neuzených TFMV hrají významnou roli i kvasinky a plísně. Kvasinky jsou převládající mikroorganismy během počátečního zrání a zhruba po dvou týdnech se jejich počty vyrovnávají. Na konci procesu sušení mohou plísně tvořit více než 95% mikroflóry. Počty kvasinek se pohybují v rozmezí 2 – 5 log KTJ/g (Lebert et al., 2007).

3.4.2.6 Balení a skladování

Nejčastější způsob balení pro TFMV je vakuové balení a balení v ochranné atmosféře s použitím vícevrstvé folie, která vzniká kombinací několika materiálů (O'Sullivan et Kerry, 2010). Při vakuovém balení je produkt zaveden do obalu a vzduch je poté odstraněn bez náhrady jiným plynem, čímž se vytvoří tlakový rozdíl mezi vnitřním a vnějším povrchem balení, které je pak hermeticky uzavřeno. Další metodou, která získává stále větší význam, je balení s modifikovanou atmosférou, kdy je produkt zaveden do obalu, vzduch je odstraněn a nahrazen známou směsí plynů. Nejčastěji používanými plyny jsou kyslík, dusík a oxid uhličitý v různých poměrech (Ščetar et al., 2013).

3.5 Mikrobiální rizika při výrobě TFMV

Nedostatky v procesu výroby a schopnosti patogenních bakterií přežít může vést k výrobě produktů, které mohou představovat zdravotní riziko po jeho konzumaci. Nejdůležitějšími potravinovými patogeny, které se týkají fermentovaných masných výrobků jsou *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* a *Staphylococcus aureus* (De Casera, 2007).

Listeria monocytogenes patří k nejobávanějším patogenům v potravinářském průmyslu, hlavně díky vysoké toleranci vůči stresovým faktorům prostředí, včetně podmínek nízkého pH a vysokým koncentracím solí (Farber et Peterkin, 1991). Růstový potenciál patogenu během fermentace je velmi nízký, ale v závislosti na podmínkách fermentace, po fermentačním ošetření a fyziologickém stavu mikroorganismu může přežít i během skladování a distribuce. Prevalence ve fermentovaných masných výrobcích je do 40 % (De Cesare, 2007).

Salmonella spp. je v potravinách spojována hlavně s masem a masnými výrobky. V případě fermentovaných masných výrobků je obvyklá průměrná prevalence 5 – 10 %. Produkce toxinů některými kmeny *E. coli* je velmi důležitá vlastnost, která je odlišuje a označuje jako produkující shiga-toxin (STEC) nebo vero-toxin (VTEC). Jednou podskupinou STEC jsou EHEC (enterohemoragické *E. coli*). Nejběžnější EHEC, který způsobují onemocnění je *E. coli* O157:H7. Prevalence ve fermentovaných masných výrobcích je velmi nízká (Siriken et al., 2006).

Staphylococcus aureus má značný význam ve fermentovaných masných výrobcích. V případě nesprávného průběhu fermentace anebo skladování může mikroorganismus růst a produkovat tepelně stabilní enterotoxiny, které mohou způsobovat otravy. Prevalence je obvykle kolem 10 % (Skandamis et Nachys, 2007).

Pokud jde o všechny tyto patogenní mikroorganismy, jejich růstový potenciál ve fermentovaných masných výrobcích je poměrně nízký, pokud je správně navržen proces fermentace. Základem pro kontrolu růstu je použití surovin dobré kvality, fermentační teploty pod 22 °C a konečnou hodnotou pH nižší než 5,3 s cílovou aktivitou vody (a_w) nižší než 0,93 (Lücke, 2000).

3.6 Startovací kultury

Mnoho typických fermentovaných masných výrobků se stále vyrábí tradičními technologiemi bez startovacích kultur. Nicméně, v dnešní době je použití startovacích kultur stále častější, aby byla zaručena bezpečnost a standardizované vlastnosti produktu jako je konzistentní chuť, barva, a i kratší doba zrání (Cocolin et al., 2001).

Kvalita fermentovaných uzenin úzce souvisí s procesem zrání, které výrobku dodává barvu, chuť, aroma a pevnost. Tyto vlastnosti se vyvíjejí s chemickými a fyzikálními reakcemi spojených s fermentačním působením mikroorganismů přítomných v díle. Dříve se využívala spontánní fermentace působením původních bakterií přítomných v mase. Dnes se zvláště při průmyslové produkci využívají definované mikroorganismy známá jako startovací kultury (Leroy et al., 2006).

Výroba fermentovaných potravin je dnes založena především na použití startovacích kultur, například bakterií mléčného kvašení (BMK), které iniciují rychlé okyselení. Velkou výhodou startovacích kultur je to, že zajišťují řízenou a předvídatelnou fermentaci. Startovací

kultury mohou přispět k mikrobiální bezpečnosti nebo mohou nabídnout jednu či více technologických, organoleptických, nutričních nebo zdravotních výhod. Například BMK produkují antimikrobiální látky, cukrové polymery, aromatické sloučeniny nebo užitečné enzymy, které mají probiotické vlastnosti (Leroy et De Vuyst, 2004).

3.6.1 Historie startovacích kultur

V první studii a identifikaci mikroorganismů přítomných ve fermentovaných uzeninách ve 40. letech 20. století vyšlo najevo, že za fermentaci byly primárně zodpovědné bakterie mléčného kvašení. Tento závěr byl založen na skutečnosti, že převládající organismy izolované z přirozené fermentovaných uzenin byl druh *Lactobacillus* (Hutkins, 20018).

Nejběžnějším způsobem před dnešním používáním startovacích kultur pro zahájení fermentace je tzv. backslopping. Backslopping znamená použití malé části předchozí šarže do začátku výroby nové šarže, která má projít procesem fermentace. Tento způsob funguje z několika důvodů. Za prvé zaručuje růst bakterií, které jsou vhodné pro růst v prostředí klobásy. Kmeny, které pomalu zpracovávají sacharidy a nejsou schopny se přizpůsobit prostředí jsou nahrazeny konkurenceschopnějšími bakteriemi, které mají zvláštní metabolické a fyziologické vlastnosti, které jim v tomto prostředí poskytují selektivní výhody. Za druhé, bakteriální populace, která se vytvoří během opakovaných přenosů a fermentací, bude pravděpodobně heterogenní povahy a zbývající kmeny budou schopni v případě oslabení nebo smrti nějakého z kmenů fermentaci dokončit. A konečně, backslopping je účinný vzhledem k velikosti inokula, které je obvykle kolem 5 %, ale může být až 20 % z celkové hmotnosti. Tak velké inokulum poskytuje poměrně velkou jistotu, že požadované organismy potlačí i nežádoucí mikroflóru, která jim nebude schopna konkurovat (Hutkins, 2018; Zeuthen, 2007).

Naproti tomu ale existuje několik nevýhod. Produkty vyrobené tímto způsobem mohou mít nekonzistentní kvalitu, včetně jejich chuti a barvy. Především lze celý proces považovat za mikrobiologicky riskantní, protože jakákoliv odchylka (tj. pomalá nebo zpožděná fermentace) může umožnit růst patogenních mikroorganismů (Hutkins, 2018).

3.6.2 Základní funkce a vlastnosti

Startovací kultury vznikají smícháním různých typů mikroorganismů, kde má každá svoji specifickou funkci. Nejběžnějšími mikroorganismy používanými jako startovací kultury jsou bakterie mléčného kvašení (BMK), stafylokoky negativní na koagulázu a případně kvasinek, či na povrch aplikované plísně (Bonomo et al., 2009).

Jako součásti startovacích kultur se dnes nejčastěji užívají mikrobiální rody *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Kocuria*, *Staphylococcus*, z kvasinek rody *Candida*, *Debaryomyces* a z plísní například rod *Penicillium* (Kameník, 2011).

Startovací kultury jsou komerčně dostupné v mraženém, lyofilizovaném, tekutém stavu nebo například společnost CH. Hansen nabízí i mražené kultury ve formě pelet pro jednodušší manipulace při dávkování (Kameník, 2011). K zmrazování se využívá kapalný dusík o teplotě -195 °C nebo oxid uhličitý o teplotě -75 °C (Feiner, 2006).

3.6.3 Vliv startovacích kultur na chuť, struktura a barvu

3.6.3.1 Vliv na chuť

Vznik charakteristické chuti fermentovaných masných výrobků je výsledkem rozkladu sacharidů, lipidů a proteinů působením mikrobiálních a endogenních enzymů masa. V prvních fázích zrání se uplatňuje působení katepsinů, které štěpí sarkoplazmatické myofibrilární proteiny. Mikrobiální enzymy působí výrazněji až během posledních fází zrání (Casaburi et al., 2008). Z tohoto důvodu hraje velký význam výběr kmenů s lipolytickou a proteolytickou aktivitou pro tvorbu rozkladných produktů, tj. peptidů, aminokyselin, karbonylových sloučenin a těkavých sloučenin, které přispívají ke vzniku charakteristické chuti a vůně (Fonseca et al., 2013).

Sidire a kolektiv (2015) při sledování TFMV naočkovaných *Lactobacillus casei* zjistili, že obsah těkavých sloučenin jako jsou různé estery, organické kyseliny, alkoholy a karbonyly roste s dobou zrání (porovnání po 28 a 45 dnech).

Proteolytická aktivita různých startovacích kultur musí být stanovena před samotnou fermentací, aby bylo dosaženo požadované chuti. Například při použití kombinace *Staphylococcus xylosus* spojené s *Lactobacillus curvatus* vykazovalo vyšší proteolýzu a lipolýzu, než pokud byl *Staphylococcus xylosus* použit bez laktobacilů (Casaburi et al., 2008).

Použití plísní na povrchu ve TFMV je odpovědné za vývoj specifické chuti. Plísňe produkují enzymy pro degradaci lipolytických a proteinových látek. Proteolytické a lipolytické schopnosti se mohou mezi kmeny výrazně lišit a jsou závislé na mediu, pH a teplotě (Sunesen et Stahnke, 2003).

Pokud jde o kvasinky, přidání *Debaryomyces spp.* produkují těkavé aromatické sloučeniny, čímž dochází ke zvýraznění chuti (Martín et al., 2003).

3.6.3.2 Vliv na texturu

Textura je ovlivněna okyselením produktu, kdy by se mělo pH pohybovat pod izoelektrickým bodem svalových proteinů, kdy dochází ke koagulaci proteinů odpovědných za krájitelnost, pevnost a soudržnost konečného produktu (Drosinos et al., 2007). Za požadované okyselení jsou odpovědné BMK. Úroveň produkce bakterií je závislá od rodu, druhu

a podmínek růstu. Z tohoto důvodu různé kultury BMK mohou různě ovlivnit strukturu. Významný rozdíl v hodnotě pH v důsledku různých startovacích kultur vede k rozdílům ve struktuře konečného výrobku (Ahmad et Amer, 2013).

3.6.3.3 Vliv na barvu

Typicky červená barva fermentovaných uzenin se vyvíjí aktivitou nitrát-reduktázy, která vede k tvorbě nitrosomyoglobinu, který je výsledkem reakce myoglobinu a oxidu dusnatého. Během fermentace se dusitan redukuje na oxid dusnatý. Nejúčinnější v redukci dusitanu jsou zástupci rodu *Staphylococcus* (Gøtterup et al. 2008).

Přestože je dusitan ceněn pro svůj vliv na barvu, z nitritů se mohou tvořit karcinogenní, teratogenní a mutagenní N-nitrosaminy, proto jejich používání způsobuje určitě obavy. Jako

alternativa k dusitanům v masných výrobcích je aktuálně hodnocena schopnost tvorby červené barvy pomocí některých kmenů bakterií. Jako potenciální alternativa pro substituci dusitanů se ukázalo použití *Staphylococcus xylosus*. Mikrobiální přeměna metmyoglobinu na nitrosomyoglobin má tedy potenciál nahradit dusitany při výrobě uzenin při zachování požadované červené barvy masných výrobků (Li et al. 2013).

3.6.4 Složení mikrobiálních kultur

Mikroorganismy lze rozdělit podle cílové funkce použití do tří základních skupin:

- bakterie mléčného kvašení
- skupina známá buď jako koagulázo negativní koky nebo (gram pozitivní) katalázo pozitivní koky
- mikroorganismy pro povrchové pokrytí (Baláš, 2015) (Aquilanti et al., 2016).

3.6.4.1 Bakterie mléčného kvašení (BMK)

Termín bakterie mléčného kvašení se používá k definování velké a rozmanité skupiny mikroorganismů. BMK lze charakterizovat jako skupinu gram pozitivních nesporogenních mikroaerofilních nebo fakultativně anaerobních koků a tyčinek (Halász, 2009). Hlavními kmeny BMK jsou *L. sakei*, *L. curvatus* a *L. plantarum*. Jako minoritní zástupce lze považovat rody BMK *Leuconostoc*, *Lactococcus* a *Pediococcus* (Aquilanti et al., 2016).

Aquilanti a kolektiv (2016) ve své studii týkající se struktury BMK ve Středomořských zemích (Itálie, Řecko, Francie, Španělsko a Portugalsko) shrnuli tradiční fermentované masné výrobky. V populaci BMK obecně převažovaly ve většině studií fakultativně heterofermentativní laktobacily, a to kmeny *L. curvatus* a *L. sakei*.

Dle fermentace sacharidů dělíme BMK na 3 základní skupiny: obligátně homofermentativní, fakultativně heterofermentativní, obligátně heterofermentativní. U homofermentativních jde o hlavní dráhu hexózy, při které z 1 mol hexózy vznikají 2 moly kyseliny mléčné. U heterofermentativních (většina kmenů laktobacilů) se zapojuje 6-fosfoglukonátová dráha, jejímž výsledkem je 1 mol CO₂, 1 mol kyseliny mléčné a 1 mol kyseliny octové (Dušková et al., 2011).

3.6.4.1.1 Význam BMK

Hlavní funkcí BMK je fermentace masa a tedy podpora rychlého snížení hodnoty pH vznikem kyseliny mléčné fermentací cukrů. Jak bylo zmíněno dříve, mají vliv na texturu konečného výrobku a navíc inhibují množení patogenních mikroorganismů a organismů odpovědných za kažení díky produkci organických kyselin nebo produkci jiných mikrobiálních metabolitů. Například vodík, peroxid, diacetyl a peptidů známých jako bakteriociny, u kterých byla prokázána zvýšená účinnost proti možným patogenům ve fermentovaných uzeninách (de Costa et al., 2019).

3.6.4.2 Katalázově pozitivní koky

Do této skupiny řadíme druhy *Staphylococcus* (koaguláza negativní stafylokoky) nebo druhy *Mikrococcus* (*Kocuria* a *Micrococcus*). Gram pozitivní, kataláza pozitivní koky přispívají k vytvoření typického sensorického charakteru, jako jsou barva a chuť. Například aktivita lipázy a proteázy je zásadní pro tvorbu chuti a barvy (Chen et al., 2017).

Nejčastěji používané druhy v Evropě jsou *Staphylococcus xylosum*, *S. saprophyticus*, *S. equorum*, *S. succinus* (Talon et al., 2007). Při porovnávání izolovaných kmenů z uzenin vyráběných v Itálii, Francii, Řecku, Španělsku a Portugalsku se jasně projevila dominance *S. xylosum*, ale rozmanitost byla obecně vyšší, než bylo zaznamenáno pro BMK (Aquilanti et al., 2016).

3.6.4.3 Mikroorganismy pro povrchové pokrytí

Významnou roli při tvorbě povrchového filmu, který uplatňuje ochranný účinek proti nadměrné dehydrataci a oxidaci lipidových frakcí způsobených kyslíkem a světlem, hrají kvasinky a plísně. Kvasinky a plísně přispívají k tvorbě charakteristické chuti a vzhledu povrchu. Příspěvek těchto organismů k typickému aroma produktů je založen na produkci jejich primárních a sekundárních metabolitů a aktivitě proteolytických a lipolytických enzymů (Cocolin et al., 2006; Gardini et al., 2001).

3.6.4.3.1 Kvasinky

Při primárním a sekundárním metabolismu kvasinek, kde jsou klíčovými enzymy lipázy a proteinázy, dochází ke vzniku typického aroma produktů (Cocolin et al., 2006). Kvasinky lze přidávat za účelem nejen zvýraznění aroma, ale taky napomáhá stabilizovat červenou barvu (Olesen et Stahnke, 2000).

Přítomnost kvasinek je obvykle charakteristická pro spontánní fermentaci (Gardini et al., 2001). Nejčastěji izolované kvasinky jsou rodu *Candida*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Torulopsis*, *Trichosporum* a *Cryptococcus* (Cocolin et al., 2006). Nejčastěji izolovaný druh je *Debaryomyces hansenii* a *Candida spp.*. Kvasinky způsobují nárůst pH a snížení obsahu kyseliny mléčné, a tedy mají vliv na vlastnosti konečného produktu (Gardini et al., 2001). *Debaryomyces hansenii* a *Candida spp.* se množí převážně zpočátku a poté jejich aktivita klesá. *Candida utilis* vykazuje značnou potenciální produkci těkavých sloučenin, jako jsou alkoholy a estery, které vznikají z aminokyselin izoleucin, leucin, valin a fenylalanin (Olesen et Stahnke, 2000).

Debaryomyces spp. má důležitý vliv na tvorbu těkavých sloučenin během zrání. Vývoj typické vůně je díky inhibici oxidace lipidů a podpory tvorby ethylesterů. V případě použití *Debaryomyces hansenii* jako startovací kultury byl pozorován pozitivní vliv na chuťové vlastnosti prostřednictvím lipolytické a proteolytické aktivity a stabilizace barevné reakce dusitanů (Gardini et al., 2001; Encinas et al., 2000).

3.6.4.3.2 Vlákňité plísně

Použití plísní ve výrobním procesu může hrát důležitou roli, protože plísně mohou vést k vývoji specifické příchutě a aroma díky lipolytickým a proteolytickým aktivitám. Hlavní

populaci povrchové mikrobioty na sušených masných výrobcích hraje rod *Penicillium* (Sonjak et al., 2011). *Penicillium* nalezené ve fermentovaných masných uzeninách je zodpovědné za povrchovou kolonizaci, zejména *P. nalgiovense* a v menší míře *P. chrysogenum* (López-Díaz et al., 2001). Toto povrchové pokrytí je důležité jako antioxidační účinek, který chrání před rozvojem žluknutí a napomáhá udržení barvy (Visagie et al., 2014).

3.6.5 Bioprotekce startovacích kultur

U fermentovaných masných výrobků dochází v průběhu fermentace a zrání k hromadění jednotlivých metabolitů, jako je kyselina mléčná, kyselina octová, kyselina mravenčí, ethanol, mastné kyseliny, peroxid vodíku, acetaldehyd a bakteriociny, které mohou inhibovat růst patogenních a kazivých bakterií (Cleveland et al., 2001).

Bakteriociny jsou ribozomálně syntetizované biologicky aktivní peptidy nebo proteiny vykazující antimikrobiální účinek (Gálvez et. al., 2008). Dnes je známo několik stovek bakteriocinů, kdy většina je produkována gram-pozitivními bakteriemi. Bakteriociny gram-pozitivních bakterií jsou klasifikovány na:

- Třída I – lantibiotika (nisin, lacticin, salivaricin)
- Třída II – nízkomolekulární peptidické bakteriociny (pediocin, enterocin, lactococcin)
- Třída III vysokomolekulární proteinové bakteriociny (caseicin, helveticin)
- Třída IV – komplexní bakteriociny (gassaricin A, Reuterin 6) (M O'Connor, 2020).

Jako významní producenti byly identifikovány kmeny BMK. Pro potravinářské výrobky jsou aktuálně schváleny bakteriociny nisin a pediocin produkované BMK.

Aplikace bakteriocinu u masa a masných výrobku je povolena ve čtyřech různých případech:

- přímá inokulace bakteriocinogenních kmenů BMK jako startovacích kultur
- přímá aplikace bakteriocinů z buněk bez supernatanu
- jako potravinářská přídatná látka
- začlenění zcela nebo částečně purifikovaných do obalu (Woraprayote et al., 2016).

Významným producentem bakteriocinu nisin je kmen *Lactococcus lactis*, který má široké antimikrobiální účinky proti gram-pozitivním bakteriím včetně stafylokoků, streptokoků, *Listeria spp.* a enterokoků (Woraprayote et al., 2016).

Hampikyan a Ugur (2007) ve studii účinku čistého nisinu vyprodukovaného *Lactococcus lactis subsp. lactis* proti *Listeria monocytogenes* v turecké fermentované klobáse (sucuks). Všechny produkty s nisinem vykazovaly snížený počet *Listeria monocytogenes* ve srovnání s kontrolou.

Dalším významným producentem bakteriocinů jsou laktobacily. Bakteriocin plantaricin je produkován *Lactobacillus plantarum*. Enan a kolektiv (1996) izolovali ze suché klobásy *Lactobacillus plantarum UG1*, který produkoval antimikrobiální látku plantaricin UG1. Zjistili, že gram-negativní bakterie plantaricin UG1 vůbec neabsorbují, naopak gram-pozitivní bakterie jsou schopny ho absorbovat bez ohledu na jejich citlivost. Byl prokázán inhibiční efekt

na potravinové patogeny jako je *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* a *Clostridium sporogenes*.

Ve studii Wang a kolektivu (2019), kde bylo cílem bylo porozumět antibakteriální aktivitě a mechanismu plantaricinu LPL-1 produkovaného *Lactobacillus plantarum* LPL-1 proti *Listeria monocytogenes* 54002, jedná z gram-pozitivních bakterií citlivé na tento bakteriocin a typická potravinářská patogenní bakterie. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) byla stanovena na 16 µg / ml a studie ukázala, že plantaricin LPL1 významně snižuje životaschopných buněk *L. monocytogenes* v závislosti času a dávce. Zkoumání mechanismu účinku ukázalo, že plantaricin LPL-1 usnadnil tvorbu porů, poškození integrity buněčné membrány, zvýšenou permeabilitu membrány, spustil únik intracelulárního materiálu indikující kolaps protonmotivní síly, membránového potenciálu až to vede k lýzy buňky.

3.6.6 Parametry výběru startovacích kultur

Při hledání vhodné startovací kultury je potřeba zohlednit uspokojivý výkon a přijatelné organoleptické vlastnosti produktu. Chování startovací kultury ve vztahu k faktorům prostředí a zrání, se kterými se setkávají během konkrétní výroby, je třeba pečlivě prozkoumat a standardizovat. Je nezbytné porozumět požadovaným vlastnostem a specifickým technologiím a recepturám daného podniku (Hansen, 2002).

Pro co nejlepší kvalitu produktů je potřeba zohlednit několik úvah:

- rychlost metabolické aktivity (produkce kyselin)
- předvídatelnost průběhu fermentace
- vznik žádoucích senzoričských atribut
- zvýšení bezpečnosti a snížení hygienických a toxikologických rizik
- interakce ve smíšených kulturách vybraných kmenů s ohledem na chování v definovaných podmínkách uvnitř potravinové matrice
- organoleptické změny
- konkurenční chování, životaschopnost v prostředí
- antagonismus proti patogenům a mikroorganismům způsobujících kažení
- primární metabolity fermentace
- probiotické účinky (Holzapfel, 2002).

3.6.7 Fermentované masné výrobky jako funkční potravina

Potraviny s obsahem probiotik jsou řazeny do skupiny funkčních potravin, které mohou uplatňovat zdravotní benefity pro konzumenta. Mezi tyto přínosy patří antimikrobiální aktivita, snížení gastrointestinálních infekcí, snížení hladiny cholesterolu, stimulace imunitního systému a další. Jejich Přínos je založen na obsahu živých probiotiky, a to hlavně zástupců kmenů *Bifidobacterium* a *Lactobacillus*. Vývoj fermentovaných masných výrobků s probiotiky je náročný, protože jejich životaschopnost je ovlivněna vysokým obsahem soli, nízkým pH a nízkou aktivitou vody v důsledku sušení (Zhang et al., 2010).

TFMV jsou vhodné pro přepravu probiotických bakterií, protože jsou obvykle jen mírně zahřívány, a to může podpořit přežití probiotických bakterií v gastrointestinálním traktu.

Důležitý je výběr vhodných mikroorganismů, které mají být použity jako probiotické kmeny v prostředí fermentované masové matrice. Zjevnou možností je proto použití bakterií, které se běžně pro produkci TFMV používají. Tímto způsobem bylo získáno a zkušeno několik kmenů jako například *Lactobacillus sakei*, *Pediococcus acidilactisi* a rovněž izoláty *Lactobacillus casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*. U všech zkušovaných bakterií byla testována nejenom schopnost přežití od fermentace, zrání, chlazení, až ke skladování ale i životaschopnost v umělé žaludeční šťávě a střevní tekutině a adhezi k buňkám střeva člověka a produkci organických kyselin k inaktivaci patogenů in vitro. Nicméně demonstrace takových vlastností nemusí nutně vést ke konsolidaci zejména proto, že studie u lidí obvykle chybí (Vuyst, 2008).

Překážková teorie obsahuje úmyslnou kombinaci konzervačních technik za účelem stanovení řady konzervačních faktorů ke zlepšení mikrobiální stability a sensorické kvality potravin stejně jako jejich nutričních a ekonomických vlastností. Nejdůležitější překážky používané při konzervování potravin jsou teplota (vysoká nebo nízká), aktivita vody, kyselost (pH), redox potenciál (Eh), konzervační látky (např. dusitan) a konkurenční mikroorganismy (např. bakterie kyseliny mléčné) (Zhou et al., 2010).

3.7 Sensorická analýza

Senzorickou analýzu lze definovat jako vědeckou analytickou metodu, při které se tzv. sensorické vlastnosti potravin stanovují lidskými smysly: zrak, čich, chuť, hmat a zvuk a získané informace jsou zpracovány centrálním nervovým systémem (Banović et al., 2009).

Senzorické hodnocení potravin patří mezi nejstarší metody kontroly jakosti, které vykonává výrobce, ale především i spotřebitel (Jandásek, 2012). Spotřebitel získává první expozici zrakem, když hodnotí vzhled masných výrobků v obchodě. Existuje několik charakteristik, jako je barva, stupeň tučnosti, struktura povrchu a mnoho dalších, které pomáhají spotřebiteli při rozhodování o koupi. (Banović et al., 2009).

Důraz při sensorickém hodnocení masných výrobků je kladen zejména na vzhled, barvu, texturu, vůni a chuť. Klíčový vliv na koupi výrobku spotřebitelem má celkový vzhled výrobku (velikost, tvar, barva). Důležitá je především barva, u které se ale preference spotřebitele mohou lišit. Někdo dává přednost výraznějšímu zbarvení a někdo naopak preferuje světlé, méně výrazné zbarvení. Jakákoliv odchylka od standardu může způsobit snížení zájmu. Co se týká textury, masné výrobky se vyznačují určitým stupněm rozmělnění a v těchto případech se texturní vlastnosti vyznačují homogenitou a typicky jemnou nebo hrubozrnnou strukturou, což je vidět kromě mechanických vlastností i na soudržnosti vazby vytvořené mezi částicemi masa a určitá houževnatost. Hodnocení vůně předchází vždy hodnocení chuti a očekává se přiměřeně intenzivní a typická vůně pro daný druh výrobku. Očekávaná chuť se odvíjí od druhu výrobku. U TFMV je požadována charakteristická chuť po mase, odpovídajícím koření a typicky kyselou chuť spojenou s fermentací (Essien, 2003; Font-i-Furnols et Guerrero, 2014).

Senzorická analýza zahrnuje řadu nástrojů pro měření lidských reakcí na potraviny. Výběr použitých testů, testovacích podmínek a analýza dat vede k reprodukovatelným, výkonným a relevantním výsledkům (Drake, 2007).

V sensorické analýze jsou využívány dva základní způsoby hodnocení založené na sledování příjemnosti (hedoniky), intenzity nebo celkového vjemu. Hedonické hodnocení je

založeno na hodnocení příjemnosti celku nebo dílčích znaků. Hodnocení intenzity sleduje intenzitu posuzovaného znaku. Celkový dojem dává informaci o harmonii příjemnosti a intenzity (Jandásek, 2012).

Používané metody mohou být: popisné (metoda volného slovního popisu), rozdílové (zkouška párová, trojúhelníková, duo-trio, 2/5), srovnávací se standardem a profilové. U profilových zkoušek se celkový vjem výrobku rozdělí na dílčí deskriptory, které jsou hodnoceny každý zvlášť. Jako nástroj pro vlastní hodnocení produktu se využívá často stupnice, pomocí které jsou kvantifikovány rozdíly mezi sledovanými vzorky. Stupnice mohou být kategorové, bodové nebo grafické, které se dále liší tím, zda jsou strukturované či nestrukturované. Senzorické profily jsou často vyjadřovány graficky pro lepší přehlednost. Nejčastěji jsou využívány diagramy kruhové, půlkruhové, pavučinové, hvězdicové a lineární (Jandásek, 2012; Jarošové, 2001).

Senzorické hodnocení může být provedeno s použitím instrumentálních metod. Tyto metody využívají fyzikální a chemické měření a lze je využít například pro měření barvy, texturních vlastností a aromatických látek. Z texturních vlastností je to například měření křehkosti (tuhosti) Warner-Bratzlerovým testem, který využívá střížné síly, který modeluje první skousnutí sousta v ústech. Pro měření barvy se využívají například spektrofotometrických metod. Měření chuti a vůně elektrickým nosem a jazykem (Kinclová et al., 2004; Warris, 2000).

Výhodou přístrojového měření je, že jsou jednoduché, často automatizované, časově nenáročné a poskytují dobře opakovatelné a reprodukovatelné výsledky, které lze jednoduše statisticky zpracovat. Tyto metody, ale měří jen podněty (fyzikální nebo chemické). Lze je tedy použít jen v případě, pokud je znám vztah mezi intenzitou podnětu (instrumentální měření) a charakterem vjemu (senzorické analýzy) (Kinclová et al., 2004).

4 Materiál a metodika

V rámci diplomové práce byl sledován vliv rozdílných startovacích kultur na průběh fermentace, sušení a zrání a na konečné senzorycké vlastnosti TFMV. Masné výrobky byly připravovány v provozních podmínkách společnosti Uzeniny Příbram, a.s. Byly připraveny 3 rozdílné šarže Brdské klobásy a 3 rozdílné šarže salámu Třemšín s původními a inovovanými startovacími kulturami dodanými společností Novali, a.s. Startovací kultury NOVAFERM byly vyvinuty mezinárodním týmem a zpracovány v německém závodě s těmi nejpřísnějšími kritérii.

Předmětem zájmu bylo sledování pH, změny obsahu vody, vodní aktivity, obsah tuku. Byl sestavena sorpční izoterma. Byly provedeny mikrobiologické rozborů vlivu použitých startovacích kultur na *Listeria innocua*.

4.1 Výroba

4.1.1 Seznam použitých surovin

- Hovězí zadní výrobní (HZV/H2) – Maso zbavených tvrdých šlach s viditelných podílem tuku (asi 5 %), tenké povázky jsou přípustné. Výrobce: Uzenina Příbram a.s., země původu: Česká republika
- Vepřové výrobní maso – výrobce: Uzenina Příbram a.s., země původu: Česká republika
 - Vepřové libové I (V2/VL) – Libové maso, libové ořezy s max. 5 % viditelného tuku
 - Vepřové libové II (V3/VLII) – Libové ořezy s větším podílem povázek a měkkých šlach, kolem 5 % tuku
 - Vepřové libové bez kůže – tučné boky (V5/VVb.k.) – Tuhé boky a ořezy s viditelným podílem tuku, až 60 % bez kůže
 - Syrové hřbetní sádlo bez kůže (V8/Vsb.k.)
- Dusitanová solící směs – dodavatel: European Salt Company GmbH & Co KG
- Kořenící kombinovaná směs – dodavatel: ALFA-FOOD s.r.o.
 - Složení Brdská klobása: paprika sladká mletá, chilli mleté, kmín mletý, česnek mletý, pepř černý mletý, dextróza, cukr, extrakt koření (paprikový extrakt, pepř černý extrakt), Antioxidant E316.
 - Složení Třemšín: Složení kořenící kombinované směsi: dextróza, pepř černý mletý, česnek mletý, aroma, cukr
- Startovací kultura NOVAFERM S2, A2, F-50, F-AL50 – dodavatel: Novali, a.s.
 - **Původní startovací kultura S2** (Brdská klobása): *Lactobacillus curvatus*, *Staphylococcus carnosus* (celkový počet mikroorganismů $\geq 1,6 \cdot 10^{10}/g$)
 - **Původní startovací kultura A1** (Třemšín): *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus carnosus*, *Lactobacillus curvatus*, *Kocuria varians* (celkový počet mikroorganismů $\geq 4,4 \cdot 10^{10}/g$)
 - **Inovovaná startovací kultura F-50**: *Lactobacillus curvatus*, *Staphylococcus carnosus* (celkový počet mikroorganismů $\geq 1,5 \cdot 10^{10}/g$)

- **Inovovaná startovací kultura ochranná F-AL-50:** *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Staphylococcus carnosus* (celkový počet mikroorganismů $\geq 2,5 \cdot 10^{10}/g$)
- Vepřová střeva 32/34 – dodavatel: Kubima s.r.o.
- NaloFaser (umělý uzenařský obal na bázi generované celulózy a jsou navíc vyztuženy dlouhovrstvým faserovým rounem z nativní celulózy) – dodavatel: Kalle cz s.r.o.

4.1.2 Postup přípravy Brdské klobásy a Třemšínu

Výroba probíhala v masné výrobě společnosti Uzeniny Příbram, a.s. v Příbrami. Vzorky byly vyrobeny ve třech opakováních s časovou prodlevou. Hlavní surovinou pro výrobu TFMV bylo hovězí a vepřové maso, přičemž váha jedné šarže díla odpovídala 155,6 kg u Brdské klobásy a 156,6 kg u Třemšínu.

Maso, které bylo použito jako mražené bylo předem zmrazeno na -10 až -15 °C a poté nasekáno na sekačce masa. Použité čerstvé maso bylo předem namleté na 4–5 mm. Po přípravě masa následovalo míchání v kutru (GEA, Německo). Do kutru se nejdříve vložilo zmrzlé maso a následně startovací kultura, kombinovaná směs koření a dusitanová solící směs, a nakonec bylo přidáno čerstvé maso. Teplota dosažená při míchání díla by měla být -4 až -1 °C.

K plnění díla do obalových střev byla využita automatická narážka (vakuová narážka VEMAG, Německo). Naražení Brdské klobásy bylo provedeno přes řezací hlavu s koncovou deskou 3,5 mm do vepřových střev kal. 32/34 a následným přetáčením nožiček, aby celková délka nožičky byla cca 18 cm. Třemšín byl narážen totožnou vakuovou narážkou přes řezací hlavu s koncovou deskou 2,0 mm do střev NaloFaser bílé barvy o celkové délce salámu 50 cm. Konce salámu byly klipsovány a následně naskládány do forem a zatíženy pro správné vytvarování.

Fermentace a zrání výrobků probíhalo za řízeného proudění vzduchu, vlhkosti vzduchu a teploty. Po dosažení požadovaných hodnot byly výrobky uloženy do chladicí komory a následně zabaleny (Tabulka 1 a Tabulka 2 udává procesy a nastavení komor).

Tabulka 1 – Procesy a nastavení komor u Brdské klobásy

Název výrobku	Číslo kroku	Teplota	Vlhkost	Proudění	Klapka	Čas	Proces
Brdská klobása	1.	24 °C	85 %	85 %	60 %	0 – 6 hodin	Sušení
	2.	24 °C	80 %	85 %	60 %	6 – 6,5 hodin	Žhavení
	3.	24 °C	80 %	52 %	60 %	6,5 – 7,5 hodin	Kouř
	4.	22 °C	85 %	85 %	60 %	7,5 – 13,5 hodin	Sušení
	5.	22 °C	80 %	85 %	60 %	13,5 – 14 hodin	Žhavení
	6.	22 °C	80 %	52 %	60 %	14 – 15 hodin	Kouř
	7.	22 °C	80 %	85 %	60 %	15 – 21 hodin	Sušení
	8.	22 °C	80 %	85 %	60 %	21 – 21,5 hodin	Žhavení
	9.	22 °C	80 %	52 %	60 %	21,5 – 23,5 hodin	Kouř
	10.	20 °C	80 %	85 %	80 %	23,5 – 99 hodin	Sušení

Tabulka 2 – Procesy a nastavení komor u salámu Třemšín

Název výrobku	Číslo kroku	Teplota	Vlhkost	Proudění	Klapka	Čas	Proces
Salám Třemšín	0.	6 °C mimo komoru				0 – 48 hodin	Tvarování
	1.	24 °C	85 %	85 %	60 %	48 – 56 hodin	Sušení
	2.	22 °C	85 %	85 %	65 %	56 – 64 hodin	Sušení
	3.	20 °C	80 %	85 %	60 %	64 – 72 hodin	Sušení
	4.	18 °C	80 %	85 %	80 %	72 – 99 hodin	Sušení
	5.	18 °C	80 %	70 %	65 %	99 hodin ≤	Sušení

Byly vyrobeny celkem 3 šarže Brdské klobásy a 3 šarže salámu Třemšín, odlišující se vždy v použité startovací kultuře. Všechny použité suroviny a následující proces fermentace, uzení a zrání probíhal u každé kategorie výrobku za stejných podmínek. Původními startovacími kulturami (Standard) byly S2 pro Brdskou klobásu a A1 pro salám Třemšín. Šarže 1 obsahovala pro oba druhy výrobku totožnou startovací kulturu F-50 a Šarže 2 obsahovala ochranou kulturu F-AL-50. Výroba se opakovala dvakrát pro získání průkaznějších výsledků.

Tabulka 3 - Použité receptury u klobásy Brdská

Brdská Klobása nepálivá (po sušení 100 kg)	
Základní suroviny	Množství (kg)
H – 2 (4 – 5 mm)	40
V – 3 (4 – 5 mm)	10
V – 2 mražené	50
V – 8 mražené	50
Dusitanová solící směs	3,15
Kořenící kombinovaná směs (Brdská klobása nepálivá)	2,40
Startovací kultura (S 2/ F-50/ F-AL-50)	0,02

Tabulka 4 - Použité receptury u salámu Třemšín

Třemšín salám (po sušení 100 kg)	
Základní suroviny	Množství (kg)
V – 2 (4 – 5 mm)	65
H – 2 (4 – 5 mm)	6
V – 5 mražené	50
V – 8 mražené	10
V – 3 mražené	20
Dusitanová solící směs	3,75
Kořenící kombinovaná směs (Třemšín)	1,80
Startovací kultura (A1/ F-50/ F-AL-50)	0,02



Obrázek 3 - Sekačka masa



Obrázek 7 - Vyndávání díla



*Obrázek 8 - Zrání v komoře salámu
Třemšín*



Obrázek 4 - Míchání díla v kutru



Obrázek 5 - Připravené dílo Brdské klobásy v kutru



Obrázek 6 - Narážení díla



*Obrázek 9 - Navěšená Brdská klobása na
udírenském koši*

4.2 Metodika senzoričkého hodnocení

Senzoričká analýza se uskutečnila ve Výzkumném ústavu živočišné výroby v Uhřetěvsi v akreditované senzoričké laboratoři (ISO 8589). Uvedená laboratoř disponuje individuálními boxy, které zamezují ovlivňování hodnotitelů okolí. Vzorky byly zakódovány pomocí třímístného kódu a umístěny nakrájené na talíř a předkládány panelu hodnotitelů. Hodnocení bylo provedeno pod bílým světlem.

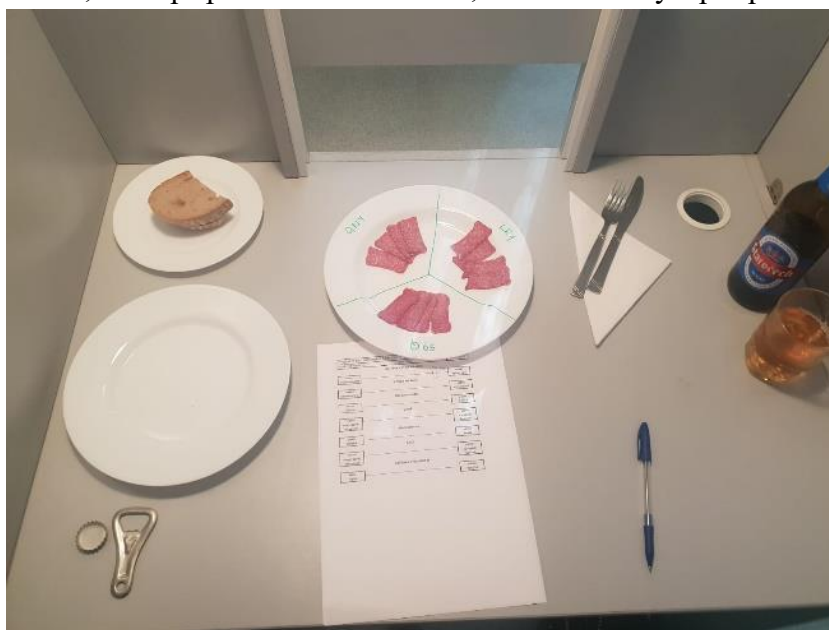
4.2.1 Senzoričká analýza

4.2.1.1 Zkušební místnost

Uspořádání zkušební místnosti určené pro senzoričkou analýzu odpovídá požadavkům normy ISO 8589. Místnost je vybavena kójemi pro oddělení hodnotitelů. Každá kóje je vybavena dvěma světly – červeným pro analýzu bez hodnocení barvy, bílým pro analýzu s hodnocením barvy.

4.2.1.2 Vybavení kóje

Každá kóje obsahovala bílé talíře, sklenice bez potisku, příbor, ubrousek a sada protokolů pro záznam výsledků. Jako neutralizační sousto byl hodnotitelům předkládán mezi jednotlivými vzorky čerstvý chléb, voda případně nealkoholické, nebo světlé výčepní pivo.



Obrázek 10 - Průběh senzoričkého hodnocení slámu Třemšín

4.2.1.3 Příprava a podávání vzorků

Vzorky klobás a salámů byly nakrájené na přiměřeně stejně tenké plátky pomocí nářezového stroje pro zajištění homogenity vzorků. Nakrájené vzorky byly pokládány na bílé talíře, které byly na tři části označených příslušnými kódy. Před předložením nakrájených vzorků panelu hodnotitelů, byly podány vzorky klobás a salámů předloženy vcelku pro

posouzení celkového vzhledu výrobku. Hodnoceny byly tři vzorky klobás a tři vzorky salámu, které pocházely ze stejných surovin a lišily se pouze v použité startovací kultuře i se zachováním stejného přídatku.

4.2.1.4 Vlastní hodnocení

V rámci dvou hodnocení byly panelem hodnotitelů posuzováno celkem 7 deskriptorů (viz Tabulka 5). Pro hodnocení byla použita grafická nestrukturována 100 mm dlouhá stupnice, která byla pro potřeby výpočtu převedena na číselnou škálu (0 – 100). Struktura hodnotitelského protokolu je k nahlédnutí v Příloha 1.

Tabulka 5 - Popis deskriptorů pro senzorické hodnocení

Deskriptor	Charakteristika vlastnosti	Škála
Celkový vzhled výrobku	povrch je suchý, podélně mírně vrásčitý, barva dle použitého technologického obalu	0 = extrémně nepříjemný 100 = extrémně příjemný
Vzhled na řezu	řez je lesklý, homogenní, ostrá kresba	0 = Extrémně příjemný (matný, rozmazaný) 100 = extrémně příjemný
Barva na řezu	posuzování barevné přijatelnosti na řezu(směrem k okraji může být barva světlejší)	0 = extrémně nepříjemný 100 = extrémně příjemný
Vůně	vydatnost a akceptovatelnost vůně, případně výskyt nepříjemných až odporných pachů	0 = extrémně nepříjemný 100 = extrémně příjemný
Konzistence	Hodnocení konzistence hmatem, tužší, soudržná struktura	0 = extrémně nepříjemný 100 = extrémně příjemný
Chuť	vydatnost a akceptovatelnost chuti (přiměřená kyselost, slanost, kořeněnost)	0 = extrémně nepříjemný 100 = extrémně příjemný
Celková přijatelnost	celková osobní preference hodnotitele	0 = extrémně nepříjemný 100 = extrémně příjemný

4.3 Metodika fyzikálně–chemické analýzy

4.3.1 Stanovení pH

Aktivní kyselost je dána koncentrací oxoniových iontů v měřeném vzorku a je vyjádřena jako hodnota pH. Stanovení pH u všech vzorků bylo pomocí pH metru KNICK Portavo 904 pH (Německo), který byl předem zkalibrován pomocí pufrů (pH 7 a 4) a teplota byla měřena teplotním čidlem Pt 1000 ZU 0156, který je součástí pH metru.

4.3.2 Stanovení a_w

Aktivita vody (a_w) neboli míra dostupnosti vody pro mikroorganismy, je významný termodynamický parametr, definována jako poměr parciálních tlaků vodních par nad potravinou a vodních par vzduchu za stejných podmínek.

Aktivita vody byla měřena přístrojem a_w metr Aqualab 4 TEV (USA), který je založen na principu zjišťování rosného bodu pomocí chlazeného zrcátka. Postup přípravy vzorku spočíval v umístění homogenního vzorku do vyjímatelné plastové nádoby tak, aby dno bylo zcela zakryté vzorkem a vzorek nepřesahoval nádobku více než z poloviny, kvůli sensorům v přístroji. Po ustálení teploty byly odečteny naměřené hodnoty aktivity vody.

4.3.3 Stanovení sušiny

Stanovení sušiny bylo provedeno gravimetricky. Sušení probíhalo při teplotě 105 °C v sušárně HS 32 A (ČR) do konstantního hmotnostního úbytku (zpravidla 2 hodiny).

Procentuální obsah vody (p_{H_2O}) byl vypočítán dle následujícího vzorce:

$$p_{H_2O} = \frac{m_{vz.} - m_{suš.}}{m_{vz.} - m} \cdot 100 \quad [\%]$$

m hmotnost vysoušecí misky s pískem, tyčinkou před sušením [g]

$m_{suš.}$ hmotnost vysoušecí misky se vzorkem, pískem a tyčinkou po sušení [g]

$m_{vz.}$ hmotnost vysoušecí misky, vzorku s tyčinkou po sušením [g]

Dopočet obsahu sušiny se vypočítal podle následujícího vzorce:

$$obsah\ sušiny = 100 - p_{H_2O} \quad [\%]$$

4.3.4 Stanovení tuku

Metoda je založena na extrakci tuku ze vzorku pomocí nepolárních rozpouštědel, odstranění rozpouštědla odpařením, sušením a vážením (gravimetricky).

Stanovení tuku bylo provedeno metodou dle Soxhleta pomocí extrakční jednotky systému Soxtec 2043 s programem sestávající se ze tří fází. Do extrakční patrony byl kvantitativně převeden vzorek. Miska byla důkladně vytřena chomáčkem vaty (ovlhčeným rozpouštědlem) a vložena do extrakční patrony. Extrakce proběhla v systému Soxtec dle nastavených podmínek. Potom byl extrakční kelímek sušen v sušárně 1 hodinu při 60 °C. Po vychladnutí v exikátoru byl zvážen s přesností na 0,001g. Postup byl takto opakován do konstantní hmotnosti vzorku. Výpočet obsahu tuku probíhal podle následujícího vzorce:

$$x = \frac{m_{k+t} - m_k}{m_{vz.}} \cdot 100 \quad [\%]$$

m_{k+t} hmotnost extrakční baňky s varnými kuličkami a tukem po vysušení [g]

m_k hmotnost extrakční baňky s varnými kuličkami [g]

$m_{vz.}$ hmotnost vzorku odebraného pro sušení [g]

4.3.5 Měření sorpčních izoterem

Sorpční izoterma definuje vztah mezi aktivitou vody a obsahem vody při dané teplotě. Tento vztah je pro každý produkt z důvodu různých interakcí mezi vodou a pevnými složkami při různém obsahu vody zcela jedinečný a složitý (Al-Muhtaseb, 2002).

V této práci byl pro měření sorpčních izoterem použit přístroj AquaLab Vapor Sorption Analyzer (VSA), (Decagon Devices, USA). Měření probíhalo dynamickou metodou DDI (Dynamic Dew Point Isotherm). Metoda DDI je založena na měření sorpční izotermy pomocí gravimetrické analýzy a měření aktivity vody. Principem je zvlhčování vzorku, pokud se jedná o adsorpci a sušení vzorku, kdy vlhkost je odváděna k absorberu, a zde hovoříme o desorpci. Obsah vody se určuje vážením vzorku s vysokou přesností měření a pro zjištění aktivity vody je měřen rosný bod pomocí chlazeného zrcátka. Výhody metody jsou především v její rychlosti měření, prevenci růstu plísní při vysokých hodnotách aktivity vody, velké množství datových bodů, a kromě toho je nutné pouze sušidlo a voda ke změření sorpční izotermy. Ke měření byly vybrány vzorky brdské klobásy a tř. salámu na konci procesu fermentace v rozmezí aktivit vody od 0,7 – 0,95 (Carter et al., 2008; Romani et al., 2016).

I když existuje 270 izotermických modelů, nejčastěji používanými modely jsou pouze dva modely a to Guggenheim-Andersen-de Boer (GAB) a Nrunauer-Emmett-Teller (BET) (Noutegomo et al, 2019).

Použitý model GAB je široce přijímán jako nejužitečnější pro charakterizaci sorpčních izoterem v celém rozsahu aktivity vody. Rovnice modelu GAB má tento tvar (Kachrimanis, 2006):

$$m = \frac{m_o k_b c a_w}{(1 - k_{baw})(1 - k_b a_w + k_b c a_w)}$$

m vlhkost (g/100 g sušiny)

a_w aktivita vody

m_o vlhkost monomolekulární vrstvy (g/100g sušiny)

$k_{b,c}$ konstanty

Nový empirický model DLP, který se ukázal být ještě lepší, než GAB při charakterizaci komplexních izoterm má tento tvar (Kachrimanis, 2006):

$$m = b_3 X^3 + b_2 X^2 + b_1 X + b_0$$

m vlhkost (g/100 g sušiny)

$b_0 - b_3$ empirické konstanty

$X = \ln [-\ln(a_w)]$

4.4 Metodika prověření účinnosti startovacích kulturovení (měření velikosti inhibičních zón)

Materiál:

- *Listeria innocua* ATCC 33090

Pro kultivaci testovaných sbírkových kmenů bakterií byla použita následující kultivační média:

- Bujón z mozkosrdcové infúze (BHI – brain hearth infusion) – Merck, DEU
- Agar z mozkosrdcové infuse (BHA – brain hearth agar) – Merck, DEU

Postup práce:

V práci byla použita jako testovací mikroorganismus bakterie *Listeria innocua*. Tato bakterie byla vybrána proto, že se jedná o nepatogenní druh listérie, s podobnými vlastnostmi jako mají patogenní druhy a bylo s ním tedy možné pracovat (z hlediska bezpečnosti a nepatogenity) v studentských laboratořích. Kultivace *L. innocua* proběhlo z kryozkumavky a z Kwik–stiku do zkumavky s 20 ml sterilního BHI bujónu (pH po sterilaci 7,5). Do zkumavky byl přidán jedna kryozkumavka a ponořena tyčinka (kwik-stik). Následně byly zkumavky vloženy do termostatu při 37 °C , po dobu 24 ± 3 hodin. Další kultivace *L. innocua* probíhala v 20 ml sterilního BHI bujónu (pH po sterilaci 7,5), zaočkováním 1 % obj. inokula, kmeny byly uchovávány v lednici a přeočkovávány každých 14 dní. Pro stanovení počtu buněk *L. innocua* byla použita půda BHA (pH po sterilaci 7,4). Následně se pracovalo s ionokulem *L. innocua* o počtu minimálně 10⁶ KTJ/g inokula. Pro stanovení inhibice růstů *L. innocua* byla použita půda BHA (pH po sterilaci 7,4). Kultivace během inhibičního testu probíhala při 20 a 37 °C po dobu 24 h ± 3 h. Pro ověření inhibice byly měřeny velikosti inhibičních zón 0,1% roztoků startovacích kultur.

4.5 Metodika statistického vyhodnocení senzorické analýzy

Data pro senzorickou analýzu byla hodnocena ve statistickém programu SAS (SAS Institute Inc., USA) s využitím smíšeného lineárního modelu (MIXED) a metody REML. Jako pevný efekt byl do modelové rovnice zařazena šarže výrobku a jako náhodný efekt den hodnocení a hodnotitel. Prezentovaná data v Tabulkách 6 a 7 jsou vyjadřovány jako nejmenší průměrné čtverce (LSM) s příslušnou standardní chybou. Statistická významnost rozdílů mezi skupinami byla testována Tukey – Kramerovým testem. Data jsou vyjádřena jako LSM (nejmenší průměrné čtverce) a odpovídající SEM (standardní chybou průměru). Následně byly hodnoty LSM vyneseny do pavučinového grafu.

5 Výsledky

5.1 Výsledky sensorického hodnocení

Výsledné hodnoty sensorické analýzy z obou setů výroby byly souhrnně zaznamenány do tabulek a graficky vyobrazeny pomocí pavučinových grafů.

5.1.1 Výsledky sensorického hodnocení Brdské klobásy

Výsledné hodnoty sensorické analýzy získané pomocí statistického vyhodnocení byly zaznamenány do Tabulky 6 a graficky znázorněny v Grafu 1. Mezi určitými vzorky jsou patrné statisticky významné rozdíly, které naplnily hypotézu.

Celkový vzhled výrobku – Při sensorickém hodnocení celkového vzhledu výrobku byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi Standardem a Šarží 1 a Standardem a Šarží 2. Celkový vzhled byl nejlépe hodnocen u Šarže 2.

Vzhled na řezu – Při posuzování tohoto parametru byl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi Standardem a Šarží 1 a Standardem a Šarží 2. Vzhled na řezu byl nejpříznivěji hodnocen u Šarže 2.

Barva na řezu – U parametru barvy na řezu byl statisticky významný rozdíl mezi vzorky Standardu a Šarže 2. Nejlépe byla hodnotiteli hodnocena barva u Šarže 2, následovala Šarže 1 a nejméně příznivě byly hodnoceny vzorky Standardu.

Chuť – Statisticky významný rozdíl byl zaznamenán mezi Standardem a Šarží 1 a Standardem a Šarží 2. Hodnocení Šarže 1 a 2 bylo vyrovnané. Při celkovém hodnocení chuti byly hodnotiteli nejvíce preferovány vzorky Šarže 1 a 2 před Standardem.

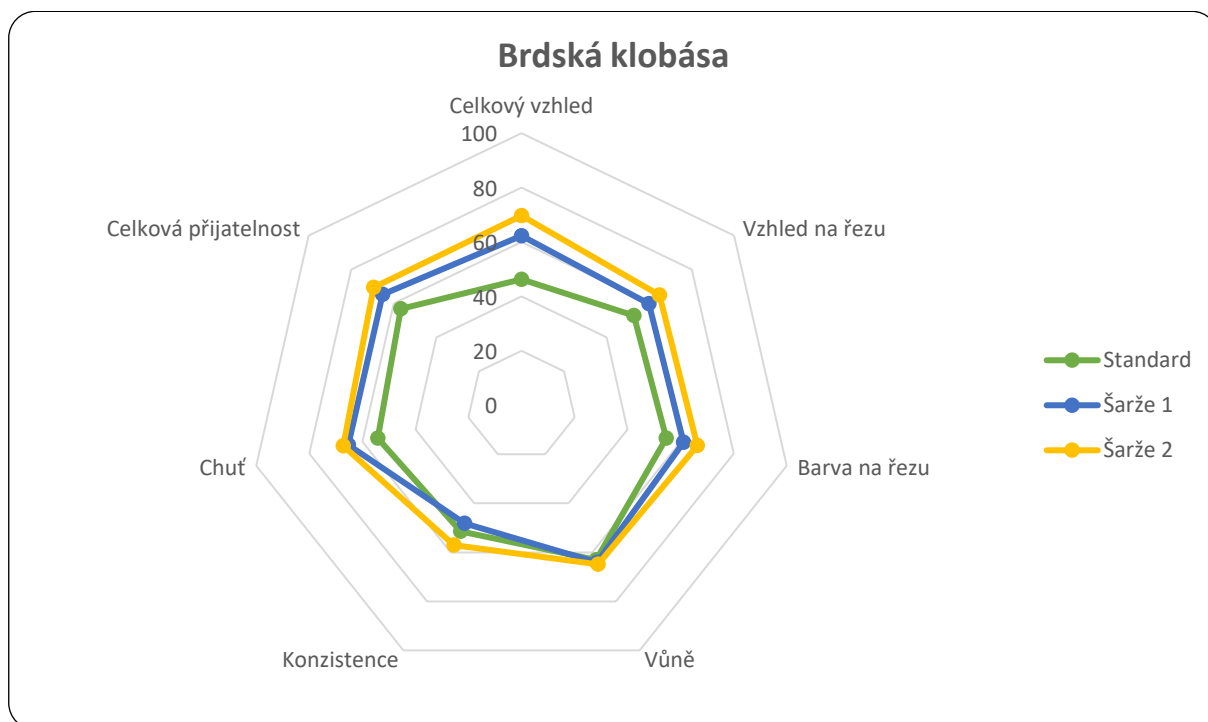
Celková přijatelnost – Při posuzování celkové přijatelnosti vyšel staticky významný rozdíl mezi Standardem a Šarží 1 a Standardem a Šarží 2. Celkově byly nejvíce preferovány hodnotiteli vzorky Šarže 2.

U deskriptorů vůně a konzistence nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi vzorky.

Tabulka 6 - Výsledné hodnoty sensorického hodnocení u Brdské klobásy

Hodnocené deskriptory	Standard <i>LSM</i>	Šarže 1 <i>LSM</i>	Šarže 2 <i>LSM</i>	<i>SEM</i>	Významnost <i>p-value</i>
Celkový vzhled	46,3 ^B	62,3 ^A	69,7 ^A	3,52	<0,0001
Vzhled na řezu	52,9 ^B	59,9 ^A	64,9 ^A	3,74	0,0159
Barva na řezu	54,6 ^B	61,1 ^{AB}	66,3 ^A	3,78	0,0193
Vůně	63,1	64,1	64,9	3,37	0,9109
Konzistence	51,5	48,2	57,1	6,22	0,1117
Chuť	54,2 ^B	65,3 ^A	67,2 ^A	5,29	0,0026
Celková přijatelnost	56,8 ^B	65,3 ^A	69,5 ^A	4,23	0,0027

^{A,B,C} Hodnoty označené rozdílnými symboly se navzájem statisticky významně liší ($P < 0,05$)



Graf 1 – Pavučinový graf sensorických profilů vzorků Brdské klobásy

5.1.2 Výsledky sensorického hodnocení salámu Třemšín

Výsledné hodnoty sensorické analýzy salámu Třemšín získané pomocí statistického vyhodnocení byly zaznamenány do souhrnné Tabulky 7 a graficky vyobrazeny pomocí pavučinového Grafu 2. Při hodnocení salámu Třemšín byly výsledky více vyrovnané než v případě hodnocení Brdské klobásy. Pro naplnění hypotézy byl důležitý deskriptor chuti, kde byl pozorován statisticky významný rozdíl.

Konzistence – Při hodnocení konzistence byl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi Standardem a Šarží 1. Nejnižší hodnocení z hlediska konzistence získaly vzorky Standardu.

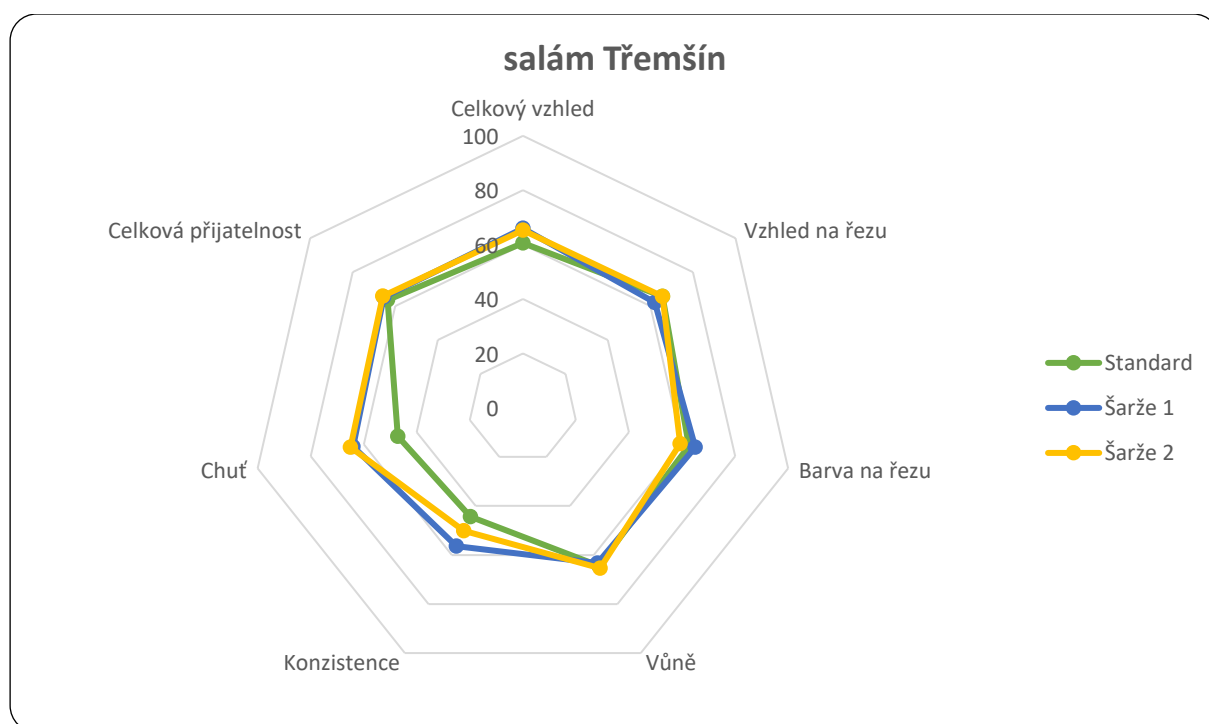
Chuť – Byl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi Standardem a Šarží 1 a Standardem a Šarží 2. V parametru chuti byly vzorky první a druhé Šarže hodnoceny vyrovnaně.

U ostatních deskriptorů sensorického hodnocení salámu (celkový vzhled výrobku, vzhled na řezu, vůně a celková přijatelnost) nebyl stanoven panelem hodnotitelů statisticky významný rozdíl mezi vzorky a hodnocení bylo velmi vyrovnané.

Tabulka 7 - Výsledné hodnoty senzoričkého hodnocení u salámu Třemšín

Hodnocené deskriptory	Standard <i>LSM</i>	Šarže 1 <i>LSM</i>	Šarže 2 <i>LSM</i>	<i>SEM</i>	Významnost <i>p-value</i>
Celkový vzhled	60,6	66,0	65,3	3,58	0,3789
Vzhled na řezu	65,7	62,1	65,7	3,44	0,6163
Barva na řezu	62,6	65,0	59,3	3,74	0,4229
Vůně	64,4	63,3	65,4	3,59	0,8961
Konzistence	44,4 ^B	56,4 ^A	50,1 ^{AB}	6,48	0,0146
Chuť	47,2 ^B	64,0 ^A	65,0 ^A	3,13	<0,0001
Celková přijatelnost	63,6	65,4	65,8	3,72	0,8566

^{A,B,C} Hodnoty označené rozdílnými symboly se navzájem statisticky významně liší ($P < 0,05$)



Graf 2 - Pavučinový graf senzoričkových profilů vzorků salámu Třemšín

5.2 Výsledky fyzikálně-chemické analýzy

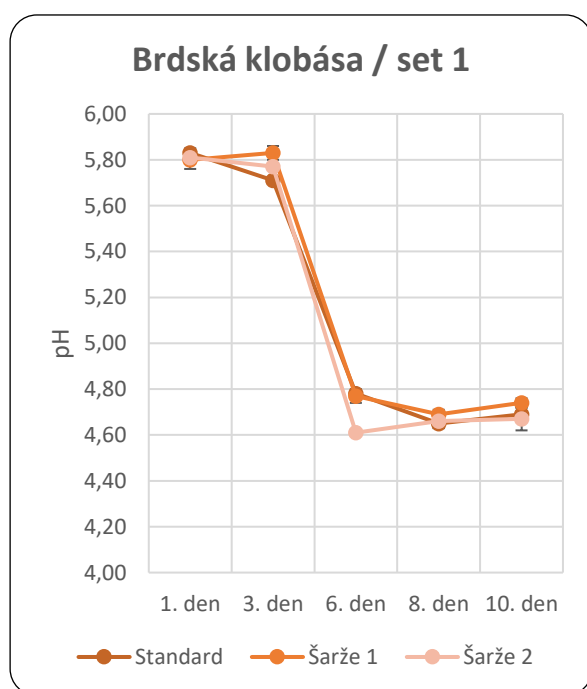
5.2.1 Stanovení pH

Změny hodnot pH byly pravidelně zaznamenávány u všech tří šarží Brdské klobásy a salámu Třemšín, a to ve dvou setech. Každý vzorek byl změřen dvakrát, z čehož byl vždy vypočten průměr a směrodatná odchylka. Z Tabulek 8 a 9 je patrné, že hodnota pH se během fermentace snižuje. Největší pokles hodnoty pH je u všech vzorků od třetího do šestého dne fermentace a tato hodnota byla nadále konstantní. Od osmého dne je viditelný mírný vzestup, a to převážně u vzorků salámu Třemšín, u kterého probíhala delší doba sušení. Vývoj změny

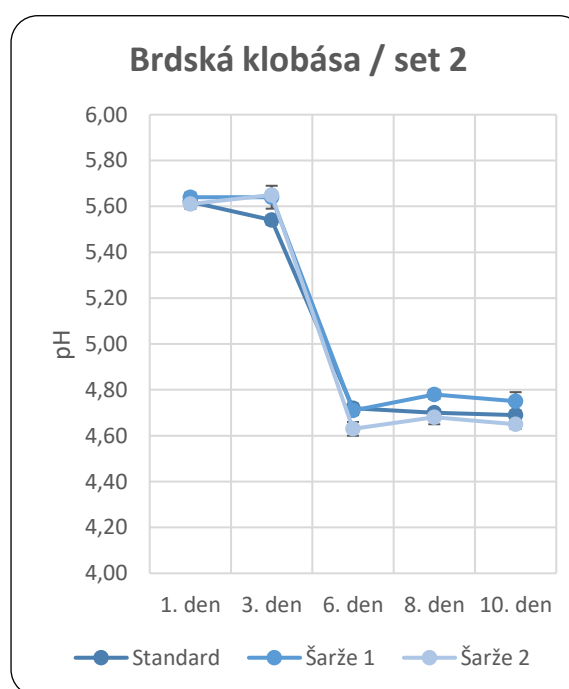
pH znázorňují Grafy 5 a 6 z nichž je patrné, že fermentační účinek startovacích kultur byl u všech použitých startovacích kultur podobný.

Tabulka 8 - Výsledné hodnoty měření pH brdské klobásy

Brdská klobása		Standard		Šarže 1		Šarže 2	
		pH	odchylka	pH	odchylka	pH	odchylka
Set 1	1. den	5,83	±0,02	5,80	±0,04	5,81	±0,01
Set 1	3. den	5,71	±0,01	5,83	±0,03	5,77	±0,01
Set 1	6. den	4,78	±0,01	4,77	±0,03	4,61	±0,01
Set 1	8. den	4,65	±0,02	4,69	±0,02	4,66	±0,03
Set 1	10. den	4,69	±0,03	4,74	±0,02	4,67	±0,05
Set 2	1. den	5,62	±0,03	5,64	±0,02	5,61	±0,01
Set 2	3. den	5,54	±0,02	5,64	±0,05	5,65	±0,01
Set 2	6. den	4,72	±0,02	4,71	±0,02	4,63	±0,03
Set 2	8. den	4,70	±0,01	4,78	±0,02	4,68	±0,03
Set 2	10. den	4,69	±0,01	4,75	±0,04	4,65	±0,02



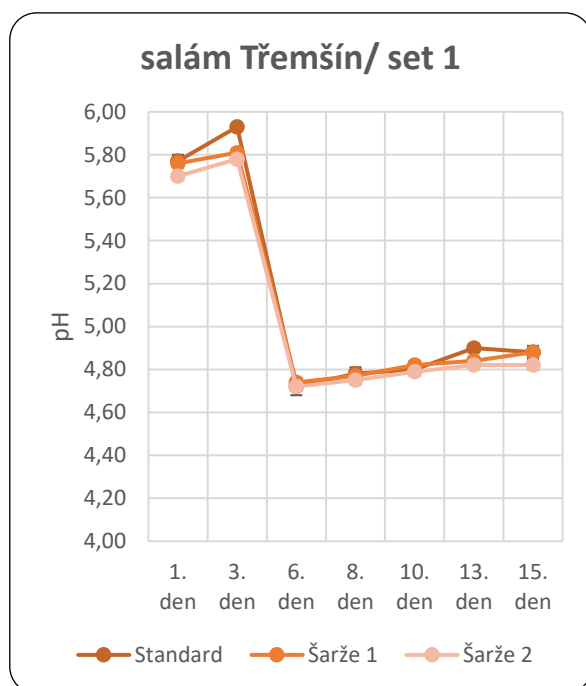
Graf 4 - Změna pH během výrobního procesu Brdské klobásy u setu 1



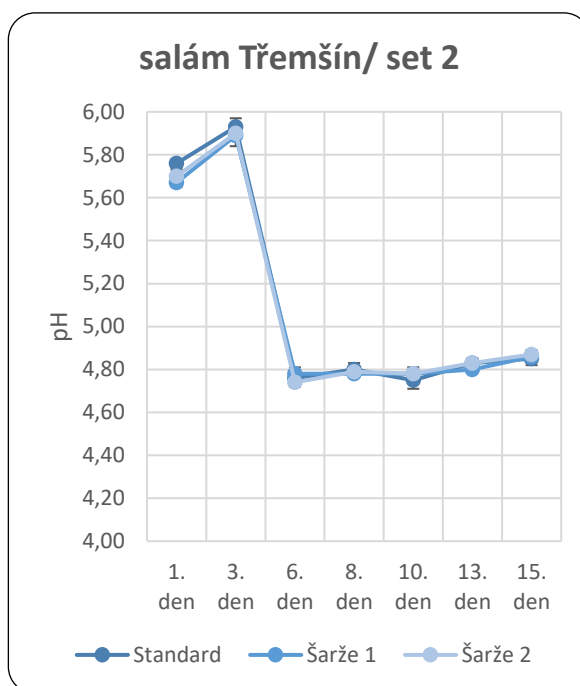
Graf 3 - Změna pH během výrobního procesu Brdské klobásy u setu 2

Tabulka 9 - Výsledné hodnoty měření pH salámu Třemšín

Salám Třemšín		Standard		Šarže 1		Šarže 2	
		pH	odchylka	pH	Odchylka	pH	odchylka
Set 1	1. den	5,77	±0,03	5,76	±0,01	5,70	±0,01
Set 1	3. den	5,93	±0,01	5,81	±0,02	5,78	±0,01
Set 1	6. den	4,72	±0,04	4,74	±0,02	4,72	±0,02
Set 1	8. den	4,78	±0,03	4,77	±0,03	4,75	±0,02
Set 1	10. den	4,80	±0,01	4,82	±0,02	4,79	±0,02
Set 1	13. den	4,90	±0,02	4,84	±0,02	4,82	±0,01
Set 1	15. den	4,88	±0,02	4,88	±0,03	4,82	±0,02
Set 2	1. den	5,76	±0,02	5,67	±0,02	5,70	±0,03
Set 2	3. den	5,93	±0,04	5,89	±0,05	5,90	±0,02
Set 2	6. den	4,76	±0,03	4,78	±0,03	4,74	±0,02
Set 2	8. den	4,80	±0,03	4,78	±0,01	4,79	±0,02
Set 2	10. den	4,75	±0,04	4,78	±0,01	4,78	±0,03
Set 2	13. den	4,83	±0,02	4,80	±0,01	4,83	±0,02
Set 2	15. den	4,85	±0,03	4,86	±0,02	4,87	±0,02



Graf 6 - Změna pH během výrobního procesu salámu Třemšín u setu 1



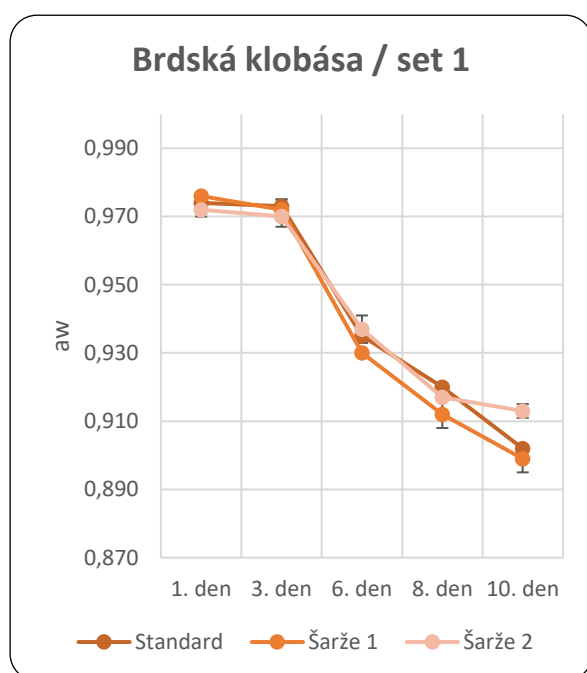
Graf 5 - Změna pH během výrobního procesu salámu Třemšín u setu 2

5.2.2 Stanovení aktivity vody

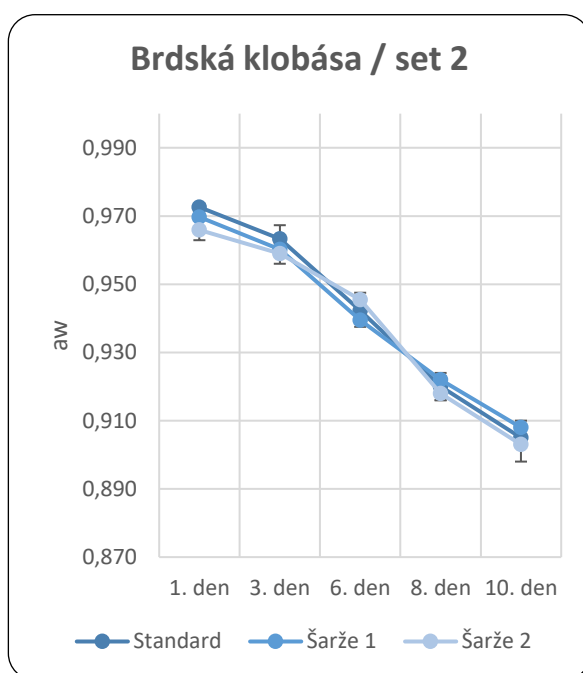
Mezi dalšími stanovenými parametry byla aktivity vody, která má zásadní vliv na údržnost TFMV. Vývoj aktivity vody byl zaznamenáván u všech tří šarží Brdské klobásy a salámu Třemšín ve dvou setech. Každý vzorek byl změřen dvakrát a výsledky byly zprůměrovány a byla dopočtena směrodatná odchylka. Z Tabulek 10 a 11 a Grafů 9 – 12 je patrné, že hodnoty a_w u všech šarží klesají během zrání a sušení vyrovnaně. Počáteční hodnoty aktivity vody díla odebraného po míchání se pohybovaly od 0,966 do 0,978. U Brdské klobásy klesla aktivita vody 10. den, kdy poté byla expedována, na hodnoty od 0,899 do 0,913 a salám Třemšín 15. den dosáhl hodnot od 0,899 do 0,905.

Tabulka 10 - Výsledné hodnoty měření aktivity vody u Brdské klobásy

Brdská klobása		Standard		Šarže 1		Šarže 2	
		a_w	odchylka	a_w	odchylka	a_w	odchylka
Set 1	1. den	0,974	±0,0030	0,976	±0,0010	0,972	±0,0020
Set 1	3. den	0,973	±0,0020	0,972	±0,0030	0,970	±0,0030
Set 1	6. den	0,935	±0,0020	0,930	±0,0010	0,937	±0,0040
Set 1	8. den	0,920	±0,0010	0,912	±0,0040	0,917	±0,0010
Set 1	10. den	0,902	±0,0010	0,899	±0,0040	0,913	±0,0020
Set 2	1. den	0,973	±0,0010	0,970	±0,0010	0,966	±0,0030
Set 2	3. den	0,963	±0,0040	0,960	±0,0010	0,959	±0,0030
Set 2	6. den	0,942	±0,0010	0,940	±0,0020	0,946	±0,0020
Set 2	8. den	0,920	±0,0040	0,922	±0,0010	0,918	±0,0020
Set 2	10. den	0,905	±0,0010	0,908	±0,0020	0,903	±0,0050



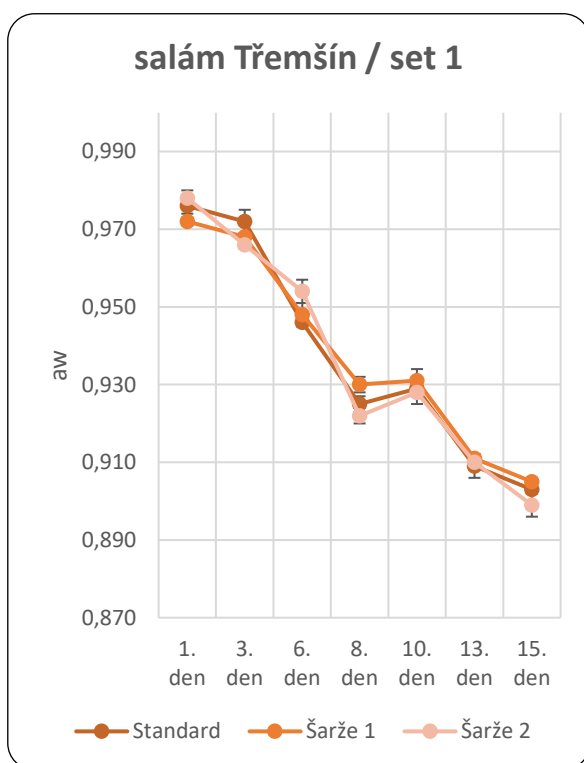
Graf 8 - Změna aktivity vody během výrobního procesu Brdské klobásy u setu 1



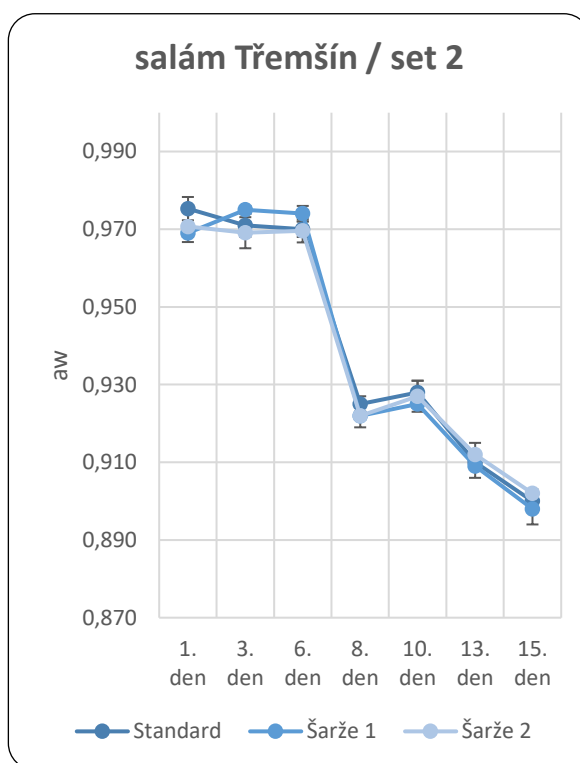
Graf 7 - Změna aktivity vody během výrobního procesu Brdské klobásy u setu 2

Tabulka 11 - Výsledné hodnoty měření aktivity vody u salámu Třemšín

salám Třemšín		Standard		Šarže 1		Šarže 2	
		<i>aw</i>	<i>odchylka</i>	<i>aw</i>	<i>odchylka</i>	<i>aw</i>	<i>odchylka</i>
Set 1	1. den	0,976	±0,0020	0,972	±0,0010	0,978	±0,0020
Set 1	3. den	0,972	±0,0030	0,968	±0,0030	0,966	±0,0010
Set 1	6. den	0,946	±0,0010	0,948	±0,0030	0,954	±0,0030
Set 1	8. den	0,925	±0,0020	0,930	±0,0020	0,922	±0,0020
Set 1	10. den	0,929	±0,0020	0,931	±0,0030	0,928	±0,0030
Set 1	13. den	0,909	±0,0030	0,911	±0,0010	0,910	±0,0020
Set 1	15. den	0,903	±0,0010	0,905	±0,0010	0,899	±0,0030
Set 2	1. den	0,975	±0,0030	0,969	±0,0010	0,971	±0,0040
Set 2	3. den	0,971	±0,0030	0,975	±0,0010	0,969	±0,0040
Set 2	6. den	0,970	±0,0020	0,974	±0,0020	0,970	±0,0030
Set 2	8. den	0,925	±0,0020	0,922	±0,0030	0,922	±0,0010
Set 2	10. den	0,928	±0,0030	0,925	±0,0010	0,927	±0,0040
Set 2	13. den	0,910	±0,0010	0,909	±0,0030	0,912	±0,0030
Set 2	15. den	0,900	±0,0010	0,898	±0,0040	0,902	±0,0010



Graf 10 - Změna aktivity vody během výrobního procesu salámu Třemšín u setu 1



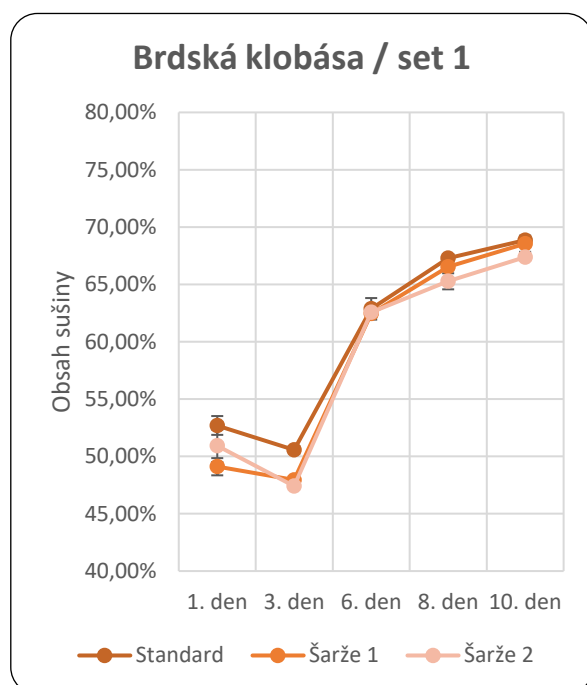
Graf 9 - Změna aktivity vody během výrobního procesu salámu Třemšín u setu 2

5.2.3 Stanovení sušiny

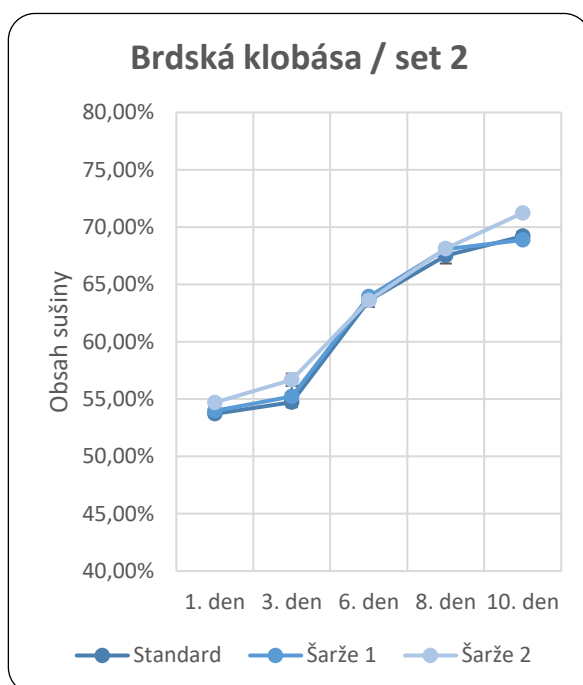
Obsah sušiny byl gravimetricky stanoven dvakrát pro každý vzorek v obou setech a dále byl vypočten průměr a směrodatná odchylka měření. Stanovení sušiny bylo provedeno u díla a poté každé 3 dny. Nárůst obsahu sušiny je zobrazen na Grafech 13 – 16 a výsledky uvedeny v Tabulkách 12 a 13.

Tabulka 12 - Výsledné hodnoty měření obsahu sušiny u Brdské klobásy

Brdská klobása		Standard		Šarže 1		Šarže 2	
		Sušina	odchylka	Sušina	odchylka	Sušina	odchylka
Set 1	1. den	52,70%	±0,82%	49,10%	±0,75%	50,92%	±1,41%
Set 1	3. den	50,57%	±0,33%	47,95%	±0,25%	47,41%	±0,14%
Set 1	6. den	62,87%	±0,94%	62,45%	±0,08%	62,56%	±0,43%
Set 1	8. den	67,30%	±0,34%	66,54%	±0,16%	65,27%	±0,70%
Set 1	10. den	68,86%	±0,07%	68,55%	±0,71%	67,38%	±0,21%
Set 2	1. den	53,72%	±0,30%	53,98%	±0,33%	54,70%	±0,07%
Set 2	3. den	54,74%	±0,21%	55,23%	±0,94%	56,69%	±0,53%
Set 2	6. den	63,62%	±0,07%	63,94%	±0,09%	63,61%	±0,57%
Set 2	8. den	67,52%	±0,70%	68,07%	±0,21%	68,13%	±0,39%
Set 2	10. den	69,20%	±0,39%	68,87%	±0,16%	71,23%	±0,09%



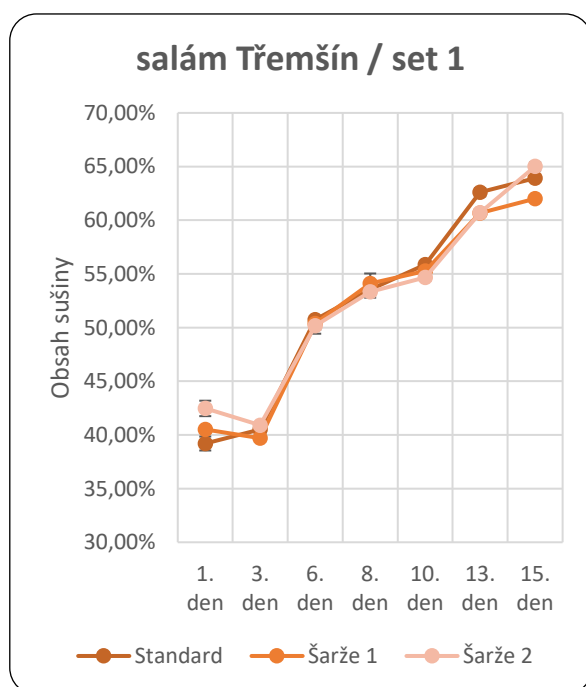
Graf 12 - Změna obsahu sušiny během výrobního procesu Brdské klobásy u setu 1



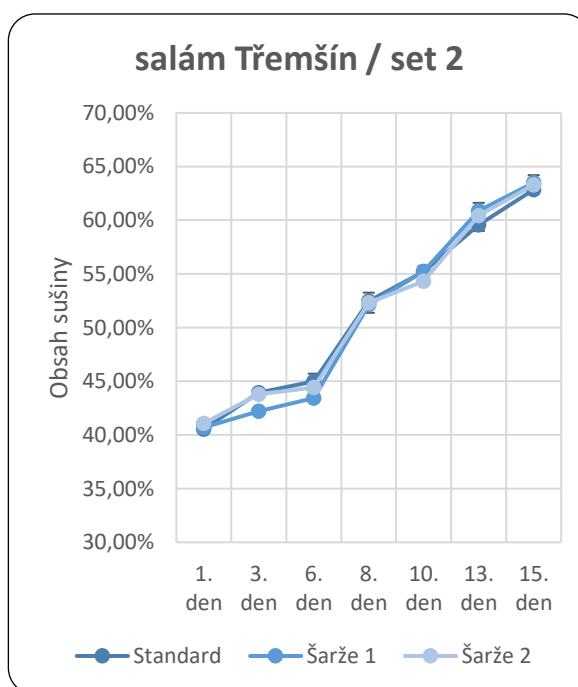
Graf 11 - Změna obsahu sušiny během výrobního procesu Brdské klobásy u setu 2

Tabulka 13 - Výsledné hodnoty měření obsahu sušiny u salámu Třemšín

salám Třemšín		Standard		Šarže 1		Šarže 2	
		Sušina	odchylka	Sušina	odchylka	Sušina	odchylka
Set 1	1. den	39,20%	±0,65%	40,51%	±0,15%	42,47%	±0,72%
Set 1	3. den	40,51%	±0,11%	39,70%	±0,12%	40,91%	±0,24%
Set 1	6. den	50,74%	±0,09%	50,37%	±0,57%	50,16%	±0,73%
Set 1	8. den	53,55%	±0,06%	54,10%	±0,94%	53,32%	±0,53%
Set 1	10. den	55,87%	±0,25%	55,27%	±0,10%	54,67%	±0,33%
Set 1	13. den	62,61%	±0,39%	60,66%	±0,16%	60,70%	±0,12%
Set 1	15. den	63,92%	±0,02%	62,01%	±0,08%	65,01%	±0,38%
Set 2	1. den	40,55%	±0,10%	40,70%	±0,16%	41,08%	±0,12%
Set 2	3. den	43,93%	±0,25%	42,20%	±0,20%	43,80%	±0,33%
Set 2	6. den	44,98%	±0,73%	43,42%	±0,34%	44,41%	±0,16%
Set 2	8. den	52,48%	±0,16%	52,15%	±0,12%	52,31%	±0,94%
Set 2	10. den	55,22%	±0,53%	55,23%	±0,25%	54,32%	±0,21%
Set 2	13. den	59,57%	±0,57%	60,89%	±0,73%	60,43%	±0,34%
Set 2	15. den	62,85%	±0,16%	63,50%	±0,70%	63,30%	±0,54%



Graf 14 - Změna obsahu sušiny během výrobního procesu salámu Třemšín u setu 1



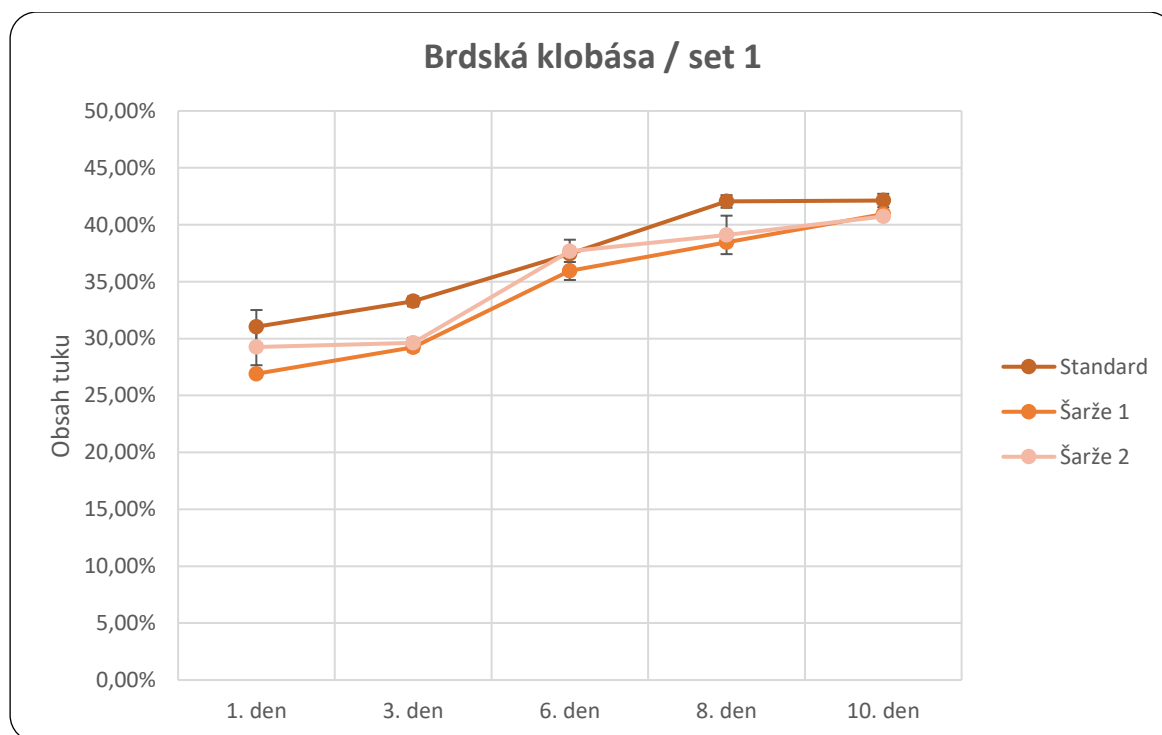
Graf 13 - Změna obsahu sušiny během výrobního procesu salámu Třemšín u setu 2

5.2.4 Stanovení obsahu tuku

Dále bylo sledováno množství tuku v průběhu fermentace, zrání a sušení. Měření proběhlo vždy ve dvou opakováních u každého vzorku u prvního setu měření. Obsah tuku byl změřen vždy u díla a pak každé následující tři dny. Výsledky jsou uvedeny v Tabulkách 14 a 15 a nárůst obsahu tuku je graficky znázorněn v Grafech 15 a 16.

Tabulka 14 - Výsledné hodnoty měření obsahu tuku u brdské klobásy

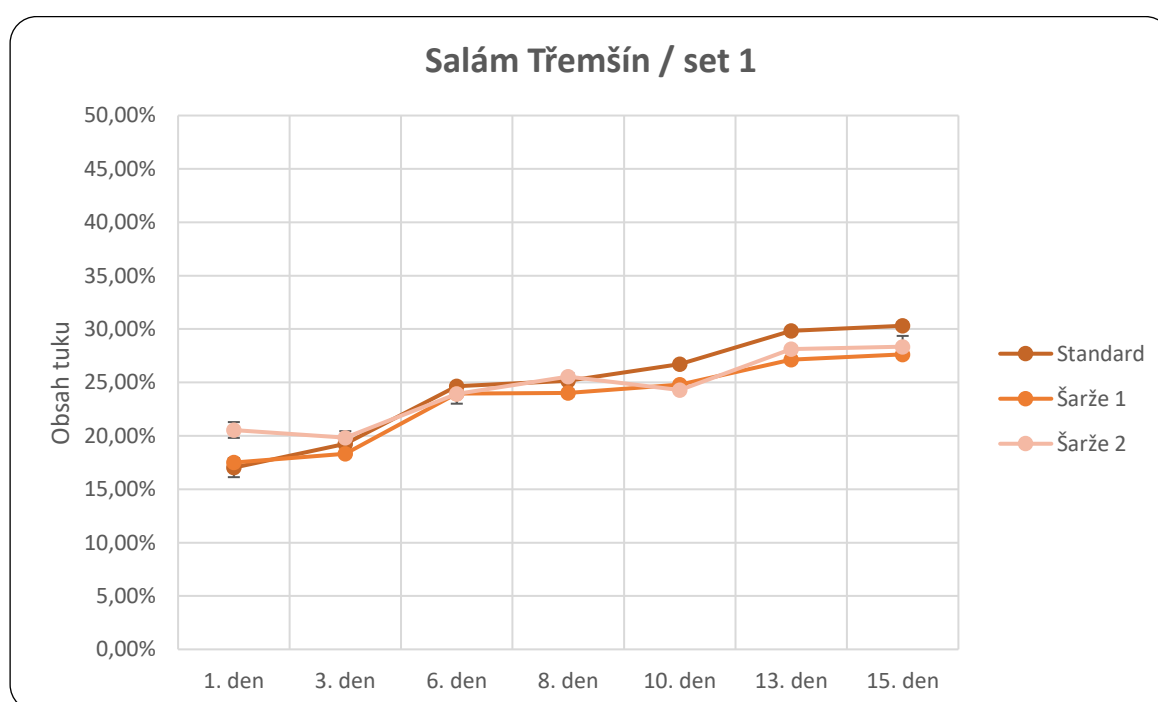
	Brdská klobása	Standard		Šarže 1		Šarže 2	
		tuk	odchylka	tuk	odchylka	tuk	odchylka
Set 1	1. den	31,04%	±1,47%	26,91%	±0,13%	29,26%	±1,60%
Set 1	3. den	33,27%	±0,44%	29,23%	±0,37%	29,63%	±0,43%
Set 1	6. den	37,45%	±1,24%	35,94%	±0,79%	37,68%	±0,34%
Set 1	8. den	42,05%	±0,55%	38,47%	±0,27%	39,11%	±1,69%
Set 1	10. den	42,13%	±0,59%	40,94%	±0,29%	40,73%	±0,13%



Graf 15 - Změna obsahu tuku během výrobního procesu Brdské klobásy

Tabulka 15 - Výsledné hodnoty měření obsahu tuku u salámu Třemšín

Salám Třemšín		Standard		Šarže 1		Šarže 2	
		tuk	odchylka	tuk	odchylka	tuk	odchylka
Set 1	1. den	17,02%	±0,89%	17,50%	±0,30%	20,55%	±0,74%
Set 1	3. den	19,24%	±1,20%	18,31%	±0,13%	19,83%	±0,18%
Set 1	6. den	24,66%	±0,10%	23,97%	±0,96%	23,93%	±0,14%
Set 1	8. den	25,16%	±0,14%	24,02%	±0,33%	25,56%	±0,33%
Set 1	10. den	26,72%	±0,01%	24,80%	±0,06%	24,29%	±0,03%
Set 1	13. den	29,82%	±0,10%	27,13%	±0,19%	28,12%	±0,25%
Set 1	15. den	30,31%	±0,31%	27,63%	±0,34%	28,35%	±1,01%



Graf 16 - Změna obsahu tuku během výrobního procesu salámu Třemšín

5.2.5 Stanovení sorpční izotermy

Z modelů sorpčních izoterem byl vybrán model GAB jako nejpoužívanější model sorpčních izoterem, který je aplikovatelný v celém rozsahu aktivity vody a model DLP jako nový model, u kterého by jeho hodnoty měly poskytovat přesnější údaje než model GAB.

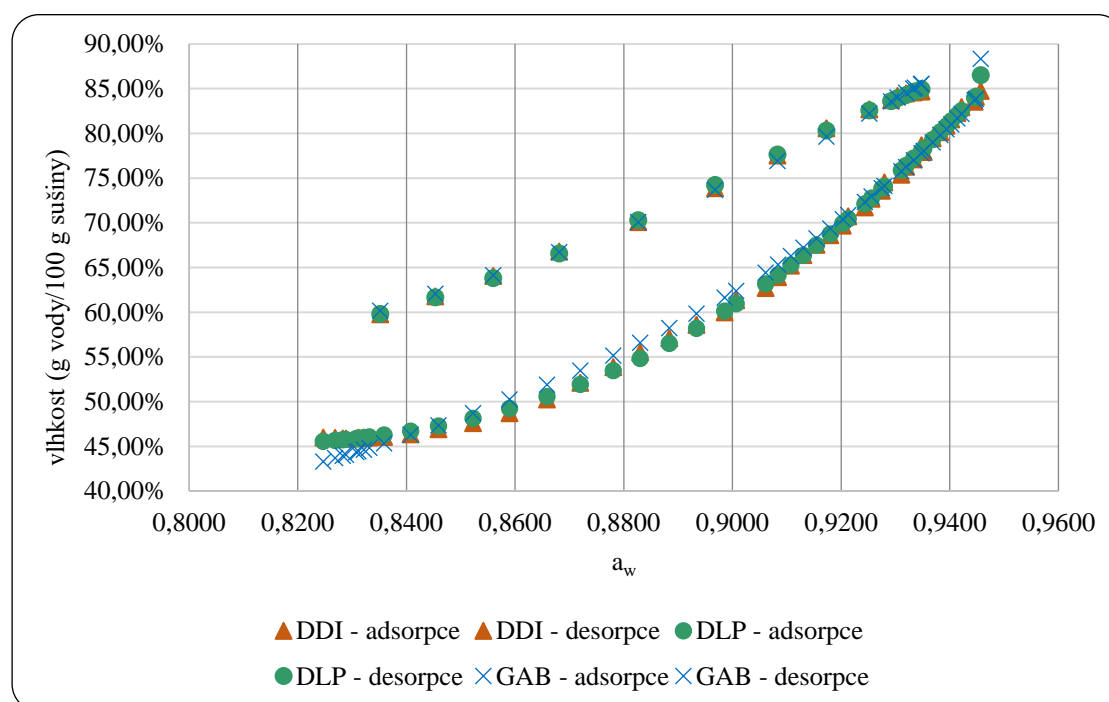
U vzorku Brdské klobásy z 10. dne, 1. setu byla proměřena sorpční izoterma metodou DDI v rozmezí aktivity vody 0,8 – 0,95. Naměřené empirické konstanty pro model DLP a model GAB, koeficient determinace a prům. hodnota odchylky predikce jsou uvedeny v Tabulkách 16 a 17. V Grafu 17 je znázorněn průběh adsorpce a desorpce naměřenou metodou DDI a porovnán s modelem DLP a modelem GAB.

Tabulka 16 - Koeficienty DLP modelu u vzorku Brdské klobásy

Model	koeficienty				Koeficient determinace (R^2)	Prům. hodnota odchylky predikce
	b_0	b_1	b_2	b_3		
Adsorpce	209,577	248,68	116,238	15,614	0,999	0,322
Desorpce	111,684	122,555	74,9	12,286	1	0,195

Tabulka 17 - Koeficienty GAB modelu u vzorku Brdské klobásy

Model	koeficienty			Koeficient determinace (R^2)	Prům. hodnota odchylky predikce
	c_1	k	m_0		
Adsorpce	12021,506	0,932	10,017	0,994	1,115
Desorpce	-8826,84	0,854	17,256	0,998	0,475



Graf 17 - Průběh sorpční izotermy u vzorku Brdské klobásy

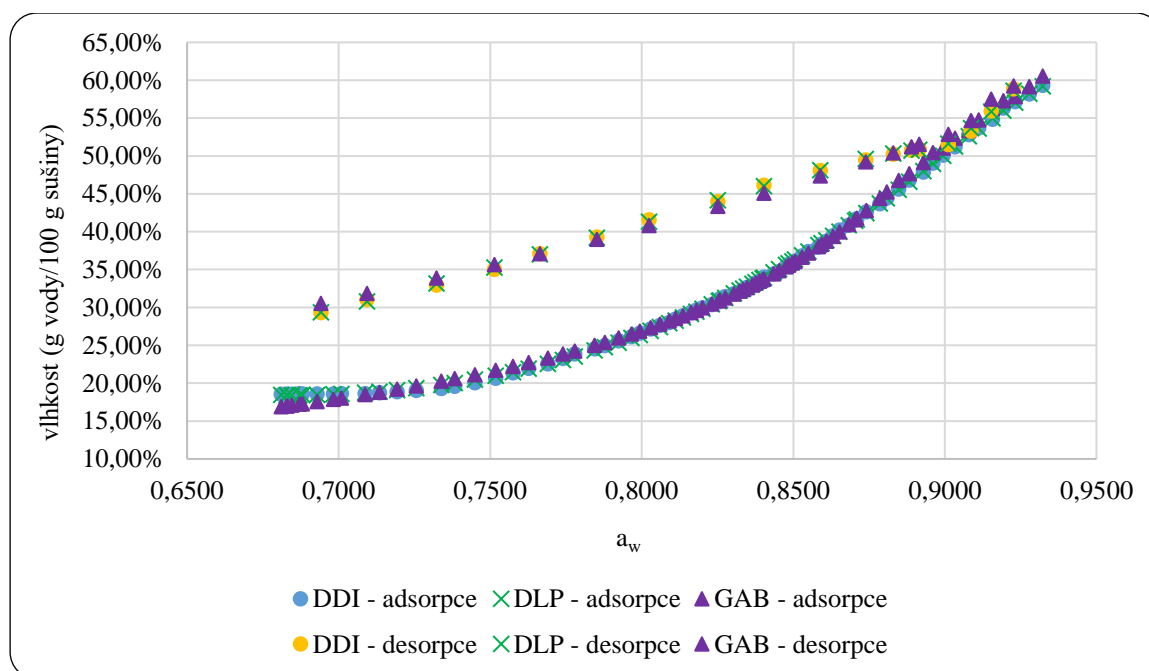
U vzorku salámu Třemšín z 10. dne u 1.setu byla proměřena sorpční izoterma metodou DDI v rozmezí aktivity vody 0,7 – 0,95. Naměřené empirické konstanty pro model DLP, model GAB a koeficient determinace a prům. hodnota odchylky predikce jsou uvedeny v Tabulkách 18 a 19. V Grafu 18 je znázorněn průběh adsorpce a desorpce naměřenou metodou DDI a dále jsou v grafu vyneseny hodnoty vlhkostí a aktivity vody z modelů DLP a GAB.

Tabulka 18 - Koeficienty DLP modelu u vzorku salámu Třemšín

Model DLP	koeficienty				Koeficient determinace (R^2)	Prům. hodnota odchyly predikce
	b_0	b_1	b_2	b_3		
Adsorpce	63,305	104,151	71,785	12,484	1	0,173
Desorpce	14,459	0,935	22,005	6,381	1	0,158

Tabulka 19 - Koeficienty GAB modelu vzorku salámu Třemšín

Model GAB	koeficienty			Koeficient determinace (R^2)	Prům. hodnota odchyly predikce
	c_1	k	m_0		
Adsorpce	10962,593	1	5,389	0,996	0,503
Desorpce	0,126	0,475	350,814	0,990	0,722



Graf 18 - Průběh sorpční izotermy u vzorku salámu Třemšín

5.3 Stanovení účinnosti startovacích kultur

Na vrstvu mikrobiální půdy BHA, ve které bylo promícháno inokulum *L. innocua* na petriho misce byl aplikován 0,1 ml 0,1% roztoku startovacích kultur. Po inkubaci byl na petriho miskách hodnocen průměr vytvořených zón. Průměr vytvořených zón byl měřen posuvným měřítkem s noniem ve dvou na sebe kolmých směrech. Z těchto dvou hodnot byl vypočítán aritmetický průměr. Naměřené hodnoty byly vyneseny do Tabulky 20, ze které vyplývá, že se nepotvrdily významné rozdíly mezi velikostmi jednotlivých zón, a to ani v jednom případě ze sledovaných kultivačních teplot.

Tabulka 20 - Průměrné velikosti inhibičních zón startovacích kultur

Startovací kultura	Průměr inhibiční zóny (20°C) (mm)	Průměr inhibiční zóny (37°C) (mm)
S2	12,9 ± 0,6	0,87 ± 0,08
A2	13,1 ± 0,4	0,93 ± 0,09
F-50	13,2 ± 0,7	0,96 ± 0,07
F-AL-50	13,4 ± 0,6	0,95 ± 0,09

6 Diskuze

6.1 Fyzikálně chemická analýza

6.1.1 pH

Na začátku výrobního procesu je rozhodující pro dočasnou údržnost díla snížení hodnoty pH. Hodnota pH má dále zásadní vliv na celý proces zrání.

Průměrná hodnota pH díla ihned po zamíchání byla 5,72. Bückenhuskes (1994) uvádí doporučenou hodnotu díla ideálně v rozmezí 5,7 – 5,9. Hodnota pH díla by neměla být vyšší než 6,2. Pokud by výchozí pH bylo vyšší než 6,0, je doporučeno zvýšit obsah sacharidů úměrně k počáteční hodnotě pH až na 1 % (Kameník, 2017).

Z uvedených dat o průběhu pH do 3.dne od naražení je vidět mírný nárůst pH u vzorků salámu Třemšín v průměru o 0,09. U Brdské klobásy je do 3.dne viditelný mírný pokles pH, a to v průměru o 0,03. Tento rozdíl je způsoben tím, že na rozdíl od Brdské klobásy, která je ihned po naražení navěšena na udírenské vozy a přemístěna do zrací komory, salám Třemšín je z důvodu tvarování umístěn do forem, kde má vzduch k salámu omezený přístup a je ponechán při nízkých teplotách (6 °C) přibližně 48 hodin mimo zrací komoru. Tento krok stojí za opožděným nástupem fermentace díla salámu.

V další fázi následuje prudký pokles pH, který je společný pro všechny vzorky od 3. do 6. dne. Konečné hodnoty pH byly při porovnání šarží bez signifikantního rozdílu. Při podrobnějším zhodnocení 6. dne u Brdské klobásy je patrné, že u Šarže 2 (F-AL-50), která měla vyšší celkový obsah mikroorganismů – obsahovala navíc *Lactobacillus plantarum* (celkový počet mikroorganismů byl u ní vyšší o 1.10^{10} /g oproti F-50), došlo k výraznějšímu okyselení.

Ve fázi sušení a zrání od 6. do 10. dne hodnoty výrazně neklesaly a u salámu Třemšín došlo i k menšímu nárůstu pH. Tento jev může souviset s probíhající tvorbou amoniaku a biogenních aminů v důsledku enzymatické aktivity startovací kultury (Hughes a kol., 2002). V našem pokusu byla konečná hodnota pH Brdské klobásy v průměru 4,70 a u salámu Třemšín 15.den byla průměrná hodnota 4,86.

6.1.2 Aktivita vody

Hodnota aktivity vody je důležitý faktor konečné trvanlivosti výrobku a je primárně ovlivněna přidavkem chloridu sodného, fermentací, a procesem sušení. Aktivita vody měla v rámci pokusu postupně klesající charakter. U salámu Třemšín byl ale 10.den zaznamenán u všech vzorků mírný vzestup hodnot, který byl způsoben přemístěním do zrací komory s nižším prouděním vzduchu což vedlo k mírnému nárůstu aktivity vody.

Počáteční průměrná hodnota aktivity vody díla před naražením byla 0,973. Konečná aktivita vody vzorků v rámci druhu výrobku byla vyrovnaná bez ohledu na použitou startovací kulturu. V průběhu procesu sušení klesla aktivita vody u Brdské klobásy na konečnou hodnotu v průměru 0,905 a u salámu Třemšín v průměru na 0,901.

Počáteční hodnota aktivity vody masa se pohybuje na hodnotě 0,980 a vyšší. Nižší naměřené hodnoty aktivity vody díla ukazují na účinek dusitanové solící směsi, přesněji na

chlorid sodný, který snižuje počáteční hodnoty aktivity vody masa až na 0,960 – 0,970. Chlorid sodný působí inhibičně na různé saprofytické a patogenní bakterie a společně s dusitanem, který se uplatňuje bakteriostaticky a bakteriocidně, tvoří první překážku pro mikrobiální stabilitu TFMV (Majou et Christienas, 2018).

Mikroorganismy jsou k hodnotám aktivity vody různě citlivé, ale většina mikroorganismů má optimum v rozmezí 0,990 - 0,950. Aktivita vody vykazující hodnoty 0,900 a nižší znamená, že výrobek na takové úrovni lze považovat za stabilní i při nechlazeném skladování. V našem případě byly konečné hodnoty velmi blízké uvedené hodnotě a splňovaly legislativní požadavky stanovené Vyhláškou č. 69/2016, kde je stanovena hraniční hodnota $\leq 0,930$ (Kameník 2017).

6.1.3 Sušina

Stanovení sušiny má spíše ekonomický význam, než aby nám ukazovalo na trvanlivost výrobku, i když s tím samozřejmě souvisí. Hlavními faktory ovlivňující výrobní náklady jsou čas zrání a ztráty hmotnosti sušením.

Průměrná hodnota sušiny díla u Brdské klobásy byla 52,52 % a dosahovala vyrovnaných hodnot u různých šarží. 10. den byly naměřeny hodnoty v průměru 69,18 %, což odpovídá přibližně 17% ztrátě vlhkosti. U Salámu Třemšín byla výchozí průměrná hodnota sušiny díla 40,75 % a 15. den v průměru 63,43 %, což odpovídá přibližně 23% ztrátě vody.

6.1.4 Tuk

TFMV jsou masné výrobky s vysokým obsahem tuku a do výrobku je přidáván v množství kolem 30 %. V důsledku sušení se zvýší podíl tuku na 40-50 %. Tuk přispívá k chuti, struktuře, šťavnatosti a mazlavosti, které určují kvalitu a přijatelnost TFMV. Tuk má i technologickou funkci, kdy pomáhá k plynulé vypařování vody z vnitřní části výrobku a má tak vliv na intenzitu sušení (Olivares et al., 2010). Výsledky u Brdské klobásy dosahovaly obvyklých hodnot obsahu tuku, kde na počátku mělo dílo v průměru 29,07 % a na konci se obsah tuku zvýšil na průměrných 41,26 %.

U salámu Třemšín byl ale obsah tuku od počátku nižší a průměrná hodnota díla byla 18,35 % a 15.den dosahoval obsah tuku 28,78 %. Salám Třemšín by se dal zařadit do výrobků s nižším obsahem tuku, než je obvyklé. Ve studii Olivares a kolektivu (2010) sleduje vliv obsahu tuku na senzorickou přijatelnost. Z výsledků studie lze říci, že i přestože je smyslová přijatelnost TFMV závislá na různých preferencích spotřebitele, tak výrobky se sníženým obsahem tuku (16 % v díle) byly pro spotřebitele stále velmi přijatelné.

6.1.5 Sorpční izoterma

Sorpční izoterma ukazuje vztah vlhkosti a vodní aktivity při konstantní teplotě a vyjadřuje tuto závislost graficky na Grafu 17 pro Brdskou klobáso a Grafu 18 pro salám Třemšín. Jak je z průběhu vidět, proces absorpce a desorpce není zcela reverzibilní, proto je třeba rozlišovat mezi adsorpční a desorpční izotermou (Al-Muhtaseb, 2002).

Z uvedených dat (Tabulka 16 – 19) je vidět určitá podobnost modelů DLP a GAB, které se od sebe výrazně neliší. Průměrné hodnoty odchylky predikace jsou nižší u modelu DLP

(0,322 a 0,195; 0,173 a 0,158) než u modelu GAB (1,115 a 0,475; 0,503 a 0,722). Z toho lze usoudit, že model DLP je přesnější než model GAB. Samotná sorpční izoterma může výrobci posloužit k predikování chování jednotlivých fermentovaných produktů během sušení a zrání výrobků. Tato predikce může pomoci optimalizovat a zkrátit postupy týkající se sušení a zrání.

6.2 Účinnost startovacích kultur proti *L. innocua*

Z průměrných velikostí inhibičních zón startovacích kultur v Tabulce 20 nebyla prokázána lepší účinnost startovací kultury F-AL-50, která obsahovala navíc kmen *Lactobacillus plantarum*, proti *L. innocua*. Předpokládalo se, že bude účinnost vyšší kvůli vyššímu počtu BMK s potencionální produkcí bakteriocinů u této startovací kultury. Obecně se antimikrobiální aktivita BMK projevuje inhibicí jiných mikroorganismů prostřednictvím produkce antimikrobiálních metabolitů (organické kyseliny, peroxid, vodíku a případně bakteriocinů) (Cleveland et al., 2001).

U použitých startovacích kultur se vyskytovalo více zástupců z BMK, kteří produkovali bakteriociny. Všechny použité startovací kultury (S2, A1, F-50, F-AL-50) obsahovaly *Lactobacillus curvatus*, produkující bakteriocin curvacin. Ve studii Messens a kolektivu (2001) byl sledován růst *L. curvatus* a produkce bakteriocinu curvacin v závislosti na teplotě. Optimální pro růst byly teploty 20 – 27 °C a pH 4,26 – 9,77. Tyto hodnoty ukazují na slibné použití ve fermentovaných masných výrobcích. Je třeba, ale zmínit, že k produkci bakteriocinů dochází až v pozdní exponenciální růstové fázi. Startovací kultura A1 na rozdíl od ostatních obsahovala *Pediococcus pentosaceus*, který produkuje bakteriocin pediocin, u kterého byla také stanovena baktericidní účinnost proti *Listeria monocytogenes* s rozsahem vhodným pro použití pro fermentované masné výrobky (Huang et al., 2009). Startovací kultura F-AL-50, která měla být jako nejúčinnější, obsahovala *Lactobacillus plantarum*, produkující bakteriocin plantaricin také s prokázanou účinností na *Listerii monocytogenes* (Enan et al., 1996). Výsledky získané v této diplomové práci však tuto skutečnost nepotvrdily a účinek všech startovacích kultur na *L. innocua* byl totožný. Všechny testované startovací kultury inhibovaly *L. innocua* stejně.

6.3 Senzorické hodnocení

6.3.1 Senzorické hodnocení Brdské klobásy

Při senzorickém hodnocení Brdské klobásy byl zjištěn statisticky významný rozdíl u parametru celkový vzhled, vzhled na řezu, barva na řezu, chuť a celková přijatelnost.

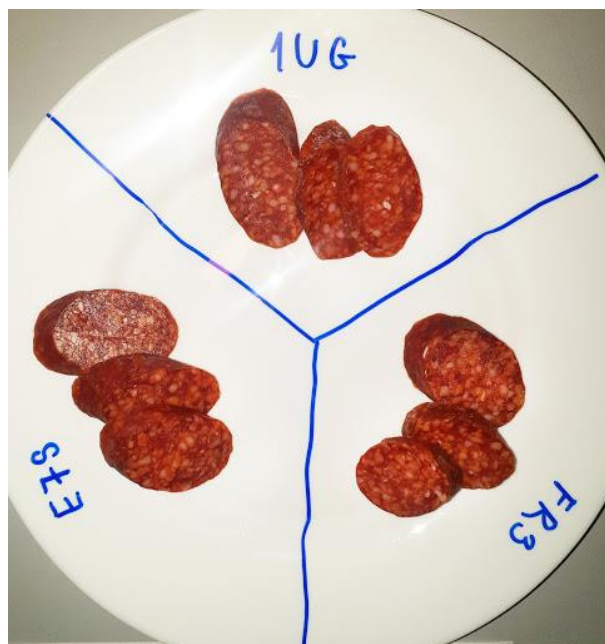
U celkového vzhledu, kdy byl hodnocen celkový povrch, byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi vzorky Šarže 1 a Standardu a Šarže 2 a Standardu ($P < 0,0001$). Nesignifikantní rozdíl byl pak mezi Šarží 1 a Šarží 2. Hodnotitelé při tomto hodnocení posuzovali povrchový vzhled, případnou vrásčitost a barvu. Povrchový vzhled odpovídá způsobu vysušení a druhu použitého střeva a v tomto se naše šarže nelišily. Na vzhled povrchu výrobku má dále vliv obsah vody, způsob plnění do obalového střeva a správně nastavené sušení (Feiner, 2006). Ani jedna z šarží nevykazovala jakékoliv vady, a proto se dá předpokládat, že rozdíl mezi hodnocením jednotlivých šarží je způsoben rozdílnou preferencí hodnotitele. Rozdíly ve velikosti a tvaru

byly způsobeny nejspíše při plnění do obalového střeva a na následující proces sušení dle naměřených fyzikálních hodnot neměl tento rozdíl významný vliv.



Obrázek 11 - Hodnocení celkového vzhledu Brdské klobásy

U vzhledu na řezu byl zaznamenán rozdíl mezi Šarží 1 a Standardem a Šarží 2 a Standardem. Nesignifikantní rozdíl byl mezi Šarží 1 a Šarží 2. Při posuzování vzhledu byly nejhůře hodnoceny vzorky Standardu (Obrázek 12 – vzorek s označením 1UG). Při srovnání všech vzorků je patrná odlišná kresba, na kterou má vliv převážně mechanické zpracování díla (míchání a plnění) a jelikož byla každá šarže zpracována odděleně, jsou přípustné odlišnosti kresby.



Obrázek 12 - Hodnocení vzhledu na řezu Brdské klobásy

U hodnocení barvy na řezu byl zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi Šarží 2 a Standardem. Nejvyšší hodnoty získaly vzorky Šarže 2 obsahující startovací kultury F-AL-50,

kteře měly v porovnání s ostatními startovacími kulturami celkově nejvyšší obsah bakterií a na rozdíl od předchozí startovací kultury (Šarže 1) obsahovaly navíc *Lactobacillus plantarum* v koncentraci buněk $1.10^{10}/g$. Na rozvoj typicky červené barvy se nejvíce podílejí zástupci rodu *Staphylococcus*, kteří jsou nejúčinnější v redukci dusitanu, ale jejich obsah je u Šarže 1 (F-AL) a Šarže 2 (F-AL-50) vyrovnán – u obou těchto šarží bylo dosaženo vyšších hodnot při senzorickém hodnocení barvy v porovnání se Standardem (Gøtterup et al., 2008). Další vliv na přeměnu dusitanu na oxid dusnatý, který se následně váže myoglobin za vzniku nitrosomyoglobinu, má pokles hodnot pH. Reakce přeměny je tím rychlejší, čím je nižší hodnota pH (Feiner, 2016). U Šarže 2, která obsahovala více BMK byly 6. den zaznamenány nižší hodnoty pH, které mohly mít vliv na lepší vybarvení.

Při hodnocení chuti byly hodnotiteli nejvíce preferovány vzorky Šarže 1 a Šarže 2 před Standardem. Vliv startovacích kultur na chuť se uplatňuje až na konci zrání díky proteolytické a lipolytické aktivitě, která je odlišná u každé startovací kultury (Fonseca et al., 2013). I různě zvolená kombinace a poměr různých kmenů způsobí odlišné konečné chuťové vlastnosti. U použitých startovacích kultur máme u Standardu a Šarže 1 použité stejné kmeny a Šarže 2 je navíc obohacena o *Lactobacillus plantarum*. Poměr daných kmenů je ale odlišný od Standardu a vede proto k odlišné konečné chuti výrobku. Jak zástupci BMK tak i zástupci katalázově pozitivních koků mají vliv na konečnou chuť. BMK produkují jednak kyselinu mléčnou, která dává výrobkům typickou kyselost, tak i mají proteolytické a lipolytické vlastnosti, kdy konečná transaminace aminokyselin vede ke vzniku aromatických látek. Při proteolýze ve fázi zrání se uplatňují mikrobiální proteázy a peptidázy. Tato aktivita je významná jak u laktobacilů, tak i u katalázově pozitivních koků i když zástupci jako např. *S. carnosus* se jeví v rozvoji chuti jako účinnější. (Casaburi et al., 2008, Di Cagno et al., 2008).

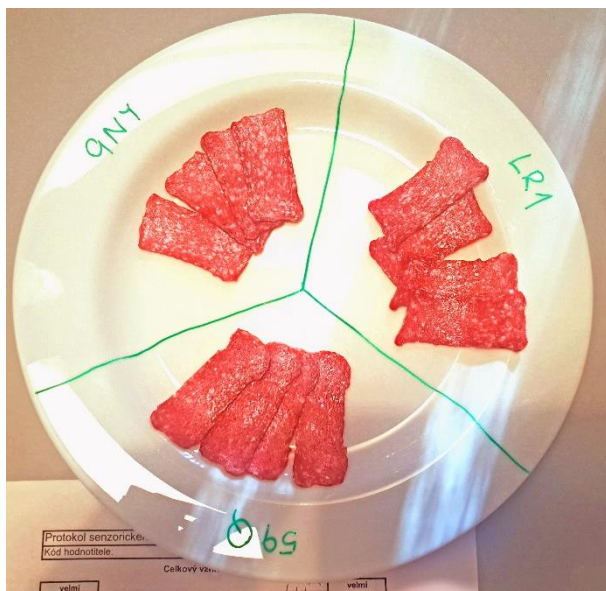
U hodnocení vůně a konzistence byly jednotlivé vzorky vyrovnané a nebyl mezi nimi nalezen statisticky významný rozdíl.

Celková přijatelnost nám shrnula dílčí deskriptory a ukázala, které vzorky na hodnotitele lépe působily. Hodnocení celkové přijatelnosti odpovídalo dílčím deskriptorům a podle předpokladu byly lépe hodnoceny vzorky Šarže 1 a 2 před vzorky Standardu. Mezi výsledky byl prokázán statisticky významný rozdíl. Vzorky Šarže 1 a 2 byly i při celkovém hodnocení velmi vyrovnané. Nejméně atraktivní se ukázala Brdské klobása s původně používanou startovací kulturou.

6.3.2 Senzorické hodnocení salámu Třemšín

Senzorické hodnocení salámu Třemšín bylo vyrovnanější a rozdíly mezi šaržemi nebyly příliš signifikantní. Celkově to bylo zapříčiněno jiným složením použité startovací kultury u Standardu, kdy tato startovací kultura byla rozmanitější než u Standardu Brdské klobásky. Zastoupené druhy byly u Standardu – *Pediococcus pentosaceus*, *Staphylococcus carnosus*, *Lactobacillus curvatus*, *Kocuria varians* (celkový počet mikroorganismů $4,4.10^{10}/g$). *P. pentosaceus* a *Lactobacillus* jsou zástupci homofermentativních BMK . *K. varians* a *S. carnosus* jsou zástupci katalázově pozitivních koků v různém poměru. I přes rozmanitost a vyšší celkový počet mikroorganismů byly u určitých dílčích deskriptorů více preferovány vzorky salámu Šarže 1 a Šarže 2, přesněji byl statisticky významný rozdíl u deskriptorů konzistence a chuti.

U konzistence byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi Šarží 1 a Standardem, který byl hodnocen nejhůře. Tento deskriptor je ovlivněn převážně poklesem hodnot pH, tedy aktivitou BMK. Pokles pH se v konečném výrobku odráží pozitivně na pevnosti vytvořeného gelu (Drosinos et al., 2007). Nicméně při zhodnocení vývoje měření hodnot pH toto tvrzení nelze potvrdit, protože vývoj hodnot pH byl u všech šarží totožný bez významnějších rozdílů.



Obrázek 13 - Hodnocení konzistence u salámu Třemšín

Mezi vzorky byly signifikantní rozdíly u chuti ($P < 0,001$), kdy byly preferovány vzorky salámu Šarže 1 a Šarže 2 a vzorky Standardu byly hodnoceny nejhůře. V tomto případě mohlo dojít k nižšímu bodovému hodnocení díky celkovému vyššímu obsahu bakterií, které mohlo způsobit celkově vyšší kyselost výrobků, kdy v porovnání s ostatními šaržemi mohla působit na hodnotitele méně příjemně.

Nicméně při celkovém hodnocení salámu Třemšín nebyl nalezen významný rozdíl a celkové bodové hodnocení bylo velmi vyrovnané.

7 Závěr

V rámci experimentální části byla aplikována inovovaná startovací kultura dle požadavků společnosti Uzeniny Příbram, a.s. od stávajícího dodavatele startovacích kultur. Inovovaná kultura měla zajistit, že konečný výrobek bude mít ve výsledku lepší chuťové vlastnosti, neboť nebude překyselený. Studie měla porovnat inovovanou startovací kulturu s tradičně používanou variantou Novaferm S2 a Novaferm A1 a ověřit, zda bude Novaferm F50 a F-AL-50 schopen vyvinout srovnatelný pokles pH ve stejné době, za stejné teploty a při stejném množství dextrosy. Případně zda bude inovovaná startovací kultura působit účinněji na vybrané fyzikální parametry.

Vybrané ukazatele byly sledovány u dvou rozdílných výrobků (Brdská klobása a salám Třemšín) vyrobených vždy ve třech odlišných šaržích, lišících se v použité startovací kultuře. Proces zrání a sušení byl pravidelně vyhodnocován pomocí měření pH, a_w a obsahu sušiny. Pro zachování mikrobiální stability je nutné dosáhnout aktivity vody $\leq 0,93$ a z tohoto důvodu bylo důležité sledování a hodnocení průběhu zrání a sušení. Případně i sorpční izoterma může výrobci posloužit k predikování chování jednotlivých procesů produkce během sušení a zrání výrobků a tato predikce může pomoci optimalizovat a zkrátit jednotlivé postupy.

Z výsledků mikrobiologického stanovení inhibičního účinku použitých startovacích kultur na *L. innocua* nebyl mezi nimi prokázán významný rozdíl. Všechny startovací kultury obsahovaly BMK, které vykazují antimikrobiální aktivitu prostřednictvím svých metabolitů, ať se jedná např. o organické kyseliny, peroxid vodíku anebo bakteriociny (curvacin, pediocin, plantaricin). *Listeria monocytogenes* patří mezi nejobávanější patogeny v potravinářství a její růstový potenciál se uplatňuje až v pozdějších fázích produkce (sušení, skladování, distribuce). Předpokládala se vyšší účinnost F-AL-50 díky nejvyššímu obsahu BMK a potencionálně nejvyšší produkci bakteriocinů. Výsledky získané v diplomové práci však tuto skutečnost nepotvrdily a účinek všech startovacích kultur in vitro na *L. innocua* byl totožný. Pro průkaznější výsledky by bylo nutné provést sledování inhibičního efektu startovacích kultur přímo v přirozených podmínkách produkce fermentovaných masných výrobků.

Při hodnocení sensorické kvality vybraných trvanlivých masných výrobků panelem hodnotitelů byly zaznamenány statisticky významné rozdíly. Výsledné hodnocení potvrdilo hypotézu a inovované startovací kultury působily pozitivně na některé dílčí deskriptory. U hodnocení Brdské klobásy byl vliv inovovaných startovacích kultur vnímám výrazněji u více dílčích deskriptorů než u salámu Třemšín, kde při hodnocení byl zaznamenám pozitivní vliv pouze u chuti a konzistence. U Brdské klobásy bylo lépe sensoricky hodnoceno více parametrů s inovovanými startovacími kulturami – celkový vzhled, vzhled na řezu, barva, chuť i celková přijatelnost. Při celkovém sensorickém posouzení lze říct, že inovované startovací kultury splnili očekávání.

8 Literatura

- Ahmad, S., Amer, B. 2013. Sensory quality of fermented sausages as influenced by different combined cultures of lactic acid bacteria fermentation during refrigerated storage. *Food Processing and Technology*. 4. 2– 8.
- Al-Muhtaseb, H., McMinn, W.A.M., Magee, T. R. A.2002. Moisture sorption isotherm characteristics of food products: A review. *Food Bioprod. Process. Trans. Inst. Chem. Eng. Part C*. 80 (2).118–128.
- Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., Chevallier, I. 2006. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility - 1 - Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food control*. 17 (6). 454-461..
- Andrée, S., Jira, W., Schwind, K.H., Wagner, H., Schwägele, F. 2010. Review: Chemical safety of meat and meat products. *Meat Science*. 86. 38–48.
- Aquilanti, L., Garofalo, C., Osimani, A., Clementi, F. 2016. Ecology of lactic acid bacteria and coagulase negative cocci in fermented dry sausages manufactured in Italy and other Mediterranean countries: An overview. *Food Research Journal*. 23 (2). 429–445.
- Aquilanti, L., Santarelli, S., Silvestri, G., Osimani, A., Petruzzelli, A., Clementi, F. 2007. The microbial ecology of a typical Italian salami during its natural fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 120. 136–145.
- Baláš, J. 2015. Mikroorganismy ve fermentovaných salámech a klobásách. *Maso*. 5. 4–6.
- Banović, M., Grunert, K.G., Barreira, M.M., Fontes, M.A. 2009. Beef quality perception at the point of purchase: A study from Portugal, *Food Quality and Preference*.20. 4. 335–342.
- Barat, J.M. ,Toldrá, F. 2011. Reducing salt in processed meat products. In: Kerry, J.P. , Kerry J.F. *Processed Meats. Improving safety, nutrition and quality*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge. 331–345.
- Barentz, J. Schwing, J. 2005. Použití startovacích kultur pro fermentované masné výrobky. *Maso*. 2. 21–26.
- Bláhová, M. 2011. Vodní aktivita trvanlivých masných výrobků. *Maso*. 23 (5). 47–49.
- Böhme, H.M., Mellett, F.D., Dicks, L.M.T.,Basson, D.S. 1996. Production of salami from ostrich meat with strains of *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus curvatus* and *Micrococcus* sp. *Meat Science*. 44 173–180.

- Bonomo, M.G., Ricciardi, A., Zotta, T., Sico, M.A., Salzano, G. 2009. Technological and safety characterization of coagulase-negative staphylococci from traditionally fermented sausages of Basilicate region (Southern Italy). *Meat science*. 83. 15–23.
- Bozkurt, H., Bayram, M. 2006. Colour and textural attributes of sucuk during ripening. *Meat Science*. 73. 344–350.
- Buckenhüskes, H. J. 1993. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities, *FEMS Microbiology Reviews*. 12 (1–3). 253–271.
- Carter, B., Fontana, A. .2008. Dynamic dewpoint isotherm verses other moisture sorption isotherm methods. Application note. Decagon Devices, Pullman, WA. 210 s.
- Casaburi, A., Di Monaco, R., Cavella, S., Toldrá, F., Ercolini, D., Villani, F. 2008. Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits. *Food microbiology*. 25. 335–347.
- Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F., Chikindas, M.L. 2001. Bacteriocins: Safe, Natural Antimicrobials for Food Preservation. *International Journal of Food Microbiology*. 71. 1–20.
- Cocolin, L., Manzano, M., Cantoni, C., Comi, G. 2001. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of the 16S rRNA gene V1 region to monitor dynamic changes in the bacterial population during fermentation of Italian sausages. *Applied and Environmental Microbiology*. 67 (11). 5113–5121.
- Cocolin, L., Urso, R., Rantsiou, K., Cantoni, C., Comi, G. 2006. Dynamics and Characterization of Yeasts during Natural Fermentation of Italian Sausages. *FEMS Yeast Research*. 6. 692–701.
- Comi, G., Urso, R., Iacumin, L., Rantsiou, K., Cattaneo, P., Cantoni, C., et al. 2005. Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Science*. 69. 381–392.
- Da Costa, R.J., Voloski, F.L.S., Mondadori, F.G., Duval, E.H., Fiorentini, A.M. 2019. Preservation of Meat Products with Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated from Meat. *Journal of food quality*.
- De Cesare, A., Mioni, R., Manfreda, G. 2007. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in fresh and fermented Italian sausages and ribotyping of contaminating strains. *International Journal of Food Microbiology*. 120. 124–130.
- Di Cagno, R., Lòpez, C.CH., Tofalo, R., Gallo, G., Angelis, M.D., Paparella, A., Hammes, W.P., Gobbetti, M. 2008. Comparison of the compositional, microbiological, biochemical and volatile profile characteristics of three Italian PDO fermented sausages. *Meat Science*. 79 (2). 224–235.
- Djordjevic, J., Pecanac, B., Todorovic, M., Dokmanovic, M., Glamoclija, N., Tadic, V., Baltic, M.Z. 2015. Fermented sausage casing. *Procedia Food Science*. 5. 69–72.

- Drake, M. A. 2007. Invited Review: Sensory analysis of dairy foods. *Journal of dairy science*. 90 (11). 4925–4937.
- Drosinos, E.H., Paramithiotis, S., Kolovos, G., Tsikouras, I., Metaxopoulos, I. 2007. Phenotypic and technological diversity of lactic acid bacteria and staphylococci isolated from traditionally fermented sausages in Southern Greece. *Food Microbiology*. 24. 260–270.
- Dušková, M., Kameník, J., Karpíšková, R. 2011. Význam laktobacilů v masných výrobcích. *Maso*. 22 (4). 12–15.
- Enan, G., El-Essawy, A.A., Uyttendaele, M., Debevere, J. 1996. Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* UG1 isolated from dry sausage: characterization, production and bactericidal action of plantaricin UG1. *International Journal of Food Microbiology*. 30 (3). 189–215.
- Encinas, J.P., López-Díaz, T.M., García-López, M.L., Otero, A., Moreno, B. 2000. Yeast populations on Spanish fermented sausages. *Meat science*. 54 (3). 203–208.
- Erkmen, O., Bozoğlu, T. F. 2016. *Food microbiology: principles into practice* John Wiley. Chichester, West Sussex. 431 s. ISBN 978-111-9237-761.
- Essien, E. 2003. *Sausage manufacture: principles and practice*. Woodhead. Cambridge. 104 s. ISBN:08-493-2007-0.
- Farber, J.M., Peterkin, P.I. 1991. *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. *Microbiology Review*. 55. 476–511.
- Feiner, G. 2016. *Salami : Practical Science and Processing Technology*. Elsevier Science & Technology. 73–78. ISBN: 978-0-12-809598-0.
- Feiner, G., 2006. *Meat products handbook: practical science and technology*. Repr. Cambridge: Woodhead Publishing, 672 s. ISBN 978-1-84569-050-2.
- Flores, J. 1997. Mediterranean vs northern European meat products. Processing technologies and main differences, *Food Chemistry*. 59 (4). 505–510.
- Fonseca, S., Cachaldora, A., Gómez, M., Franco, I., Carballo, J. 2013. Monitoring the bacterial population dynamics during the ripening of Galician chorizo, a traditional dry fermented Spanish sausage. *Food microbiology*. 33. 77–84.
- Font-Furnols, M., Guerrero, L. 2014. Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. *Meat Science*. 98 (3). 361–371.
- Fraqueza, M.J., L. Patarata, Lauková, A. 2016. Protective Cultures and Bacteriocins in Fermented Meats. In: Zdole, N. *Fermented Meat Products: Health Aspects*. NW, USA: CRC Press Taylor & Francis Group. 228–269.

- Gálvez, A., Abriouel, H., Loper, L. R., Omer, B. 2007. Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International journal of food microbiology*. 120 (1–2). 51–70.
- Gálvez, A., López, R.L., Abriouel, H., Valdivia, E., Omar, N.B. 2008. Application of bacteriocins in the control of food-borne pathogens and spoilage bacteria. *Critical reviews in biotechnology*. 28. 125–152.
- García-Díez, J., Patarata, L. 2017. Influence of Salt Level Starter Culture, Fermentable Carbohydrates, and Temperature on the Behaviour of *L. Monocytogenes* in Sliced Chouriço during Storage. *Acta Alimentaria*. 46. 206–213.
- Gardini, F., Suzzi, G., Lombardi, A., Galgano, F., Crudele, M.A., Andrighetto, C., Schirone, M., Tofalo, R. 2001. A Survey of Yeasts in Traditional Sausages of Southern Italy. *FEMS Yeast Research*. 1. 161–167.
- Gøtterup, J., Olsen, K., Knøchel, S., Tjener, K., Stahnke, L.H., Møller, J.K.S. 2008. Colour formation in fermented sausages by meat-associated staphylococci with different nitrite and nitrate-reductase activities. *Meat Science*. 78. 492–501.
- Gragg, S.E., Brashears, M. M. 2014. Microbiological safety of meat – Hurdle Technology. In: Dikeman, M., Devine, C. *Encyclopedia of Meat Sciences (Second Edition)*. Academic Press. 345–347. ISBN 978-0123847348.
- Hammes, W. P., Bantleon, A., Min, S. 1990. Lactic acid bacteria in meat fermentation. *FEMS Microbiology Letters*. 87(1–2). 165–174.
- Hampikyan, H., Ugur, M. 2007. The effect of nisin on *L. monocytogenes* in Turkish fermented sausages (sucuks). *Meat Science*. 76 (2). 3272–332.
- Hansen, E.B. 2002. Commercial starter cultures for fermented foods of the future. *International journal of food microbiology*. 78. 1192–131.
- Heinz, G., Hautzinger, P. 2007. Meat processing technology for small- to medium-scale producers. Food and agriculture organization of the united nations regional office for asia and the pacific. 448 s. ISBN: 978-974-7946-99-4
- Holck, A. L., Axelsson, L., Rode, T. M., Høy, M., Måge, I., Alvseike, O., L'Abée-Lund, T. M., Omer, M.K., Granum, P.E., Heir, E. 2011. Reduction of verotoxigenic *Escherichia coli* in production of fermented sausages. *Meat Science*. 89 (3). 286–95
- Holck, A., Heir, E., Johannessen, T.C., Axelsson, L. 2015. Northern European Products. In: Toldrá, F. *Handbook of fermented meat and poultry*. 2nd edition. Wiley-Blackwell, Chichester, UK. 313–320. ISBN 978-0813814773.
- Holzappel, W.H. 2002. Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *International journal of food microbiology*. 75. 197–212.

- Honikel, K.O. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*. 78. 68–76.
- Houben, J. H., van't Hooft, B. J. 2005. Variations in product-related parameters during standardised manufacture of a semi-dry fermented sausage. *Meat Science*. 69. 283–287.
- Hughes, M., Kerry, C., J. P., Arendt, E. K., Kenneally, P. M., McSweeney, P. L. H., O'Neill, P. L. H. 2002. Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages. *Meat Science*. 62. 205–216.
- Huang, Y., Luo, Y., Zhai, Z., Zhang, H., Yang, CH., Tian, H., Li, Z., Feng, J., Liu, H., Hao, Y. 2009. Characterization and application of an anti-*Listeria* bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* 05-10 isolated from Sichuan Pickle, a traditionally fermented vegetable product from China. *Food Control*. 20. (11). 1030–1035.
- Hutkins, R. W. 2018. *Microbiology and technology of fermented foods*. 2 vydání. Chicago, IFT Press, IFT Press series. 207–232. ISBN 978-1-119-02744-7.
- Chen, G., Chen, C., Lei, Z. 2017. Meta-omics insights in the microbial community profiling and functional characterization of fermented foods. *Trends in Food Science & Technology*. 65. 23–31. ISBN 80-7192-283-8.
- Jandásek, J., 2012: Sensorické metody vhodné pro hodnocení masných výrobků v praxi. *Maso*. 3. 24–28.
- Jarošová, A., 2001. *Senzorické hodnocení potravin*. Brno: Mendelova univerzita v Brně. 84 s. ISBN 80-7157-539-9.
- Kachrimanis, K., Noisternig, M.F., Griesser, U.J., Malamataris. S. 2006. Dynamic moisture sorption and desorption of standard and silicified microcrystalline cellulose. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 64(3). 307–315.
- Kameník, J. 2011. *Trvanlivé masné výrobky*. Brno: VFU. 248 s. ISBN: 978-80-7305-106-8.
- Kameník, J. 2017. Chapter Hurdle Technologies in Fermented Meat Production. In: Zdolec, N. *Fermented meat products: Healt Aspects*. CRC PressTaylor & Francis Group. S. 95–126. ISBN 978-1-4987-3304-5..
- Kameník, J., Jantošová B., Saláková, A. 2014. *Technologie a hygiena potravin živočišného původu*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 199 s. ISBN 978-80-7305-732-7.
- Kinclová, V., Jarošová A., Tramlová, B. 2004. *Senzorická analýza potravin*. Veterinářství. [online]. [cit. 2020-06-01]. Dostupné z: <http://vetweb.cz/senzoricka-analyza-potravin/>.
- Kumar, P., Chalti, M.K., Verma, A. K., Mehta, N., Malav, O.P., Kumar, D., Sharma, N. 2017. Quality, functionality and shelf life of fermented meat and meat products: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*. 57. 2844–2856.

- Lachowicz, K., Kujawska, J.Ž., Sobczak, M. 2012. Fermented meat products. In: Mehta, B. Kamal-Eldin, A., Iwanski, R. Fermentation. Boca Raton. CRC Press. 309–320. ISBN 978-1-4398-5335-1.
- Lebert, I., Leroy, S., Giammarinaro, P., Lebert, A., Chacornac, J. P., Bover-Cid, S., et al. 2007. Diversity of micro-organisms in environments and dry fermented sausages of French traditional small units. *Meat Science*. 76. 112–122.
- Ledesma, E., Rendueles, M., Díaz, M. 2016. Contamination of meat products during smoking by polycyclic aromatic hydrocarbons: Processes and prevention. *Food Control*. 60. 64–87.
- Leroy, F., De Vuyst, L. 2004. Lactic Acid Bacteria as Functional Starter Cultures for the Food Fermentation Industry. *Food Science and Technology*. 15. 67–78.
- Leroy, F., Verluyten, J., De Vuyst, L. 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 106 (3). 270–285.
- Li, P., Kong, B., Chen, Q., Zheng, D., Liu, N. 2013. Formation and identification of nitrosylmyoglobin by *Staphylococcus xylosus* in raw meat batters: A potential solution for nitrite substitution in meat products. *Meat Science*. 93. 67–72.
- Lingbeck, J. M., Cordero, P., O'Bryan, C. A., Johnson, M. G., Ricke, S. C., Crandall, P. G. 2014. Functionality of liquid smoke as an all-natural antimicrobial in food pre-preservation. *Meat Science*. 97(2). 197–206.
- López-Díaz, T.M., Santos, J.A., Garcí a-López, M.L., Otero. A. 2001. Surface Mycoflora of a Spanish Fermented Meat Sausage and Toxigenicity of *Penicillium* Isolates. *International Journal of Food Microbiology*. 69–74.
- Lücke , F.K. 2017. Fermented meat products – An overview. In: Zdolec, N., Fermented meat products: Healt Aspects. CRC PressTaylor & Francis Group.1-15. ISBN 978-1-4987-3304-5.
- Lücke, K.H. 2000. Fermented meats. In: Lund, B.M., Baird-Parker, A.C., Gould, G.W. The microbiological safety and quality of food. Aspen Publ., Gaithersburg. 420–444. ISBN:0834213230.
- Lücke, F.K. 1985. Food group meat panel symposium fermented meats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 36 (12). 1342–1343. ISSN: 0022-5142.
- Lücke, F.K. 2017. Fermented meat products – An overview. In: Zdolec, N., Fermented meat products: Healt Aspects. CRC PressTaylor & Francis Group. S. 1–15. ISBN 978-1-4987-3304-5.
- M O'Connor, P., Kuniyoshi, T.M., Oliveira, R.P.S., Hill, C., Ross, R.P., Cotter, P.D. 2020. Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective. *Current Opinion in Biotechnology*. 61. 160–167.

- Majou, D., Christieans, S. 2018. Mechanisms of the bactericidal effects of nitrate and nitrite in cured meats. *Meat Science*. 145. 273–384.
- Martín, A., Córdoba, J.J., Benito, M.J., Aranda, E., Asensio, M.A. 2003. Effect of *Penicillium chrysogenum* and *Debaryomyces hansenii* on the volatile compounds during controlled ripening of pork loins. *International Journal of Food Microbiology* .84 .327–338.
- Medić, H., 2017 .Fermented meat products- An overview. In: Zdolec, N. Fermented meat products: Health Aspects. CRC PressTaylor & Francis Group. 27–49. ISBN 978-1-4987-3304-5.
- Montville M.J., Winkowski, K., Ludescher, R.D. 1995. Models and mechanisms for bacteriocin action and application. *International dairy journal*. 5 (8). 797–814.
- Messens, W., Verluyten, J., Leroy, F., Vuyst, L.D. 2003. Modelling growth and bacteriocin production by *Lactobacillus curvatus* LTH 1174 in response to temperature and pH values used for European sausage fermentation processes. *International Journal of Food Microbiology*. 81. 41-52.
- Muñoz, Ananou, S., Gálvez, A., Martínez-Bueno, M., Rodríguez, A., Maqueda, M., Valdivia, E. 2007. Inhibition of *Staphylococcus aureus* in dairy products by enterocin AS-48 produced in situ and ex situ: Bactericidal synergism with heat. *International Dairy Journal*. 17 (7). 760–769.
- Nassu, R. 2003. Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant . *Meat Science*. 63 (1). 43–49.
- Noutegomo, B., Ebanda, B., Ateba, A.2019. Modelling moisture sorption isotherms of *Rhectophyllum camerunense* vegetable fiber. *Eur. J. Pure Appl. Chem*. 4. 33–39.
- O’Sullivan, M.G., Kerry, J.P. 2010. Meat Packaging. In: Toldrá, F., Handbook of meat processing. Ames, Iowa. Wiley-Blackwell. 247–261. ISBN 978-0-8138-2182-5.
- Ockerman, H.W. Basu, L. 2017 .Fermented meat products – An overview: In: Zdolec, N. Fermented meat products: Health Aspects. CRC PressTaylor & Francis Group.15–21. ISBN 978-1-4987-3304-5.
- Ojha, K. S., Kerry, J.P., Duffy, G., Beresford, T., Tiwari, B. K. 2015. Technological Advances for Enhancing Quality and Safety of Fermented Meat Products. *Trends in Food Science and Technology*. 44. 105–116.
- Olesen, P.T., Stahnke, L.H. 2000. The influence of *Debaryomyces hansenii* and *Candida utilis* on the aroma formation in garlic spiced fermented sausages and model minces, *Meat Science*. 56 (4). 357–368.

- Olivares, A., Navarro, J.L., Salvador, A., Flores, M. 2010. Sensory acceptability of slow fermented sausages based on fat content and ripening time. *Meat Science* (86), s. 251– 257. ISSN 0309-1740.
- Ordóñez, J.A., de la Hoz, L. 2007. Mediterranean products. In: Toldrà, F. *Handbook of Fermented Meat And Poultry*; Blackwell Publishing: Ames, IA. USA. 333–347.
- Pipek, P. 1998. *Technologie masa*. Praha: karmelitánská nakladatelství. 348 s.
- Pleaden, J. , Bogdanović, T. 2016. Chemical Hazards in Fermented Meats. In: Zdolec, N. *Fermented Meat Products*. Boca Raton: CRC Press. 417–443. ISBN 78-1-4987-3304-5.
- Rantsiou, A., Cocolin, L. 2006. New developments in the study of the microbiota of naturally fermented sausages as determined by molecular methods: A review. *International Journal of Food Microbiology*. 108 (2). 255–267.
- Romani, S., Rocculi, P., Tappi, S., Dalla Rosa, M. 2016. Moisture adsorption behaviour of biscuit during storage investigated by using a new Dynamic Dewpoint method. *Food Chemistry*. 195. 97–103.
- Roseiro, L.C., Gomes, A., Patarata, C. L. 2012. Polycyclic aromatic hydrocarbons incidence in Portuguese traditional smoked meat products. *Food and Chemical Toxicology*. 50. 1891–1896.
- Sebranek, J.G., Bacus, J.N. 2007. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues?. *Meat science*. 77(1). 136–147.
- Shuler, M. L., Kargi F. 2002. *Bioprocess engineering: basic concepts*. 2nd ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 400–450. ISBN 01-308-1908-5.
- Sidira, M., Kandylis, P., Kanellaki, M., Kourkoutas, Y. 2015. Effect of immobilized *Lactobacillus casei* on the evolution of flavor compounds in probiotic dry-fermented sausages during ripening. *Meat Science*. 100. 41–51.
- Siriken, B., Pamuk, S., Ozakin, C., Gedikoglu, S., Eyigor, M. 2006. A note on the incidences of *Salmonella spp.*, *Listeria spp.* and *Escherichia coli* O157:H7 serotypes in Turkish sausage (Soudjouck). *Meat Science*. 72. 177–181.
- Skandamis, P. , Nychas, G.J.E. 2007. Pathogens: Risks and Control. Toldrà F. *Handbook of fermented meat and poultry*. Blackwell Publishing, Oxford, UK. 427–454. ISBN 978-0813814773.
- Sonjak, S., Ličen, M., Frisvad, J.C., Gunde-Cimerman, N. 2011. The Microbiota of Three Dry-cured Meat Products from Slovenia. *Food Microbiology*. 28. 373–376.
- Stahnke, L. H., Holck, A., Jensen, A., Nilsen, A., Zanardi, E. 2002. Maturity acceleration of Italian dried sausage by *Staphylococcus carnosus*: Relationship between maturity and flavor compounds. *Food Science*. 67. 1914–1921.

Steinhauser, L. 1995. Hygiena a technologie masa. Vydavatelství potravinářské literatury LAST. Brno. 634 s. ISBN 80-900260-4-4.

Sunesen, L.O., Stahnke, L.H. 2003. Mould starter cultures for dry sausages-selection, application and effects. *Meat science*. 65. 935–948.

Ščetar, M., Kovačić, E., Kurek, M., Galić, K. 2013. Shelf life of packaged sliced dry fermented sausage under different temperature. *Meat Science*. 93 (4). 802–809.

Šerhagl, D., 2012. Celulózové a fázrové obaly pro masný průmysl. *Maso* (6). 35–41.

Šerhagl, D., 2015. Umělé potravinářské obaly pro trvanlivé masné výrobky. *Maso*. 5. 16–20.

Šimko, O. 2005. Factors affecting elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat foods and liquid smoke flavours. *Molecular Nutrition & Food Research*. 49. 637–647.

Talon, R., Lebert, I., Lebert, A., Leroy, S., Garriga, M., Aymerich, T., Drosinos E.H. 2007. Traditional Dry Fermented Sausages Produced in Small-Scale Processing Units in Mediterranean Countries and Slovakia: Microbial Ecosystems of Processing Environments. *Meat Science*. 77. 570–579.

Toldrá, F. 1998. Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat Science*. 49. 101–110.

Toldrá, F., Reig, M. 2007. The Biochemistry of Meat and Fat. In: Toldrá, F. Handbook of fermented meat and poultry. Blackwell Publishing, Oxford, UK. 47–54.

Työppönen, S., Petäjä, E., Mattila-Sandholm, T. 2003. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. *International journal of food microbiology*. 83 (3). 233–244.

Vandendriessche, F. 2008. Meat products in the past, today and in the future, *Meat Science*. 78 (11). 104–113.

Visagie, C.M., Houbraken, J., Frisvad, J.C., Hong, S.B., Klaassen, C.H.B., Perrone, G., Seifert, K.A., Varga, J., Yaguchi, T., Samson, R.A. 2014. Identification and Nomenclature of the Genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 78. 343–371.

Vuyst, L. D., Falony, G., Leroy, F. 2008. Probiotics in fermented sausages. *Meat science*. 80. 75–78.

Vyhláška č. 69/2016 Sb.: o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu, akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich. 2016. Praha.

Wang, Y., Qin, Y., Zhang, Y., Wu, R., Li, P. 2019. Antibacterial mechanism of plantaricin LPL-1, a novel class IIa bacteriocin against *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 97. 87–93.

- Warriss, P. D. 2000. Meat science: an introductory text. Wallingford, CABI Publishing, 310 s. ISBN 0-85199-424-5.
- Weiss, J., Gibis, M., Schuh, V., Salminen, H. 2010. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*. 86 (1). 196–213.
- Woods, L. 2003. Smoked foods: principles. Caballero, B., Trugo, L., Finflas, P.M. Encyclopedia of food sciences and nutrition. Academic Press. San Diego, CA. 5296–5300.
- Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwivathana, A., Benjakul, S., Visessanguan, W. 2016. Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Science*. 120. 118–132.
- Zeuthen, P. 2007. A historical perspective of meat fermentation. In: Toldra F. Handbook of fermented meat and poultry. Blackwell Publishing, Oxford, UK. 3–8. ISBN 978-0813814773.
- Zhang, W.A., Xiao, S., Samaraweera, H., Lee, E.J., Ahn, D.U. 2010. Improving functional value of meat products. *Meat Science* 86 (1). 15–31.
- Zhou, G.H., Xu, X.L., Liu, Y. 2010. Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Science*. 86 (1). 119–128.

9 Samostatné přílohy

Příloha 1 - Hodnotitelský protokol

Protokol senzorického hodnocení "masné výrobky 2020"		Box číslo:
Kód hodnotitele:	Set číslo:	Dne:

Celkový vzhled výrobku

velmi nevyhovující		velmi vyhovující
--------------------	--	------------------

Vzhled na řezu

velmi nevyhovující		velmi vyhovující
--------------------	--	------------------

Barva na řezu

velmi světlá		velmi tmavá
--------------	--	-------------

Vůně

velmi nevýrazná/ netypická		velmi výrazná/ typická
-------------------------------	--	---------------------------

Konzistence

velmi měkká		velmi tvrdá
-------------	--	-------------

Chuť

velmi nevýrazná/ netypická		velmi výrazná/ typická
-------------------------------	--	---------------------------

Celková přijatelnost

velmi nízká		velmi vysoká
-------------	--	--------------