

Analýza polotvrdých sýrů s přídavkem kultur *Bifidobacterium bifidum* a *Lactobacillus acidophilus*

Bc. Zuzana Žižková

Diplomová práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav biochemie a analýzy potravin
akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Zuzana ŽIŽKOVÁ**
Osobní číslo: **T080351**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Analýza polotvrdých sýrů s přídavkem kultur
Bifidobacterium bifidum a Lactobacillus acidophilus.**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Definice probiotik.
2. Využití probiotik v potravinářském průmyslu.
3. Bakterie mléčného kvašení používané při výrobě polotvrdých sýrů.
4. Výroba polotvrdých sýrů.
5. Senzorická analýza polotvrdých sýrů.

II. Praktická část

1. Mikrobiologický rozbor vzorků sýrů.
 2. Senzorická analýza vzorků sýrů.
 3. Stanovení biogenních aminů a volných aminokyselin ve vzorcích sýrů.
-

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] OLŠANSKÝ, Č., KNĚŽ, V. Výroba tvrdých sýrů eidamského a ementálského typu, Česká akademie zemědělská v Praze, Praha 1971.

[2] JAY, J.M. Modern food microbiology, 6th edition, Chapman & Hall, New York 2000.

[3] MATTILA-SANDHOLM, T., SAARELA, M. Functional dairy products, Woodhead Publishing Limited, Cambridge 2003.

[4] ŠILHÁNKOVÁ, L. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology, Praha : Academia, 2008.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Zuzana Vaňátková

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

4. ledna 2010

Termín odevzdání diplomové práce:

19. května 2010

Ve Zlíně dne 8. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 25.5.2010

Žižková

.....

(3) ¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

(4) ²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(5) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

(6) ³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

- (1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.
- (2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.
- (3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

V této diplomové práci byl studován vliv přídavku probiotických kultur *Bifidobacterium bifidum* a *Lactobacillus acidophilus* na kvalitu polotvrdých sýrů eidamského typu.

Základem práce byla výroba sýrů s přídavkem probiotických kultur. Poté byl vliv přídavku těchto probiotických kultur hodnocen v průběhu zrání a skladování. Průběžně byla prováděna sensorická analýza, bylo měřeno pH, byla zjišťována vlhkost sýrů. Dále byl proveden mikrobiologický rozbor a byla zkoumána tvorba biogenních aminů použitými probiotickými kulturami v sýrech.

Klíčová slova: polotvrdý sýr, probiotika, výroba sýrů, sensorická analýza, biogenní aminy

ABSTRACT

In this thesis was studied the influence of the addition of probiotic cultures *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in semi-hard cheeses Edam type.

Work was based on the production of cheeses with added probiotic cultures. Then the effect of these added probiotic cultures studied during ripening and storage. Continuously be carried sensory analysis, microbiological analysis, pH, solids of cheeses and influence of the addition of probiotic cultures on the formation biogenic amines in cheeses.

Keywords: semi-hard cheese, probiotics, cheese production, sensory analysis, biogenic amines

Poděkování

Velice děkuji vedoucí mé diplomové práce Ing. Zuzaně Vaňátkové za odborné vedení, cenné připomínky a rady a také za trpělivost a vlídný přístup.

Ráda bych také poděkovala Ladislavu Hudečkovi a Ing. Josefu Mrázkovi za pomoc a užitečné rady při výrobě sýrů.

Dále děkuji celému kolektivu Ústavu technologie a mikrobiologie potravin za vytvoření výborných pracovních podmínek.

V neposlední řadě patří díky mé rodině za pomoc, trpělivost a podporu v průběhu studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	13
I TEORETICKÁ ČÁST	14
1 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	15
1.1 DEFINICE PROBIOTIK.....	15
1.1.1 Terapeutické možnosti	16
1.1.2 Probiotické kmeny bakterií a jejich účinky.....	17
1.1.2.1 Rod Lactobacillus	17
1.1.2.2 Rod Bifidobacterium.....	18
1.1.2.3 Rod Streptococcus	18
1.1.3 Prebiotika	18
1.1.4 Symbiotika	19
1.1.5 Funkce fyziologické mikroflóry	19
1.2 VYUŽITÍ PROBIOTIK V POTRAVINÁŘSKÉM PRŮMYSLU	23
1.2.1 Fermentované mléčné výrobky	23
1.2.2 Probiotické preparáty	24
1.3 ČISTÉ MLÉKAŘSKÉ KULTURY POUŽÍVANÉ PŘI VÝROBĚ POLOTVRDÝCH SÝRŮ	25
1.3.1 Bakterie mléčného kvašení.....	25
1.3.2 Zkvašování laktosy.....	26
1.3.2.1 Smetanová kultura	28
1.4 VÝROBA POLOTVRDÝCH SÝRŮ EIDAMSKÉHO TYPU	29
1.4.1 Suroviny pro výrobu polotvrdých sýrů.....	30
1.4.1.1 Mléko	30
1.4.1.2 Smetanový zákys.....	33
1.4.1.3 Syřidlo.....	33
1.4.1.4 Chlorid vápenatý CaCl_2	34
1.4.1.5 Sůl kuchyňská NaCl	34
1.4.1.6 Dusičnan draselný KNO_3	34
1.4.2 Výroba sýrů eidamského typu	34
1.4.2.1 Výběr mléka.....	34
1.4.2.2 Úprava mléka před sýřením	35
1.4.2.3 Sýření mléka	36
1.4.2.4 Zpracování sýřeniny.....	36
1.4.2.5 Zrání sýrů	39
1.5 SENZORICKÁ ANALÝZA POLOTVRDÝCH SÝRŮ	41
1.5.1 Senzorické posuzování.....	42
1.5.1.1 Etapy statistické práce.....	42
1.5.1.2 Posuzovatelé	42
1.5.1.3 Zásady sensorického posuzování.....	43
1.5.2 Vyhodnocení sensorické analýzy	44
1.5.2.1 Rozlišovací metody.....	44
1.5.2.2 Pořadová zkouška	45
1.5.2.3 Hodnocení s použitím stupnic.....	46
II PRAKTICKÁ ČÁST	48

2	MATERIÁL A METODIKA	49
2.1	VÝROBA EIDAMSKÉHO BLOKU	49
2.1.1	Suroviny pro výrobu.....	49
2.1.2	Metodika	50
2.2	MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR VZORKŮ SÝRŮ	52
2.2.1	Přístroje	52
2.2.2	Živná média.....	52
2.2.3	Metodika	54
2.3	SENZORICKÁ ANALÝZA VZORKŮ SÝRŮ	55
2.3.1	Vzorky.....	55
2.3.2	Metodika	55
2.4	ZÁKLADNÍ CHEMICKÁ ANALÝZA VZORKŮ SÝRŮ	56
2.4.1	Přístroje	56
2.4.2	Metodika	56
2.5	STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ A VOLNÝCH AMINOKYSELIN VE VZORCÍCH SÝRŮ	57
2.5.1	Materiál	57
2.5.2	Metodika	58
3	VÝSLEDKY A DISKUSE	61
3.1	VÝROBA EIDAMSKÉHO BLOKU	61
3.1.1	Výsledky.....	61
3.2	MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR VZORKŮ SÝRŮ	61
3.2.1	Výsledky.....	61
3.2.2	Diskuse.....	70
3.3	SENZORICKÁ ANALÝZA VZORKŮ SÝRŮ	70
3.3.1	Výsledky.....	70
3.3.2	Diskuse.....	88
3.4	ZÁKLADNÍ CHEMICKÁ ANALÝZA VZORKŮ SÝRŮ	90
3.4.1	Výsledky.....	90
3.4.1.1	Stanovení aktivní kyselosti	90
3.4.1.2	Stanovení vlhkosti sušením	91
3.4.2	Diskuse.....	92
3.5	STANOVENÍ BIOGENNÍCH AMINŮ A VOLNÝCH AMINOKYSELIN	93
3.5.1	Výsledky.....	93
3.5.2	Diskuse.....	98
	ZÁVĚR	99
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	101
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	104
	SEZNAM OBRÁZKŮ	105
	SEZNAM TABULEK.....	106
	SEZNAM PŘÍLOH.....	109

ÚVOD

Probiotika jsou živé mikrobiální doplňky potravy, které příznivě ovlivňují mikrobiální rovnováhu trávicího traktu a působí ve prospěch hostitele. Rovnováha střevní mikroflóry je nezbytná pro správné trávení, vstřebávání minerálních látek např. vápníku, potlačení nežádoucí mikroflóry způsobující průjemová onemocnění. Správná střevní mikroflóra také stimuluje imunitní systém, je prevencí rakoviny a produkuje nezbytné vitaminy skupiny B a vitamin K. Pokud chceme střevní mikroflóru udržet v rovnováze je nutné pravidelné doplňování mikroflóry a to konzumací výrobků s probiotickými kulturami.

Informovanost spotřebitelů o příznivých účincích probiotik je dnes již na dobré úrovni, proto v dnešní uspěchané době poptávka po potravinách obsahujících probiotické kultury, tzv. „funkčních potravinách“ stále roste. Potravinářský průmysl vyrábějící „funkční potraviny“ obsahující probiotické bakterie se velmi rychle vyvíjí, ale zatím jde především o vývoj zakysaných mléčných výrobků s probiotickou kulturou. Pokud spotřebitel nepreferuje zakysané mléčné výrobky, ale chce využít příznivých účinků probiotik, zbývá mu pouze možnost konzumace probiotických preparátů. Proto jsme se rozhodli vyzkoušet, zda je možné přidávat probiotické bakterie i do jiných výrobků a to konkrétně do polotvrdých sýrů.

Základem této práce byla výroba polotvrdých sýrů s přídavkem probiotických kultur *Bifidobacterium bifidum* a *Lactobacillus acidophilus*. Po výrobě bylo cílem sledování účinků přidaných probiotických kultur na organoleptické, mikrobiologické a fyzikálně chemické parametry. Tyto parametry byly porovnávány s kontrolním vzorkem eidamského bloku vyrobeného klasickou technologií.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

1.1 Definice probiotik

Probiotika jsou živé doplňky stravy, které jsou tvořeny monokulturou nebo směsnou kulturou mikroorganismů a které, jestliže se aplikují člověku nebo zvířeti, příznivě ovlivňují mikrobiální rovnováhu trávicího traktu a působí ve prospěch hostitele [1].

Probiotické bakterie musí splňovat následující vlastnosti [2]:

- pro lidskou výživu musí být probiotika humánního původu, protože některé účinky probiotik vedoucí k podpoře zdraví mohou být u různých živočišných druhů odlišné;
- musí být odolné vůči kyselinám a žluči;
- musí mít minimálně přechodnou schopnost kolonizovat trávicí trakt;
- upřednostňují se kmeny bakterií, které jsou schopny se vázat na střevní buňky;
- musí působit antagonisticky proti kariogenním a patogenním bakteriím buď produkcí antimikrobních látek, nebo tím, že jim konkurují;
- jejich konzumace musí být bezpečná;
- musí mít klinicky prokázané zdravotní účinky.

Z technologického hlediska jsou důležité tyto znaky probiotik [3]:

- musí si zachovávat ověřenou životaschopnost;
- nesmí nevhodně měnit organoleptické vlastnosti;
- během skladování musí udržovat mírnou kyselost, ale nesmí výrobek okyselovat příliš;
- během výroby a skladování si musí zachovat schopnost kolonizace;
- ve fermentovaných výrobcích musí být během skladování stabilní;

- identifikace kmenů musí být přesná;
- je nutné znát účinky, které závisejí na dávce [3].

Protože probiotické vlastnosti bakterií závisejí především na jejich schopnosti zůstat životaschopné a kolonizovat povrch intestinálních buněk, musí v době konzumace výrobek obsahovat dostatečný počet živých bakterií. Za tzv. terapeutické minimum je považována koncentrace 1×10^5 KTJ/g nebo ml finálního výrobku. Aby se projevily kladné účinky u lidí, je nezbytné denně zkonzumovat $1 \times 10^6 - 1 \times 10^9$ živých buněk [3].

1.1.1 Terapeutické možnosti

Na základě klinických studií se probiotika bezpečně indikují u čtyřech skupin digestivních onemocnění [1]:

- digestivních infekcí a dysmikrobií;
- idiopatických střevních zánětů;
- jaterní encefalopatie;
- nádorových onemocnění.

Pozitivní zkušenosti s použitím probiotik jsou popsány i při terapii mimostřevních onemocnění jako jsou:

- kožní onemocnění – psoriasis, atopický ekzém, neurodermitida;
- uroinfekce;
- migréna;
- reaktivní artritida.

Terapie těchto mimostřevních onemocnění však nejsou podpořeny klinickými studiemi [1].

1.1.2 Probiotické kmeny bakterií a jejich účinky

1.1.2.1 Rod *Lactobacillus*

Patří do skupiny pravidelných nesporulujících grampozitivních tyčinek. Jsou mikroaerofilní, s optimem růstu při 37 °C. V přírodě je tento rod velmi rozšířen, vyskytuje se v mléce, v ústech a trávicím traktu savců, na rostlinách i v půdě. Většina druhů zkvašuje laktosu, a to jak homofermentativně (např. druhy *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*) tak heterofermentativně, kdy produkují vedle kyseliny mléčné i značné množství etanolu a CO₂ (např. *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. buchneri*) [4].

Lactobacillus acidophilus La1

Lactobacillus acidophilus La1 zvyšuje imunitu, lne k humánním intestinálním buňkám, vyvažuje střevní mikroflóru a působí jako adjuvans [3].

Lactobacillus acidophilus NCFB 1748

Lactobacillus acidophilus NCFB 1748 snižuje aktivitu fekálních enzymů, snižuje fekální mutagenitu, zamezuje průjmu po radioterapii, pomáhá při zácpě [3].

Lactobacillus GG (ATCC 53013)

Lactobacillus GG zamezuje průjmu při aplikaci antibiotik, upravuje stolici a zamezuje průjmu způsobenému rotavirem, upravuje chronické průjmy způsobené bakterií *Clostridium difficile*, působí jako prevence akutního průjmu a Crohnovy choroby, působí proti kariogenním bakteriím [3].

Lactobacillus gasseri (ADH)

Lactobacillus gasseri snižuje aktivitu fekálních enzymů, přetrvává v trávicím traktu. [3].

Lactobacillus casei Shirota

Lactobacillus casei Shirota zabraňuje střevním poruchám, upravuje průjem způsobený rotavirem, vyvažuje střevní mikroflóru, snižuje aktivitu fekálních enzymů, zvyšuje imunitu, příznivě působí v prevenci rakoviny tlustého střeva [3].

1.1.2.2 Rod *Bifidobacterium*

Patří do skupiny nepravidelných nesporulujících grampozitivních tyčinek. Rod je anaerobní a charakteristický tvorbou acetátu a laktátu (v poměru 3:2) ze sacharidů, za současné produkce malého množství etanolu, sukcinátu a mravenčanu. Buňky jsou velmi různorodé, od kokovitých tvarů, přes kyjovité útvary až k dlouhým rozvětveným tyčinkám. Některé druhy se vyskytují v trávicím traktu kojenců i dospělých lidí [4].

Bifidobacterium bifidum, *B. breve*, *B. longum* a *B. infantis*

osidlují zejména tlusté střevo. Mají příznivý vliv na zácpu a úpravu nerovnováhy střevní mikroflóry po terapii antibiotiky, podporují střevní peristaltiku. Zmíněné druhy pomáhají snižovat hladinu cholesterolu, fermentují nestravitelnou vlákninu, podporují syntézu vitaminů, zejména skupiny B a absorpci minerálů (Fe, Ca, Mg a Zn). Tyto bakterie absorbují velké množství iontů železa, které řada patogenních bakterií potřebuje pro svoje rozmnožování, a tím inhibují jejich růst [5]. V neposlední řadě také produkují organické kyseliny, které snižují pH ve střevě a upravují průjem způsobený rotavirem [3].

1.1.2.3 Rod *Streptococcus*

Streptokoky patří mezi grampozitivní koky tvořící řetízky, jsou mikroaerofilní. Způsobují homofermentativní mléčné kvašení. Rod *Streptococcus* zahrnuje i řadu patogenních druhů, které způsobují hnisavá onemocnění, spálu, angínu, zubní kazy, aj. [4].

Streptococcus salivarius subsp. *thermophilus* osidluje zejména počáteční část tenkého střeva. Je nezbytný pro trávení mléčných výrobků u lidí s laktosovou intolerancí [5]. Je součástí jogurtové kultury. Je termofilní, kultivuje se při 42 až 45 °C [6].

1.1.3 Prebiotika

Prebiotika jsou nestravitelné, neživé potravinářské složky, které pozitivně ovlivňují hostitele. A to tím, že v tlustém střevě selektivně stimulují růst nebo aktivitu jednoho či omezeného počtu druhů bakterií majících schopnost zlepšit zdravotní stav hostitele [7]. Současně mohou prebiotika přímo i nepřímo inhibovat růst a metabolickou aktivitu nedominantní složky digestivní mikroflóry [1].

Aby určité potravinářské přísady fungovaly jako prebiotika musí [3]:

- procházet horní částí gastrointestinálního traktu v nezměněné formě, nesmí se zde hydrolyzovat ani absorbovat;
- sloužit vybraným bakteriím v tlustém střevě jako selektivní substrát, který zvyšuje metabolickou aktivitu těchto bakterií, nebo podporuje jejich růst;
- pozitivně ovlivňovat složení mikroflóry tlustého střeva;
- celkově ovlivňovat zdraví a pohodu příslušného jedince.

Základem prebiotik jsou přirozená potravinová prebiotika, především vláknina. Vláknina se dělí na rozpustnou vlákninu (necelulózní polysacharidy, jiné polysacharidy, pektin, hemicelulóza) a na nerozpustnou vlákninu (lignin). Mezi prebiotické preparáty používané v potravinářství, ale i v medicíně, patří např. laktulosa, laktitol, inulin a karubin [1].

1.1.4 Symbiotika

Směs probiotik a prebiotik, která prospěšně ovlivňuje hostitele tím, že zlepšuje přežití usídlených živých dietetických suplementů v gastrointestinálním traktu. A to tak, že směs selektivně stimuluje růst nebo aktivuje metabolismus jednoho či omezeného počtu druhů bakterií podporujících zdraví [3].

1.1.5 Funkce fyziologické mikroflóry

Během lidského života se struktura fyziologické mikroflóry mění, postupně dochází k modulaci definitivního mikrobiálního osídlení trávicího traktu, i k dalším změnám provázejícím věk jedince [1]. Faktory jako je strava, nemoc, stres, nebo léky (např. antibiotika) mohou střevní mikroflóru výrazně narušit [8].

Funkce mikrobiálního ekosystému v lidském střevě můžeme rozdělit do pěti základních skupin [1]:

- mikrobiální bariéra proti patogenům a potenciálním patogenům;
- tvorbu produktů mikroflóry a jejich vlivy na prokrvení mukózy a motilitu;

- stimulace střevního imunitního systému;
- redukce bakteriální translokace;
- produkce vitaminů.

Mikrobiální bariéra proti patogenům a potenciálním patogenům

Součástmi mikrobiální bariéry jsou, kolonizační rezistence anaerobů a aerobů gastrointestinálního traktu vůči patogenům (salmonely, shigely, yersinie, kampylobakter, atd.), proti potenciálním patogenům (helikobakter, klostridia, kandidy, atd.) a také kontrola oportunní mikroflóry (proteus, pseudomonády, enterobakterie, stafylokoky, streptokoky, atd.) [1].

Tato kolonizační rezistence je zajišťována následujícími mechanismy:

a) Receptorová blokáda, tj. obsazení potenciálních vazebných míst střevní výstelky

Ztrátou, či poklesem množství fyziologické mikroflóry je umožněno obsazení střevní výstelky patogenům a potenciálním patogenům. Tento mechanismus dále závisí na invazivně patogenních mikroorganismů. Invazivita je soubor procesů (schopnost vstoupit do organismu hostitele, množit se v něm, šířit a překonávat jeho obranné mechanismy). Mezi invazivní mikroorganismy můžeme řadit např. rotaviry, shigely, yersinie, tuberkulózu. Mezi neinvazivní řadíme např. cholera, neinvazivní *E.coli*, salmonely [1].

b) Brzdění růstu anebo usmrcení cizích mikroorganismů

Probíhá působením bakteriostatických a baktericidních látek, jako jsou volné mastné kyseliny s krátkým řetězcem, dekonjugované žlučové kyseliny, lysolecitin, antibioticky aktivní látky, ke kterým patří také tzv. defensiny (endogenní antibioticky působící peptidy) [1].

c) Konkurence v získávání výživových látek, vitaminů a růstových faktorů

Většina střevních bakterií metabolizuje sacharidy. Převážná část jednoduchých cukrů je zpracována v oblasti tenkého střeva, takže do tlustého střeva přechází pouze některé cukry s nižší molekulární hmotností - rafinosa, stachyosa, laktulosa a alkoholové cukry (sorbitol a xylitol). Bakterie trávicího traktu rozkládají polymery na oligomery a ty dále monosacharidy a aminokyseliny. Tento rozklad je umožněn produkcí polysacharidasy, glukosidasy, proteasy a peptidasy. Střevní mikroflóra je schopna tyto složky enzymově měnit na [1]:

- volné mastné kyseliny s krátkým řetězcem;
- hydro a dikarboxylové organické kyseliny;
- vodík, oxid uhličitý;
- další – neutrální, kyselé a zásadité produkty.

V kolonické oblasti je tedy fermentativní přeměna sacharidů převažujícím metabolismem. V tomto procesu jsou rozhodující skupinou bakterií bifidobakterie (*B.longum*, *B.angulatum*, *B.pseudolongum*, *B.ovatus*) a bakteroidy. V menší míře probíhá také metabolismus proteinů ve formě proteolýzy, metabolizace aminokyselin a aromatických aminokyselin. Proteolýza je realizována především kmeny klostridií a opět bifidobakteriemi a bakteroidy [1].

d) Snížení střevního pH

Střevní pH se snižuje vznikem volných mastných kyselin s krátkým řetězcem (propionové, máselné, mléčné, octové) produkovaných při přeměně glycidů [1].

e) Přímý antagonismus fyziologické mikroflóry vůči mikroflóře patogenní či potenciálně patogenní

In vitro byl tento mechanismus prokázán proti *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhimurium*, stafylokokům, vibriím nebo *Candida albicans* [1].

Tvorba produktů mikroflóry a jejich vliv na prokrvení střevní mukózy a motilitu

Aerobní i anaerobní mikroflóra produkuje volné mastné kyseliny s krátkým řetězcem, zejména kyselinu propionovou, octovou a máselnou. Laktobacily a bifidobakterie vytváří kyselinu mléčnou. Oba tyto produkty jsou resorbovány pasivní difúzí střevní mukózou a slouží ke krytí 40 – 50 % energetické potřeby kolonocytů. Současně zvyšují kolonické prokrvení mukózy, stimulují motilitu a zvyšují sodíkovou a chloridovou absorpci v distálním kolon [1].

Stimulace imunitního střevního systému

Lidský organismus disponuje bariérami, které brání nekontrolovanému průniku antigenních a mitogenních podnětů do vnitřního prostředí organismu. Hlavními bariérami a kontaktními místy jsou slizniční povrchy zažívacího, dýchacího a urogenitálního traktu. Imunitní systém nacházející se ve střevní sliznici, zajišťuje tři základní úkoly [1]:

- bariéru proti patogenním mikroorganismům;
- bariéru proti imunogennům;
- nereaktivnost organismu vůči těm složkám potravy, které se do něj dostaly v imunogenní podobě.

Slizniční imunitní systém je charakterizován převahou protilátek třídy IgA, přednostním osídlováním sliznic a exkrečních žláz buňkami, pocházejí ze střevních lymfatických folikulů a také transportem polymerních imunoglobulinů do sekretu prostřednictvím epitelových buněk [1].

Lymfoidní tkáň střeva je systém, který během života zpracuje informace asi ze 100 – 200 tun potravy a je permanentně osídlen fyziologickou a někdy i nefyziologickou mikroflórou. Tato střevní tkáň se skládá z organizované lymfoidní tkáně, volných intraepitelových lymfocytů a lymfocytů lamina propria [1].

Imunitní reakce na sliznici trávicího traktu nevedou pouze k odpovědi lokální, ale také k cirkulaci na sliznicím vzdálených systémech (tzv. společný slizniční imunitní systém). Buňky, především ve střevní sliznici, po kontaktu s antigeny migrují lymfatickou cestou do

krevního řečiště a odtud do všech sliznic a endokrinních žláz. Zpět do stěny střevní se dostávají především T lymfocyty, jež způsobí příslušnou imunitní odpověď [1].

Fyziologická střevní mikroflóra provádí tzv. konstantní trénink imunitního systému trávicího traktu, který tvoří jednak bariéru invazi cizích zárodků a jednak vede k tzv. paraimunitě, tedy ke zvýšení specifické i nespecifické imunitní odpovědi [1].

Redukce bakteriální translokace

Fyziologický mikroekosystém zažívacího traktu zabraňuje intraluminálním zárodkům proniknout stěnou trávicího traktu do lymfatického systému s potencionální možností průniku do různých tkání organismu a tím vytvoření systémové infekce [1].

Produkce vitaminů

Fyziologická mikroflóra se může podílet na tvorbě vitaminů B12, K1 a K2. Časté, jakož i dlouhodobé užívání antibiotik může vést k narušení syntézy těchto vitaminů a tím jejich nedostatku [1].

1.2 Využití probiotik v potravinářském průmyslu

Díky nedávnému objevu, že strava s obsahem probiotických bakterií může příznivě ovlivňovat různé funkce v těle, obchodní zájem na přidávání probiotických bakterií do fermentovaných mléčných výrobků i výroba probiotických preparátů stále roste [9].

1.2.1 Fermentované mléčné výrobky

Zakysané mléčné výrobky patří mezi tradiční i perspektivní výrobky. Definovány jsou jako výrobky získané kysáním mléka, smetany, podmásli nebo jejich směsi za použití mikroorganismů a nebyly tepelně ošetřeny po kysacím procesu. Mnohé z nich se uplatňují při různých dietách a při léčebné výživě. Mají vhodné sensorické vlastnosti, delší trvanlivost a řadu předností z hlediska fyziologie výživy. Poskytují jemnou sraženinu mléčných bílkovin, jsou relativně rychle a snadno stráveny [10].

Jogurt a jogurtové nápoje

Tyto výrobky se vyrábí s použitím směsné jogurtové kultury obsahující *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Fermentace standardizované, homogenizované a vysokopasterované směsi probíhá buď metodou termostatovou, obvykle 3 až 3,5 hod při 42 až 45 °C nebo metodou tankovou obvykle po dobu 16 až 18 hod při 30 °C [10].

Zakysané mléčné výrobky s použitím *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium bifidum*

Vzhledem k organoleptickým vlastnostem acidofilní kultury (velmi ostře kyselá chuť) a bifidové kultury (výrazná octová chuť), které nejsou konzumenty přijímány, se obvykle pro výrobu používají kombinace s jinými kulturami, nejčastěji v kombinaci se základní smetanovou kulturou nebo jogurtovou kulturou. Principem výroby je oddělená kultivace kultur. Část tepelně ošetřeného, homogenizovaného a standardizovaného mléka se naočkuje acidofilní nebo bifidovou kulturou a fermentujeme při 37 °C po dobu 12 až 15 hod. Druhá část připraveného mléka se zaočkuje smetanovou nebo jogurtovou kulturou, dle požadovaného finálního výrobku a nechá se fermentovat. Smetanová kultura zraje při 21 až 23 °C po dobu 15 až 19 hod. Jogurtová kultura zraje při 42 až 45 °C po dobu 3 až 3,5 hod. Po skončení fermentace v oddělených fermentačních nádobách se obě sraženiny smíchají a homogenizují při tlaku 5 – 8 MPa, vychladí se pod 10 °C a plní do spotřebitelských obalů [10].

1.2.2 Probiotické preparáty

Nevýhodu někdy ne zcela dostatečného počtu a také kolísání počtu probiotických bakterií v mléčných výrobcích lze odstranit používáním probiotických preparátů [7]. Výhodou je také možnost využití jiných kmenů probiotických bakterií, nebo použití vícedruhových probiotik, které by v případě použití ve fermentovaných mléčných výrobcích mohly způsobit sensorické znehodnocení výrobku [5]. Na rozdíl od probiotických potravin, které jsou určeny převážně pro zdravou populaci, můžou být probiotické preparáty také indikovány lékařem jako terapeutický prostředek [3].

Vícedruhov^á probiotika

Užíváním probiotik s pestrým zastoupením probiotických kmenů se zvyšuje pravděpodobnost zachování optimálního složení střevní mikroflóry. Jednotlivé druhy bakterií se liší ve svých vlastnostech, například ve specifických inhibičních účincích vůči patogenním mikroorganismům. Probiotické kmeny v komplexu se vzájemně ve svých účincích doplňují a působí synergicky, účinnost směsí probiotických kmenů může být mnohem vyšší, než u jednokmenových přípravků, které vykazují nižší úspěšnost v kolonizaci trávicího traktu. Optimální preventivní a léčebnou probiotickou kulturou je tedy směs synergicky působících probiotických bakterií. Příkladem takové směsi může být např. výrobek Biopron 9 od společnosti Valosun, který se skládá z 9 kmenů bakterií: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. Velmi dobré výsledky byly zdokumentovány také s přidavkem kvasinky *Saccharomyces boulardii* [5].

1.3 Čisté mlékařské kultury používané při výrobě polotvrdých sýrů

Podmínkou výroby kvalitních sýrů charakteristických vlastností je kvalitní surovina, použití vhodných čistých mlékařských kultur a dodržování technologického postupu. Čisté mlékařské kultury mají nahradit přirozenou mikroflóru mléka, která svými biochemickými pochody zajišťuje správné zrání vyráběného sýra. Nejdůležitější biochemické procesy, které se uplatňují při výrobě a zrání polotvrdých sýrů jsou rozklad laktosy a rozklad bílkovin [11].

1.3.1 Bakterie mléčného kvašení

Bakterie mléčného kvašení jsou skupina bakterií kokovitého i tyčinkového tvaru, které většinou rostou za fakultativně anaerobních podmínek, s výjimkou bifidobakterií, které jsou striktně anaerobní. Vyžadují substráty bohaté na živiny. Skupina bakterií mléčného kvašení zahrnuje zpravidla některé druhy rodů [12]:

- *Lactococcus*;
- *Streptococcus*;

- *Enterococcus*;
- *Lactobacillus*;
- *Leuconostoc*;
- *Pediococcus*;
- *Bifidobacterium*.

Už v roce 1919 definoval Orl-Jensen bakterie mléčného kvašení:

„Pravé bakterie mléčného kvašení tvoří velkou přirozenou skupinu nepohyblivých, nesporulujících grampozitivních koků a tyčinek, které fermentují sacharidy za fakultativně anaerobních podmínek a vytváří při tom převážně kyselinu mléčnou.“

Tato definice bakterií mléčného kvašení je v podstatě platná dodnes [12].

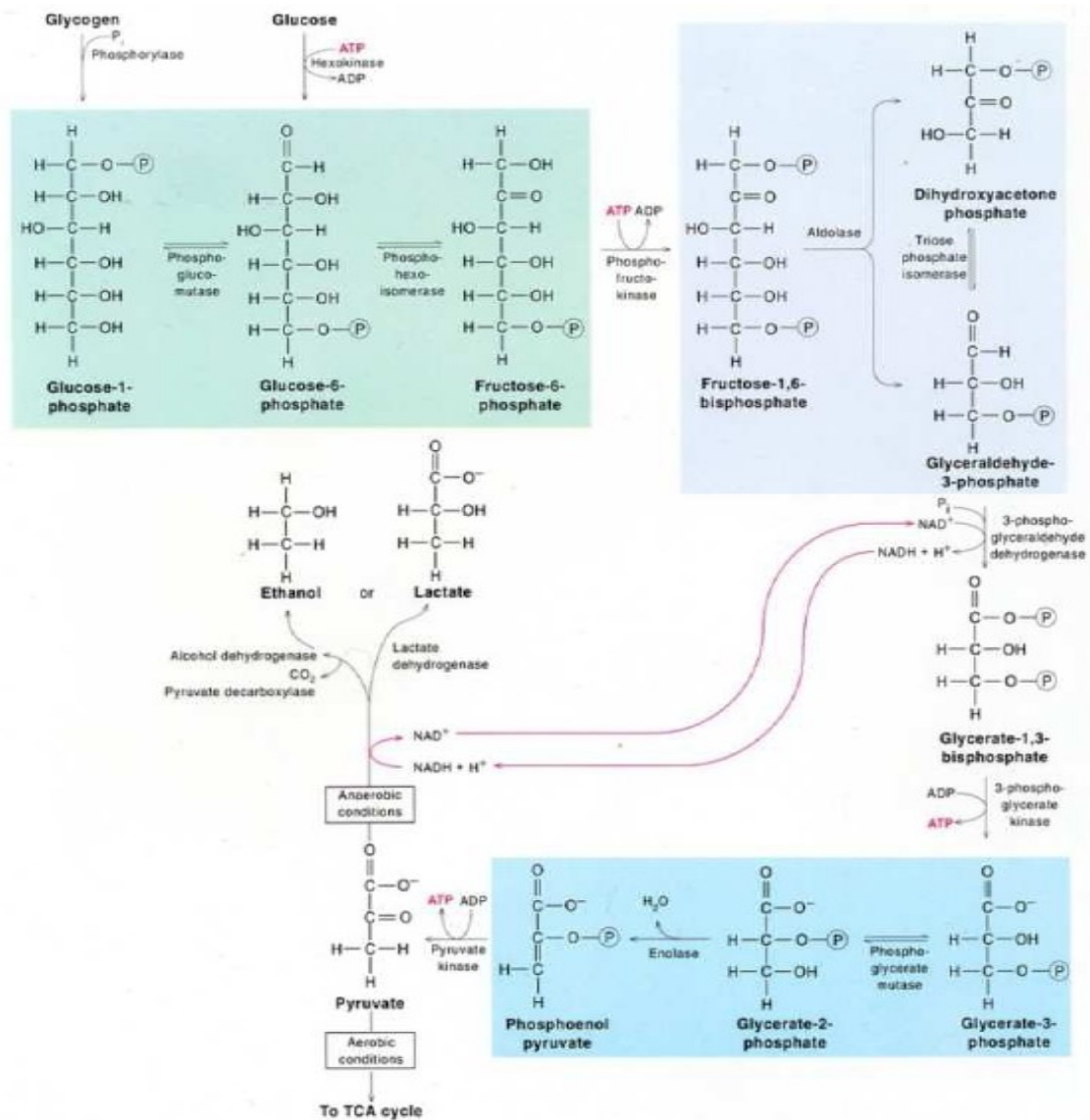
Bakterie mléčného kvašení se nevyskytují pouze v mléce a ve fermentovaných mléčných výrobcích, nýbrž i na různých přírodních stanovištích. Můžeme je najít na rostlinném materiálu a to především na rozkládajících se rostlinách. Dále také ve střevech lidí i zvířat a na jejich sliznicích [12].

Důležitou vlastností bakterií mléčného kvašení je fakt, že ve svém fermentativním metabolismu produkují látky a vytváří podmínky, které jsou pro jiné (většinou nežádoucí) bakterie zpravidla škodlivé. Proto se konzervační vlastnosti bakterií mléčného kvašení a jejich fermentačních produktů využívá k prodloužení trvanlivosti potravin živočišného i rostlinného původu. Hlavním produktem fermentace je kyselina mléčná, která dokáže snížit pH prostředí na pH 4 a nižší, tak nízké hodnoty většina škodlivých bakterií nesnese. Vedle kyseliny mléčné mohou některé bakterie mléčného kvašení produkovat i kyselinu octovou a jiné mikrobicidní látky jako peroxid vodíku, kyselinu benzoovou, nisin, aj. [12].

1.3.2 Zkvašování laktosy

Kvašení (fermentace) je proces, při němž probíhají v důsledku metabolické aktivity mikroorganismů chemické přeměny organických látek, obvykle sacharidů. Anaerobní kvašení probíhá bez účasti kyslíku (např. kvašení mléčné, máselné, alkoholové), aerobní za přítomnosti kyslíku (např. kvašení octové, citronové) [13].

Rozlišujeme typické, čili homofermentativní mléčné kvašení, při němž vzniká především kyselina mléčná [14] a které způsobují rody *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* a některé druhy rodu *Lactobacillus* [12]. A netypické čili heterofermentativní mléčné kvašení, způsobené rody *Leuconostoc* a některé druhy rodu *Lactobacillus* [12], kdy se tvoří nejen kyselina mléčná, ale také jiné produkty, např. kyselina octová, oxid uhličitý, etanol (Obr. 1.) [14].



Obr. 1. Schéma průběhu mléčného kvašení [15].

1.3.2.1 Smetanová kultura

Smetanová kultura je nejpoužívanější mlékařská kultura. Její kysací či aromatvorná aktivita se používá při výrobě všech fermentovaných mléčných výrobků, s výjimkou jogurtu, např. pro výrobu zakysané smetany, másla, tvarohu a všech druhů sýrů [12].

Smetanová kultura je kultura směsná, obsahuje druhy kyselinotvorné a aromatvorné (produkce diacetylu), obvykle v poměru 9 : 1. V praxi se využívá více typů smetanových kultur, které se vzájemně liší biochemickými vlastnostmi, např. aktivitou tvorby kyseliny mléčné, produkcí aromatických látek, citlivostí na vlivy prostředí i zastoupením jednotlivých druhů a kmenů mikroorganismů. Každý typ je vhodný pro jiný druh výrobku [11].

Kyselinotvorná složka smetanové kultury je tvořena:

- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* - součást kyselinotvorné složky všech typů základních smetanových kultur, používaných v mlékařské výrobě. Tvoří kyselinu mléčnou i malé množství aromatických látek a některé kmeny tvoří nisin (v potravinářství a zejména pak v sýrašství používané antibiotikum) [16]. Této vlastnosti se využívá při výrobě Blatáckého zlata a sýrů holandského typu. Tato kultura zlepšuje konzistenci sýrů a potlačuje klostridia způsobující máselné kvašení [11].
- *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* - tyto kmeny tvoří základ klasických smetanových kultur a dále jsou součástí mikroflóry sýrašských kultur netvořících aroma [16].

Aromatvorná složka smetanové kultury je tvořena:

- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* - tvoří aromatickou součást smetanové kultury. Mléko sráží velmi pomalu, aromatické látky tvoří při nižším pH. Při společné kultivaci s kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* podporuje růst základní kultury. Je heterofermentativní, kromě kyseliny mléčné tvoří i organické kyseliny, oxid uhličitý a etanol [16].
- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* - v přítomnosti sacharosy vytváří dextransy, které tvoří charakteristickou táhlovitou konzistenci koagulátu [16]. Tato

vlastnost se také využívá pro průmyslovou výrobu dextranů, určených pro lékařské účely [4].

Pro sýrařské účely může být smetanová kultura doplněna o druhy rodu *Pediococcus*. Aby smetanová kultura dosáhla plné kvality, sestavuje se z několika kmenů každého druhu, které se v biochemické aktivitě vzájemně doplňují. Nejdříve se rozmnožují laktokoky, které slabě proteolyzují kasein a uvolněnými aminokyselinami stimulují růst leukonostoků, tím se zajišťuje tvorba aroma v kultuře [11].

Kultivace smetanové kultury probíhá při teplotě 21 až 23 °C po dobu 16 až 20 hod, do titrační kyselosti 38 až 45 SH. Přídavek inokula činí 0,5 – 1 % [6].

Dobrá, zralá smetanová kultura je homogenně sražená. Pod smetanovou vrstvou se tvoří slabý proužek syrovátky. Konzistence má být jemná, hustá, po protřepání se tvoří celistvý film, který zůstává po dobu 1 minuty beze změny. Chuť má být čistě mléčně nakyslá, aromatická, může se objevovat nepatrně štiplavá příchut' po oxidu uhličitém. Vůně je výrazná, smetanová [11].

1.4 Výroba polotvrdých sýrů eidamského typu

Charakteristika sýrů eidamského typu

Sýry eidamského typu patří v rámci skupiny přírodních sýrů podle obsahu sušiny mezi sýry polotvrdé (s obsahem vody 38,1 až 45 %) [17] a podle hlavních technologických znaků do skupiny sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou, s tvorbou ok v těstě [18].

Hlavním technologickým znakem sýrů z nízkodohřívané sýřeniny je přihřívání a dosoušení sýrového zrna při nízkých teplotách (34 - 42 °C) za současného přídavku teplé prací vody [18].

Historie eidamských sýrů

Jak napovídá název sýrů, hlavní zástupci sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou a s tvorbou ok v těstě mají svůj původ v Holandsku, kde se začala vyrábět eidamská koule již v 11. století. Své jméno získaly sýry podle místa vzniku. Název eidamský sýr je odvozen z názvu města Edam v severním Holandsku. Proto také v Holandsku i v jiných zemích označení „Eidam“ znamená sýr z nízkodohřívané sýřeniny ve tvaru koule. Hranolovité sýry označované jako eidamská cihla jsou již jen tvarové variace v jednotlivých státech. Z Holandska se výroba

rozšířila po celé Evropě, kde sýry získaly vlastní charakteristické znaky a varianty, které nakonec vedly k vlastním národním druhům sýrů eidamského typu. U nás se vyrábí především eidamská cihla o váze 2,2 – 2,8 kg, v menším množství eidamská koule o váze 2 kg, eidamský blok o váze 12 kg a domácí varianty eidamského sýra – uzený a neuzený salámový sýr [18].

1.4.1 Suroviny pro výrobu polotvrdých sýrů

1.4.1.1 Mléko

Mlékem se nazývá tekutý sekret mléčné žlázy savců produkovaný v období laktace [10]. Mléko se tvoří v mléčné žláze [19]. Činnost mléčné žlázy je periodická, doba její činnosti se nazývá laktační periodou a začíná hned po porodu. U krávy trvá obvykle 300 dní. Krátkou dobu před porodem a 7 - 10 dní po něm tvoří mléčná žláza mléko nezralé zvané mlezivo [19]. Mlezivo není používáno k průmyslovému zpracování [18]. Zralé mléka rozlišujeme podle vzájemného poměru kaseinové a albuminové části bílkovin na mléka [20] (Tab. 1.):

- albuminová – produkují masožravci, všežravci a ti býložravci, kteří mají jednoduchý žaludek (lidské, psí, kočičí, kobyly);
- kaseinová – produkují býložravci, kteří mají složitý žaludek (kravské, kozí, ovčí).

Tab. 1. Průměrné složení kravského mléka [20]

Hlavní složky mléka	Průměrný obsah v %	Rozmezí hodnot v %
voda	87,5	86,0 - 89,0
sušina	12,5	11,0 - 14,0
mléčný tuk	3,8	3,0 - 5,0
bílkoviny celkové	3,3	2,7 - 3,8
kasein	2,7	2,2 - 3,2
albumin	0,55	0,4 - 0,8
globulin	0,05	0,03 - 0,2
laktosa	4,7	4,0 - 5,4
minerální látky	0,7	0,6 - 0,8
tukuprostá sušina	8,7	7,3 - 10,0

Voda v mléce

Voda v mléce se vyskytuje jednak volná, jednak vázaná na koloidy a dále i chemicky vázaná. Volná voda tvoří převážnou většinu vody mléka a jsou v ní rozpuštěny jeho složky. Lze ji z mléka odpařit nebo vymrazit v podobě ledových krystalů. Vázaná voda je hydratační voda, která tvoří vodní obaly na povrchu částic sušiny. Chemicky vázaná voda je krystalická, velmi silně vázaná převážně na laktosu. Voda přechází do mléka z krve [19].

Sušina mléka

Sušina mléka u zdravých dojnic neklesá pod 12%, skládá se ze sacharidů, bílkovin, lipidů, minerálních látek, vitaminů, enzymů, hormonů a pigmentů [10].

- Sacharidy

Základním sacharidem mléka je laktosa. Laktosa je disacharid složený ze dvou hexos, D-glukosy a D-galaktosy. Laktosa se vyskytuje ve dvou základních formách, jež se mezi sebou liší prostorovým uspořádáním, což má vliv na fyzikální vlastnosti laktosy. Jedna z forem se nazývá α -laktosa, druhá β -laktosa. Laktosa dosahuje pouze 1/6 sladivosti sacharosy. Bakterie mléčného kvašení rozkládají laktosu na kyselinu mléčnou [19]. Z jedné molekuly laktosy vznikají čtyři molekuly kyseliny mléčné. V nepatrném množství mléko obsahuje i glukosu a galaktosu [10].

- Bílkoviny

V mléce se nachází směs dvou skupin bílkovin, a to kaseinu a bílkovin mléčného séra. Kasein je charakteristická bílkovina mléka, obsahuje fosfor a je citlivá vůči syřidlovému enzymu. V mléce se nachází ve velmi jemné disperzi. Kaseinové částice se nacházejí nejčastěji v kulovité podobě – micely. Kasein je složen z frakcí, které se mezi sebou liší různým obsahem aminokyselin a mají i různé vlastnosti. Vyskytují se frakce α , β , γ , δ , κ , λ – kasein. Kaseiny α , β , γ se mezi sebou liší obsahem fosforu, isoelektrickým bodem, otáčivostí polarizovaného světla, chováním vůči syřidlovému enzymu a jiné. To má význam z hlediska technologického, např. při srážení mléka při výrobě sýrů [19]. V bílkovinách mléčného séra se nachází laktalbumin, laktoglobulin [21]. Laktalbumin i laktoglobulin při kyselém i sladkém srážení mléka přechází do syrovátky. Od kaseinu se liší tím, že ve své molekule nemají prostetické skupiny, že neobsahují fosfor a jsou rozpustné ve vodě [19].

- Tuky

Mléčný tuk se v mléce nachází ve formě tukových kuliček. Jejich velikost je 0,1 – 22 μm průměrná velikost je 3 μm [19]. Hlavní podíl lipidů v tukových kuličkách tvoří triglyceridy (98 – 99%), malé množství lipidů je přítomno ve formě fosfolipidů a sterolů v membráně tukových kuliček. Mléčný tuk je velmi dobře využitelný a z hlediska výživy je jedním z nejvýhodnějších tuků vůbec. Mezi nenasycenými mastnými kyselinami mléčného tuku jsou i esenciální, jako např. kyselina linolová, linolenová, které organismus nedokáže syntetizovat [10].

- Minerální látky

Kravné mléko je bohaté na množství vápníku. V mléce obsažený vápník je mimořádně dobře vstřebatelný stěvnou stěnou, což má velký význam pro výživu. Vápník je také důležitým činitelem při srážení mléka při výrobě sýrů. Významný je také obsah fosforu, sodíku, draslíku a hořčíku. Minerální látky mají důležitou úlohu nejen jako stavební materiál (Ca, Mg, P), nýbrž i jako činitelé regulační, upravující rovnováhu mezi kyselinami a zásadami, tj. regulují pH mléka (K, Na, Ca) [19].

- Vitaminy

Vitaminy jsou organické faktory dodávané z vnějšího prostředí a nezbytné pro udržení života organismu, jeho růst a správný vývoj. Jsou účinné v malých dávkách a nemohou se tedy uplatňovat v metabolismu jako zdroj energie. Jsou však důležitými katalyzátory různých metabolických dějů [19]. Počet i obsah vitaminů je v mléce významný. Původní obsah vitaminů v mléce po nadojení se vlivem ošetření a technologického zpracování může snížit a to až o 50 %. Z vitaminů rozpustných ve vodě se v mléce vyskytuje vitamin B1, B2, B6, B12, biotin, cholin a vitamin C, ten ale pouze v malém množství. Mezi vitaminy rozpustné v tuku obsažené v mléce patří vitamin A i jeho prekurzor karoten a vitaminy D, K a E [10].

1.4.1.2 Smetanový zákys

Smetanová kultura (smetanový zákys) je nejdůležitější kulturou v mlékárenské technologii. Používá se při výrobě sýrů, másla i zakysaných mléčných výrobků [22]. Pod pojmem smetanová kultura rozumíme směsnou kulturu laktokoků mléčného kvašení (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) v kombinaci s leuconostoky (*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*) [11].

Provozní smetanový zákys se připravuje ve vyčištěných a párou vysterilovaných nerezových zákysnicích. Mléko se tepelně ošetřuje zahřevem nad 90 °C a za stálého míchání se při této teplotě ponechá 30 min. Po vychlazení na zakysávací teplotu, se mléko očkuje předepsanou dávkou dokonale rozmíchaného matečného zákysu. Po zaočkování se mléko důkladně rozmíchá a zrání probíhá bez pohybu. Zralý zákys se chladí za současného míchání. Jakost matečného i provozního zákysu se denně kontroluje senzorickým posouzením, stanovením kyselosti a zkráceným fenolovým testem [22].

1.4.1.3 Syřidlo

Syřidlo pro výrobu sýrů eidamského typu je výtazek ze sušených žaludků sajících telat, která ještě nepřijímala žádnou jinou potravu, než mléko. Syřidlo obsahuje především syřidlový enzym chymosin a jen v malé míře pepsin. Síla syřidla vyjadřuje srážecí mohutnost mléka, tj. počet mililitrů mléka o teplotě 35°C, které srazí 1 ml, nebo 1g syřidla za 40 min [20].

1.4.1.4 Chlorid vápenatý $CaCl_2$

Přídavek chloridu vápenatého zlepšuje syřitelnost pasterovaného mléka, zabraňuje vadám sýrů vyplívajících ze špatné syřitelnosti mléka, které způsobuje vadnou strukturu a konzistenci zrna i sýrového těsta. Zvyšuje výtěžnost při výrobě sýrů tím, že se získá pevnější sýřenina a zabrání tvorbě sýrového prachu [20].

1.4.1.5 Sůl kuchyňská $NaCl$

Solení sýrů je velmi důležitou součástí technologického postupu výroby sýrů. Jeho účelem je [20]:

- zlepšit chuť sýra, upevnit jeho povrch vytvořením kůry a zlepšit konzistenci sýrového těsta;
- regulovat odtok syrovátky a tím obsah sušiny v sýru;
- usměrnit průběh kysání zpomalením až zastavením rozmnožování a činnosti bakterií mléčného kvašení, jakož i zastavit vývoj nežádoucích mikroorganismů v sýrech během zrání;
- regulovat průběh zrání a ztráty během zrání.

1.4.1.6 Dusičnan draselný KNO_3

Přídavek dusičnanu draselného zabraňuje předčasnému duření sýrů, způsobenému koliformními bakteriemi, popřípadě může zpomalit máselné kvašení. Používané dávky jsou 5 až 20 g na 100l mléka. Vyšší dávky vyvolávají hořknutí sýrů a barevné změny [20].

1.4.2 Výroba sýrů eidamského typu

1.4.2.1 Výběr mléka

Vhodnost mléka pro výrobu sýrů, je dána dvěma základními vlastnostmi [23]:

- kvasnost – schopnost mléka vytvořit vhodné podmínky pro rozvoj mikroorganismů, zejména bakterií mléčného kvašení;
- syřitelnost – schopnost mléka srážet se syřidlem a tvořit sýřeninu vhodné pevnosti.

1.4.2.2 Úprava mléka před syřením

Úprava mléka před syřením spočívá v pasteraci mléka, v úpravě složení mléka, ve standardizaci kyselosti a syřitelnosti mléka, v přidavku bakteriálních kultur a v úpravě teploty pro syření. Těmito zásahy dochází ke změně chemického a mikrobiologického složení mléka, tj. tučnosti, sušiny, obsahu bílkovin, laktosy, pH, obsahu vápenatých solí, kvality mikroflóry a počtu bakterií [18].

Pasterace

Z důvodů zdravotních i pro zneškodnění technologicky nežádoucí mikroflóry je třeba mléko pro výrobu sýrů pasterovat [23]. Musíme však pamatovat, že pasterací ničíme škodlivou, ale i žádoucí mikroflóru. Proto tyto užitečné mikroorganismy musíme přidat ve formě kultur. [23] Pro výrobu sýrů eidamského typu je nejvhodnější šetrná pasterace, tj. krátkodobá pasterace při teplotách 72 až 75°C [20], při které neprobíhají tak výrazné změny jako při teplotách nad 80°C [21].

Úprava tučnosti

Každý druh sýru má předepsaný obsah sušiny a tuku v sušině. Z tohoto důvodu je nutné upravit tučnost mléka před syřením na požadovanou hodnotu [18].

Přídavek rozpustných vápenatých solí

Pasterací mléka přechází část rozpustných vápenatých solí na nerozpustné, čímž se zhoršuje syřitelnost mléka. Zhoršené vlastnosti pasterovaného mléka se upravují přidávkou rozpustných vápenatých solí do mléka před syřením. Nejčastěji se používá chlorid vápenatý, případně mléčnan vápenatý. Běžná dávka je asi 8g bezvodého chloridu vápenatého na 100 litrů mléka. Vyšší dávky mohou způsobit hořknutí sýrů [21].

Přídavek čistých mlékařských kultur

Přídavek čistých mlékařských kultur do mléka pro výrobu sýrů je jedním z nejdůležitějších činitelů, podmiňujících dobrou jakost finálních výrobků [21]. Protože se používá pasterované mléko, musí se mléko bezpodmínečně očkovat [23]. Zrání mléka je prováděno přidávkou čisté mlékařské kultury základního smetanového zákysu v množství 0,5 – 1,0%,

který se přidává do mléka 30 až 45 min před sýřením. Po uplynutí této doby dosahuje mléko sýřicí kyselosti, která se pohybuje mezi 7,2 až 7,8 SH [22].

Úprava teploty mléka před sýřením

Při výrobě sýrů je nutno volit takovou teplotu při sýření, aby byl zajištěn správný průběh syřidlového srážení, synereze, struktury sýřeniny a konzistence sýrů. Vysoká sýřicí teplota způsobuje, že sýřenina se stává pevnou a zrna tvoří na povrchu blánu, která zabraňuje vylučování syrovátky. Při nízké sýřicí teplotě se tvoří jemné zrno, které vyžaduje dlouhé zpracování a může dojít k překysání syrové hmoty [18]. Sýřicí teplota pro sýry eidamského typu se pohybuje mezi 28 až 34 °C [21].

1.4.2.3 Sýření mléka

Ke srážení mléka dochází působením kyseliny mléčné při pH mléka 4,2 – 4,6 odpovídajícímu izoelektrickému bodu kaseinu, nebo působením syřidlového enzymu, vhodným spolupůsobením čistých mlékařských kultur produkujících kyselinu mléčnou (pH 6,2 – 6,5) [10] Působením syřidla přechází mléko ze stavu sol do stavu gel. Tvorba gelu probíhá ve třech fázích [18].

Vlastní sýření mléka

Po provedení všech potřebných úprav se do mléka přidává taková dávka syřidla, která zajistí srážení mléka a vytvoření vhodné sýřeniny. Syřidlo se přidává zředěné a důkladně se s mlékem promíchává 3 až 5 min, aby srážení bylo rovnoměrné. Po promíchání se musí zastavit pohyb mléka, aby srážení probíhalo v klidu, protože při pohybu dochází k potrhání sýřeniny a k větším ztrátám bílkovin a tuku do syrovátky [21]. Doba srážení je asi 30 min, přitom vyvločkování má nastat nejpozději během 15 minut [22].

1.4.2.4 Zpracování sýřeniny

Při sýření mléka syřidlem obsahujícím enzym chymosin získáme pevnou, porcelánovitou sraženinu, kterou nazýváme sýřeninou. Sýřenina slouží jako výchozí bod pro výrobu sýrů. Sraženina, kterou získáme po koagulaci mléka, zadrží po určité době všechnu vodu v mléce obsaženou. Struktura sýřeniny vypadá v tomto okamžiku tak, že vlákna částec kaseinu vytvářejí síť a uvnitř této sítě je mezi vlákny tekutá fáze – syrovátka. Tato vláknitá

struktura však není trvalá. Jakmile se vláknitá struktura změní natolik, že se sýřenina může krájet, začíná působit synereze. Působením synereze nastává dehydratace. Proti původní struktuře mléka se úplně změní orientace molekul vody na hydrofilní skupiny bílkovin tak, že se tyto bílkoviny shlukují a snižuje se stupeň hydratace [21].

Zpracování sýřeniny při výrobě sýrů eidamského typu se skládá z těchto technologických operací [20]:

- krájení a drobení sýřeniny;
- míchání syrového zrna;
- dohřívání;
- dosoušení;
- formování;
- lisování;
- solení.

Krájení a drobení sýřeniny

Sýřenina se rozřeže v celém objemu tzv. sýrařskými harfami na hranoly. Jakmile se mezi řezy objeví téměř čistá syrovátka, sýřenina se začne přetahovat. Velké kusy sýřeniny se harfami drobí na stále menší částičky, až se dosáhne zrna velikosti obilky. S klesající velikostí zrna se zvětšuje celkový povrch a zvětšuje se i vliv teplé syrovátky na stažitelnost, jejíž intenzita stoupá a zrno se stává tužším [23].

Míchání syrového zrna

Mícháním syrového zrna se vylučuje syrovátka ze zrna, aniž by v podstatě došlo ke změně povrchové struktury. Míchání se provádí 10 až 30 min. Doba míchání je jedním z hlavních činitelů ovlivňujících sušinu finálního výrobku [18].

Dohřívání

U sýrů eidamského typu se dohřívá přidavkem teplé vody, který nahradí syrovátku, již se předtím asi 35% vypouští. Tím se zrno nejen zahřeje, ale také se zředí obsah laktosy v syrovátce i v zrnu. Tak snížíme rozsah mléčného kvašení [23]. Zvýšením teploty se urychluje odchod syrovátky, tím se zvyšuje měrná hmotnost zrn a ty se stávají těžší a lepivější, důležité je proto intenzivně promíchávat [21]. Výše konečné teploty by měla být 35 až 38 °C [23]. Této teploty bychom měli dosáhnout během 5 až 15 min [18].

Dosoušení

Hlavním cílem dosoušení je dosažení správné vnitřní a zejména vnější struktury sýrového zrna. S délkou doby dosoušení dochází jen k malému zvyšování sušiny, pronikavě však ovlivňuje strukturu sýrové hmoty, slepování zrna a konzistenci sýrů. Dosoušení se provádí po dobu 15 až 60 min [18].

Formování

Jakmile je zrno ve výrobníku dobře dosušeno, vypouští se do tvořitek k formování. V tvořítkách sýry odkapávají, následně také lisují [21]. Důležitou zásadou je, že sýrové zrno nesmí být do kompaktního spojení sýřeniny provzdušněno, tzn., že se musí uchovávat i napouštět stále pod syrovátkou [18].

Lisování

Základními úkoly lisování je vytlačení syrovátky z kapilár mezi zrny a vytlačení malého zbytku vody z kapilár v zrně do mezizrnového prostoru odtud pak ze sýra [21]. Lisováním dostávají sýry pevnou pokožku. Lisuje se zpočátku malým tlakem, aby se nevytvořila tlustá kůra, která brání odtoku syrovátky, poté se tlak pozvolna zvyšuje. Celková doba lisování se pohybuje v rozmezí 3 až 4 hodin [23]. Během lisování nesmí teplota sýrů eidamského typu poklesnout pod 20 °C [18].

Solení sýrů

Solením sýrů se zlepšuje chuť, zpevňuje se pokožka, takže sýr lépe drží tvar, zlepšuje se konzistence, reguluje se obsah vody a usměrňuje mikroflóra, průběh mléčného kvašení a zrání [21].

Způsoby solení

- solení v těstě – sýřenina se solí ve výrobníku, nebo při formování;
- solení na sucho – odkapané sýry se posypávají suchou solí, která se vtírá do sýra;
- solení v lázni – sýry se vkládají do nádrží s koncentrovaným solným roztokem, kde se ponechají předepsanou dobu [23].

U sýrů eidamského typu se převážně využívá solení v lázni. Při solení se mezi sýrem a solným roztokem vyměňují látky, jednak difúzí prostřednictvím jemných kanálků v pokožce sýra a mezi zrny, jednak osmózou prostřednictvím blanek na zrnech sýřeniny. Ze solného roztoku přestupuje do sýrů chlorid sodný a ze sýrů odchází syrovátka obsahující zbytky laktosy, kyselinu mléčnou, kyselinu fosforečnou, soli, rozpustné bílkoviny a další látky [21]. Sýry eidamského typu se solí 32 až 36 hodin v solné lázni o koncentraci 18 % NaCl, kyselosti 5,2 pH, upravené kyselinou mléčnou a fosforečnou, o teplotě 12 až 15 °C. Na 1kg sýra je potřeba alespoň 5 l solného roztoku [23].

1.4.2.5 Zrání sýrů

U většiny druhů sýrů probíhá zrání, tj. enzymatický proces, při kterém sýr získává typický vzhled, konzistenci, strukturu, chuť, vůni a složení. Tyto změny jsou způsobeny činností enzymů mléka a jeho mikroflóry, přidaných čistých kultur a syřidlových enzymů. Změny postihují prakticky všechny složky sýra. Nejvýraznější jsou u laktosy a bílkovin, také obsah a složení solí se mění [21] (Tab. 2.).

Tab. 2. Klimatické podmínky při zrání sýrů eidamského typu [18]

Způsob zrání a ošetřování	Druh sklepa	Doba zrání	Teplota	Relativní vlhkost
ve fólii z cryovaců	chladný sklep	3 - 4 dny	8 - 10°C	75,0 ± 5,0%
	kvasný sklep	10 - 20 dnů	12 - 14°C	40,0 - 95,0%
	zrací sklep	1 - 3 měsíce	7 - 9°C	40,0 - 95,0%
pod nátěry plastických hmot	chladný sklep	3 - 4 dny	8 - 10°C	75,0 ± 5,0%
	kvasný sklep	10 - 20 dnů	14 - 16°C	85,0 ± 2,5%
	zrací sklep	1 - 3 měsíce	8 - 10°C	85,0 ± 2,5%
pod mazem (solný roztok a olej)	chladný sklep	6 - 7 dnů	8 - 10°C	85,0 ± 5,0%
	kvasný sklep	10 - 20 dnů	14 - 16°C	87,5 ± 2,5%
	zrací sklep	1 - 3 měsíce	8 - 10°C	87,5 ± 2,5%
pro všechny způsoby zrání	skladovací sklep	až 6 měsíců	3 - 5°C	75,0 ± 5,0%

Z hlediska účasti mikroflóry rozeznáváme dva typy zrání:

- primární (anaerobní), probíhající vlivem enzymů bakterií mléčného kvašení. Tato proteolýza probíhá pozvolna a v podstatě nejde dále než k aminokyselinám.
- sekundární (aerobní) zrání, jehož se účastní aerobní mikroflóra z povrchu sýra [23].

Z hlediska průběhu proteolýzy a uplatnění mikroflóry rozeznáváme opět dva způsoby zrání:

- sýry zrají v celé hmotě, u sýrů polotvrdých však do jisté míry spolupůsobí i enzymy mikroflóry z povrchu. Uplatňuje se téměř výhradně primární zrání.
- sýry zrají od povrchu dovnitř, tady se uplatňuje převážně sekundární zrání. Platí především pro měkké sýry [23].

Dle časového průběhu můžeme zrání rozdělit na:

- předběžné – probíhá během úpravy mléka, sýření, formování, lisování a solení

- hlavní – probíhá ve zracích sklepech

Při předběžném zrání dochází k mléčnému kvašení, mění se však i bílkoviny. Průběh mléčného kvašení zajišťují hlavně enzymy bakterií mléčného kvašení použitých čistých kultur. Průběh mléčného kvašení bývá ukončen zpravidla do 24 hodin po výrobě. Zůstane-li v sýrech větší množství cukru, zrání neprobíhá správně. Změny bílkovin začínají přidavkem syřidla. Srážení probíhá ve třech fázích. V terciární fázi dochází k pomalé hydrolyze všech frakcí parakaseinu proteolytickým účinkem syřidla, které pokračuje v průběhu dalšího, hlavního zrání. Syřidlo štěpí kasein do úrovně polypeptidů s vysokou molekulovou hmotností [21].

V průběhu hlavního zrání mají největší význam pro vznik charakteristických vlastností změny bílkovin, zejména parakaseinanu vápenatého a zároveň i volného parakaseinu a kaseinu. Polotvrdé sýry podléhají hlavně proteolytickým enzymům bakterií mléčného kvašení. Při jejich působení nevzniká zpravidla mnoho rozpustných bílkovin. Ve štěpných produktech převládají aminokyseliny, méně je albumóz a peptonů, amoniak vzniká jen v nepatrném množství [23]. Rozkladem bílkovin vznikají též těkavé mastné kyseliny, které spolupůsobí při vzniku chuťových složek sýra [21].

Různé poměry při rozkladu bílkovin sýrů vyjádřil Bondzynski pojmy rozsah a hloubka zrání. Rozsahem zrání nazývá procentuální podíl ve vodě rozpustného dusíku v celkovém množství dusíku, kdežto hloubka zrání je vyjádřena procentuálním množstvím dusíku aminokyselin a amoniaku v celkovém dusíku sýra. U sýrů eidamského typu je hloubka zrání poměrně značná, neboť mezi konečnými rozkladnými produkty je výrazné množství aminokyselin a malé množství amoniaku. Naopak rozsah zrání je poměrně malý [23].

1.5 Senzorická analýza polotvrdých sýrů

Senzorické posuzování potravin je způsob hodnocení, při němž je využito lidských smyslů jako přímých subjektivních orgánů vnímání, a to za takových podmínek, aby se při hodnocení dosáhlo objektivních, tj. spolehlivých a přesných (opakovatelných i srovnatelných) výsledků [24].

Při sensorickém posuzování se využívá všech lidských smyslů, nejčastěji chuťového a čichového, ale i zrakového, sluchového, hmatových smyslů, smyslů pro chlad, teplo a

bolest. Posuzování vkládáním do úst se nazývá degustace a komplexní vjem s ním spojený se označuje jako „flavour“ [24].

Senzorickou analýzou se nestanoví přímo intenzita podnětu, tedy koncentrace sensoricky aktivní látky. Tyto látky působí na smyslové receptory, jejich podráždění se přenáší nervovými drahami do centrální nervové soustavy, kde je zpracováno na počítky, z nichž se skládá vjem, na jehož základě hodnotitel vyslovuje svůj posudek [24].

1.5.1 Senzorické posuzování

1.5.1.1 *Etapy statistické práce*

- získávání dat – zahrnuje metody sběru dat na základě experimentálního záměru. Představuje základní přístupy k výběru měřených objektů, a tím i k návrhu plánovaných experimentů.
- analýza dat – zahrnuje organizaci dat a popis dat s užitím tabulek, grafů, numerických výstupů a dalších matematických prostředků. V dnešní době jsou obvyklou pomůckou k analýze dat počítačové technologie.
- statistické usuzování – usiluje o závěry v širším kontextu s celým plánem experimentu a provedeným měřením. Neprovádí však jenom závěry, ale poskytuje k nim i zhodnocení, jak jsou tyto závěry spolehlivé. K tomu používá pravděpodobnostní aparát, tzv. statistické testování hypotéz [25].

1.5.1.2 *Posuzovatelé*

Schopnost k sensorickému posuzování bývá nejvyšší mezi 18 až 40 lety, ale ještě nejméně do 60 let lze většinou kompenzovat postupně klesající citlivost. Posuzovatel by neměl být nachlazen, či jinak nemocen, unaven, nemá být pod vlivem léků. Také by posuzovatel neměl alespoň hodinu před degustací kouřit, jíst silně kořeněné pokrmy a pít alkoholické nápoje [26].

Senzorická analýza může být prováděna těmito typy posuzovatelů [26]:

- laický posuzovatel – osoba, která nemusí splňovat přesná kritéria výběru, nebo výcviku;
- zasvěcený posuzovatel – osoba, která se již účastnila sensorické zkoušky;

- vybraný posuzovatel – posuzovatel vybraný pro svoji schopnost provádět senzorickou zkoušku;
- expert – ve všeobecném smyslu je to osoba, která na základě znalostí, nebo zkušeností je oprávněna uvádět názory v oblasti, v nichž je konzultována.

V senzorické analýze existují dva typy expertů:

- expert posuzovatel – vybraný posuzovatel s vysokým stupněm senzorické citlivosti a zkušeností se senzorickou metodologií, schopný provádět konzistentní a opakovatelná senzorická posouzení různých výrobků;
- specializovaný expert posuzovatel – expert posuzovatel, který má navíc zkušenosti jako specialista na výrobek, výrobu, či marketing a který je schopen vykonávat senzorickou analýzu výrobku a vyhodnocovat, nebo předvídat vlivy obměn, týkajících se surovin, receptur, výroby, skladování, stárnutí, apod.

1.5.1.3 Zásady senzorického posuzování

Podávání vzorků k senzorické analýze

Vzorky je nutno podávat v dostatečném množství, aby měl posuzovatel možnost degustaci dle potřeby opakovat. Obvykle je dostačující množství 15 až 20 ml tekutého vzorku a 20 až 30 g tuhého vzorku. Při podávání sady vzorků je nutno dodržet zásadu stejného množství vzorku. Důležitá je správná teplota vzorku. Obvyklou zásadou je, aby teplota odpovídala teplotě, kterou má mít výrobek při konzumaci spotřebitelem. Doporučuje se temperovat výrobky ve spotřebitelském obalu, ne až při vlastním hodnocení v hodnotitelském nádobí, protože by mohlo dojít ke ztrátě některých aromatických látek [26].

Nádoby, v nichž se vzorky podávají, mají být z materiálu, který je senzoricky neutrální. Nejlepším materiálem je porcelán, sklo, nebo nádoby z nerezavějící oceli. Nádoby musí být neutrální také z hlediska vzhledu a barvy, nemá být opatřeno etiketami, či barevným potiskem, nejvhodnější barvou je bílá [26].

Doba a délka posuzování

Výsledky senzorického hodnocení závisí do určité míry na denní době. Jako nejvhodnější se doporučuje doba od 9 do 11 hodiny dopoledne a 14 až 16 hodiny odpoledne. Posuzování by nemělo trvat déle než 2 – 3 hodiny. Počet podávaných vzorků se řídí složitostí úkolu.

Jestliže jde o degustaci, nedoporučuje se podávat více než 4 – 6 vzorků najednou, při stanovení sensorických profilů pouze 3 vzorky. Při posouzení vůně lze předkládat 10 – 15 vzorků, textury až 15 vzorků a u porovnání barvy je možné předložit až 20 vzorků [24].

1.5.2 Vyhodnocení sensorické analýzy

1.5.2.1 Rozlišovací metody

Úkolem rozlišovacích metod je stanovení, zda mezi hodnocenými výrobky A a B existuje rozdíl ve sledovaném znaku. Hodnocení provádí obvykle 10 až 30 vybraných posuzovatelů. V případě, že hodnocení provádí posuzovatelé s nižším stupněm zaškolení, nebo posuzovatelé nezaškolení, doporučuje, aby jejich počet byl vyšší. Vyžaduje se tzv. vynucená odpověď, což znamená, že posuzovatel musí vybrat jednu z nabídnutých možností, není možná odpověď „nevím“.

Mezi rozlišovací metody patří párová porovnávací zkouška, zkouška duo-trio a trojúhelníková zkouška.

Párová porovnávací zkouška

Párová porovnávací zkouška slouží k porovnání dvou výrobků a stanovení rozdílu mezi nimi v intenzitě sledovaného znaku, nebo v preferenci jednoho výrobku před druhým. pro účely statistického vyhodnocení musíme rozlišit, zda chceme zkoumat rozdílnost posuzovaných výrobků jako takovou, tedy zda jsou výrobky různé z hlediska intenzity sledovaného znaku, nebo zda chceme zkoumat směr této rozdílnosti, tj. který z nich je hodnocen jako intenzivnější, nebo jako preferovanější ve sledovaném znaku. Od této volby se bude dále odvíjet typ použité statistické metody a zejména praktická interpretace znaku [25].

Statistické vyhodnocení párové porovnávací zkoušky

- oboustranný test – využívá se k ověření, zda existuje rozdíl mezi dvěma výrobky v intenzitě sledovaného znaku;
- jednostranný test – využívají se k ověření, zda jeden z výrobků vykazuje větší intenzitu sledovaného znaku oproti druhému výrobku, nebo zda je před druhým výrobkem preferovaný [25].

Při zkoumání rozdílu v intenzitě sledovaného znaku, nebo preference jednoho výrobku před druhým se vychází z myšlenky, podle které neshledají-li posuzovatelé mezi vzorky rozdíl, zvolí s ohledem na podmínku nucené volby jeden z obou vzorků náhodně, tzn. že pravděpodobnost náhodného zvolení konkrétního vzorku je $\frac{1}{2}$. Můžeme vycházet z toho, že vzorek A označí n_A posuzovatelů a vzorek B označí n_B posuzovatelů. Pro celkový počet n posuzovatelů potom platí rovnost:

$$n_A + n_B = n$$

Protože platí $n_B = n - n_A$, můžeme pro výpočtovou část užívat jen počet odpovědí n_A ve prospěch vzorku A [25].

1.5.2.2 Pořadová zkouška

Pořadová zkouška slouží k rozřídění skupiny výrobků, k jejich seřazení podle intenzity sledovaného sensorického znaku, podle preferencí spotřebitele, nebo ke sledování vlivu určitého faktoru na organoleptické vlastnosti a sensorickou jakost výrobku. Takto lze společně posuzovat pouze výrobky stejného druhu, např. sýry od různých výrobců, víno z různých ročníků, nelze tak smysluplně srovnávat např. čaj s kávou [25].

Zkouška spočívá v tom, že posuzovatel obdrží v náhodném pořadí skupinu vzorků a jeho úkolem je seřadit vzorky podle daného ukazatele, např. preference, či intenzity nějakého sensorického znaku. Zpravidla se doporučuje, aby na jedno místo v pořadí byl přiřazen pouze jeden vzorek – tzv. nucená volba. Počet vzorků, kde se hodnotí chuť, by ani u zkušených posuzovatelů neměl přesáhnout šest. Při hodnocení vzorků se doporučuje nejméně 6 expertů, u školených osob více než 10, u nezaškolených, nebo krátce zaškolených posuzovatelů 20 až 30 osob [25].

Statistické vyhodnocení pořadové zkoušky

Pořadovou zkoušku můžeme vyhodnocovat různými statistickými metodami. Mezi nejznámější patří Friedmanův test. Používá se k ověření shody úrovně sledovaného znaku v souborech vytvořených na základě R závislých výběrů se stejnými rozsahy n jednotek. V oblasti sensorických experimentů spočívá v tom, že každý jeden z n posuzovatelů posuzuje rozdílnost R vzorků prostřednictvím stanoveného pořadí od 1 do R . To znamená,

že podle rozpoznané intenzity, nebo preference je seřadí a každému vzorku podle pořadí přisoudí jedno z čísel od 1 do R. Výběry, které reprezentují výrobky, jsou tak na sobě závislé prostřednictvím posuzovatelů, zatímco výrobky jako takové jsou nezávislé [25].

1.5.2.3 Hodnocení s použitím stupnic

V senzorické analýze se nejčastěji používají ordinální stupnice, v senzorické terminologii často označované jako: popisné kategorové ordinální stupnice. Můžeme je rozdělit na stupnice [25]:

- intenzitní – zkoumají intenzitu určitého senzorického znaku;
- hédonické (pocitové) – zkoumající příjemnost, přijatelnost, apod.

Samotné hodnocení s použitím stupnic vypadá tak, že se posuzovateli předá protokol, kde jsou uvedeny senzorické znaky, které bude u vzorků hodnotit. K tomu obdrží stupnice, podle kterých bude vzorek zařazovat a které také obsahují definici jednotlivých stupňů u jednotlivých senzorických znaků. Po obdržení vzorku jej posuzovatel posoudí a v souladu se stupnicí zapíše své hodnocení. Znaky, které se nejčastěji posuzují podle stupnic, jsou chuť a vůně, konzistence, vzhled a barva, celková jakost, apod. [25].

Tyto metody používají v praxi například dozorové orgány, uplatňují se i při přehlídkách potravinářských výrobků. Jsou rovněž používané při sestavování senzorického profilu [25].

Statistické vyhodnocení zkoušky s použitím stupnic

Vlastní statistická analýza hodnocení s použitím ordinálních stupnic odpovídá v zásadě třem typům metod:

- hodnocení jednoho senzorického znaku u jednoho výrobku;
- srovnání senzorického znaku u dvou a více výrobků;
- srovnání dvou a více senzorických znaků u dvou a více výrobků [25].

Kruskal-Wallisův test

Vhodnou metodou pro srovnání sensorického znaku u více než dvou výrobků je Kruskal-Wallisův test. Tento test slouží k ověření shody úrovně spojitého znaku v R nezávislých výběrech ($R \geq 3$). Předpokládáme, že máme ve sledované vlastnosti hodnotit R výrobků a počet posuzovatelů je, kteří posuzovali jednotlivé výrobky, je alespoň 5. Obecně se postupuje tak, že každému výrobku přiřadíme náhodný výběr reprezentovaný výsledky posuzovatelů a ze všech jednotek vytvoříme sdružený výběr, uspořádaný vzestupně podle velikosti. Jednotlivým hodnotám se přiřadí pořadová čísla. Pro každý výrobek pak vypočítáme součet pořadí jednotek příslušejících do r -tého výběru.

Pokud jsme provedli Kruskal-Wallisův test rozdílnosti úrovně zkoumaného sensorického znaku u skupiny R výrobků a zamítli jsme hypotézu o shodě úrovní, potom se budeme zajímat o to, které jednotlivé vzorky v R -tici posuzovaných vzorků se od sebe liší. K tomu můžeme použít Nemenyiho metodu vícenásobného párového porovnávání nezávislých výběrů. Metoda slouží k ověření rozdílnosti mezi dvěma vzorky zařazenými do Kruskal-Wallisova testu [25].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

2 MATERIÁL A METODIKA

Vzorky

- Eidamský blok s přídavkem kultury *Bifidobacterium bifidum* - BIF
- Eidamský blok s přídavkem kultury *Lactobacillus acidophilus* - AC
- Eidamský blok kontrola – KONT

2.1 Výroba eidamského bloku

2.1.1 Suroviny pro výrobu

Suroviny pro výrobu eidamského bloku – kontrola

Odstředěné mléko o tučnosti 0,5 %	30 l
Plnotučné mléko o tučnosti 3,4 %	20 l
Smetanový zákys	600 ml
CaCl ₂	15 ml
Syřidlo	4,4 ml

Suroviny pro výrobu eidamského bloku s přídavkem kultury *Bifidobacterium bifidum*

Odstředěné mléko o tučnosti 0,5 %	30 l
Plnotučné mléko o tučnosti 3,4 %	20 l
Smetanový zákys	600 ml
CaCl ₂	15 ml
Syřidlo	4,4 ml
Kultura <i>Bifidobacterium bifidum</i>	150 ml

Suroviny pro výrobu eidamského bloku s přídavkem kultury *Lactobacillus acidophilus*

Odstředěné mléko o tučnosti 0,5%	30 l
--	------

Plnotučné mléko o tučnosti 3,4%	20 l
Smetanový zákys	600 ml
CaCl ₂	15 ml
Syřidlo	4,4 ml
Kultura <i>Lactobacillus acidophilus</i>	150 ml

2.1.2 Metodika

Příprava provozní kultury *Bifidobacterium bifidum*

UHT polotučné mléko o tučnosti 1,5%	300 ml
Bujón s kulturou <i>Bifidobacterium bifidum</i>	6 ml

Mléko bylo za aseptických podmínek zaočkováno inokulem kultury a poté bylo vloženo do termostatu ke kultivaci, která probíhala při 37 °C po dobu 20 hodin.

Příprava provozní kultury *Lactobacillus acidophilus*

UHT polotučné mléko o tučnosti 1,5 %	300 ml
Bujón s kulturou <i>Lactobacillus acidophilus</i>	6 ml

Mléko bylo za aseptických podmínek zaočkováno inokulem kultury a poté bylo vloženo do termostatu ke kultivaci, která probíhala při 37 °C po dobu 20 hodin.

Metodika výroby eidamského bloku – kontrola

- úprava tučnosti mléka pro výrobu – 30 l odstředěného mléka a 20 l plnotučného mléka bylo smícháno ve výrobě. Mléko již bylo v mlékárně ošetřeno šetrnou pasterací.
- zahřátí mléka na 32 °C;
- přidavek CaCl₂ a smetanového zákysu do mléka, důkladné promíchání;
- zrání po dobu 35min;

- zasýření mléka syřidlem rozmíchaným v destilované vodě, důkladné promíchání, ustálení hladiny;
- srážení po dobu 35 min;
- prokrojení sýřeniny pomocí dlouhého nože;
- výdrž 5 min;
- krájení sýřeniny pomocí sýrařské harfy na krychle asi 3 x 3 cm;
- drobení – přetahování zrna pomocí nerezové destičky po dobu 10 min, rychlost přetahování se postupně zvyšovala;
- odpouštění asi 30 % syrovátky;
- vytužování – intenzivní míchání po dobu 5 min;
- přidavek prací vody asi 80 °C teplé, prováděl se za stálého intenzivního míchání, až teplota zrna dosáhla 40 °C;
- dosoušení – míchání sýrového zrna při teplotě 40 °C, intenzita míchání byla volena tak, aby nevznikaly slepence zrna a to po dobu 30min;
- vypouštění dostatečně vytuženého zrna do lisovací formy vyložené plachetkou;
- mechanické lisování závažím o hmotnosti 50 kg po dobu 18 hodin;
- rozkrájení bloku na 12 stejných dílů o přibližné hmotnosti 350 g;
- solení v solné lázni po dobu 1 hodiny;
- balení do bezbarvé smršťitelné fólie Cryovac;
- uložení do zracího sklepa;
- zrání při teplotě 10 °C po dobu 6 týdnů.

Metodika výroby eidamského bloku s přídavkem kultury *Bifidobacterium bifidum*

Postup výroby byl totožný s výrobou kontrolního vzorku, pouze se zároveň s přídavkem smetanového zákysu přidala i provozní kultura *Bifidobacterium bifidum*.

Metodika výroby eidamského bloku s přídavkem kultury *Lactobacillus acidophilus*

Postup výroby byl totožný s výrobou kontrolního vzorku, pouze se zároveň s přídavkem smetanového zákysu přidala i provozní kultura *Lactobacillus acidophilus*.

2.2 Mikrobiologický rozbor vzorků sýrů**2.2.1 Přístroje**

Předvážky KERN KB, termostat Memmert, termostat BT 12, biohazard box EUROFLOW, autokláv Systec 2540L, mikropipety Labopette, homogenizátor Stomacher 001, mikroskop L1100A, míchačka Vortex V1, anaerostat + vyvíječ oxidu uhličitého Anaerocult A.

2.2.2 Živná média**Fyziologický roztok**

Fyziologický roztok byl připraven rozpuštěním 8,5 g NaCl v 1 l destilované vody. Roztok byl promíchán a v uzavřené lahvi sterilizován v autoklávu při 125 °C po dobu 30 minut.

Bujón pro oživení lyofilizátu *Bifidobacterium bifidum*

Destilovaná voda.....	100 ml
MRSC.....	4,32 g
Na ₂ HCO ₃	0,2 g
Cystein	0,05 g

Všechny komponenty byly důkladně promíchány v láhvi a poté vysterilizovány v autoklávu při 125 °C po dobu 30 min.

Bujón pro oživení lyofilizátu *Lactobacillus acidophilus*

Destilovaná voda.....	100 ml
MRSC.....	4,32 g
Na ₂ HCO ₃	0,2 g

Všechny složky byly rozpuštěny v destilované vodě a poté vysterilizovány v autoklávu při 125 °C po dobu 30 min.

M17 agar - pro stanovení počtu mléčných bakterií

Destilovaná voda	300 ml
M17	11,76 g
Agar	4,5 g
10% roztok glukosy	30 ml
10% roztok laktosy	15 ml

V destilované vodě byl rozpuštěn agar a M17. Tento roztok a roztoky glukosy a laktosy byly vloženy do autoklávu, kde byly vysterilizovány při 125 °C po dobu 30 min. Roztoky glukosy a laktosy byly zchlazeny na 20 °C a po zchlazení byly asepticky (v boxu) napipetovány do horké půdy M17. Stále za horka byla půda nalita na sterilní Petriho misky, kde se nechala ztuhnout.

MRSC agar s cysteinem pro stanovení bifidobakterií

Destilovaná voda.....	100 ml
MRSC.....	4,32 g
Na ₂ HCO ₃	0,2 g
Cystein	0,05 g

Všechny komponenty byly důkladně promíchány v láhvi a poté vysterilizovány v autoklávu při 125 °C po dobu 30 min. Ještě za horka byla půda nalita na Petriho misky, kde se nechala ztuhnout.

MRSC agar pro stanovení laktobacilů

Destilovaná voda.....	200 ml
MRSC.....	8,64 g
Na ₂ HCO ₃	0,4 g

Všechny složky byly naváženy a poté rozpuštěny v destilované vodě. Po důkladném promíchání v láhvi, byla půda vysterilizována v autoklávu při 125 °C po dobu 30 min. Ještě za horka byla půda nalita na Petriho misky, kde se nechala ztuhnout.

2.2.3 Metodika

Stanovení počtu mléčných bakterií plotnovou metodou

Mléčné bakterie vyskytující se v polotvrdých sýrech patří do rodů *Lactococcus* a *Leuconostoc*, proto byla pro jejich stanovení použita půda M17. Na Petriho misky s půdou M17 bylo přeneseno 0,1 ml inokula (sýr homogenizovaný s fyziologickým roztokem), které bylo rozetřeno hokejkou. Po zaočkování byly misky vloženy do termostatu a kultivovány 3 dny při 25 °C.

Stanovení počtu bakterií *Bifidobacterium bifidum* plotnovou metodou

Pro stanovení byla použita půda MRSC s cysteinem. Na Petriho misky s půdou MRSC+cystein bylo přeneseno 0,1 ml inokula (sýr homogenizovaný s fyziologickým roztokem), které bylo rozetřeno hokejkou. Kultivace probíhala po dobu 3 dnů při 37 °C za anaerobních podmínek v anaerostatu. Stejným způsobem byla provedena i kontrola se vzorkem bez přidané probiotické kultury.

Stanovení počtu bakterií *Lactobacillus acidophilus* plotnovou metodou

Pro stanovení byla použita půda MRSC. Na Petriho misky s půdou MRSC bylo přeneseno 0,1 ml inokula (sýr homogenizovaný s fyziologickým roztokem), které bylo rozetřeno hokejkou. Kultivace probíhala po dobu 3 dnů při 37 °C za anaerobních podmínek v anaerostatu. Stejným způsobem byla provedena i kontrola se vzorkem bez přidané probiotické kultury.

Gramovo barvení

Diferenciační barvení, které v roce 1884 použil Christian Gram. Umožňuje rozlišení bakterií na grampozitivní G^+ a gramnegativní G^- . Gramovo barvení vychází z rozdílného složení buněčné stěny bakterií [28].

Připravený zafixovaný preparát byl převrstven krystalovou violetí na dobu 20 s, barvivo bylo slito a převrstveno Lugolovým roztokem na dobu 30 s. Barvivo bylo slito, preparát byl opláchnut etanolem 20 s, krátce opláchnut vodou a na 60 s dobarven safraninem. Preparát byl opláchnut vodou, osušen a pozorován mikroskopem pod olejovou imerzí [28].

2.3 Senzorická analýza vzorků sýrů

2.3.1 Vzorky

Vzorek eidamského bloku kontrola – KONT

Vzorek eidamského bloku s přidavkem kultury *Bifidobacterium bifidum* – BIF

Vzorek eidamského bloku s přidavkem kultury *Lactobacillus acidophilus* - AC

2.3.2 Metodika

Senzorická analýza vzorků sýrů byla provedena celkem pětkrát v průběhu 16 týdnů, tak aby bylo umožněno sledovat změny organoleptických vlastností v průběhu zrání a skladování těchto sýrů.

Vlastní senzorická analýza byla prováděna v senzorické laboratoři, vždy v době od 9 do 12 hodin dopoledne. Vzorky byly předkládány na bílých porcelánových talířích, s bílým pečivem na zneutralizování chuti a vodou. Spolu se vzorky byl předložen i formulář pro

zapisování výsledků a jakostní kategorová stupnice. Hodnocení se účastnilo vždy 24 vybraných posuzovatelů. Tito posuzovatelé hodnotili u vzorků sýrů vzhled a barvu, konzistenci, chuť a vůni. Dále bylo jejich úkolem vzorky seřadit dle vlastních preferencí a na závěr ohodnotit který z dvojic vzorků při párovém testu byl kyselejší.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí programu STATVYD verze 2.0 beta.

2.4 Základní chemická analýza vzorků sýrů

2.4.1 Přístroje

Předvážky KERN KB, pH metr OP-208 + skleněná elektroda, analytické váhy KERN 700, elektrická sušárna Memmert.

2.4.2 Metodika

Stanovení aktivní kyselosti

Aktivní kyselost je vyjádřena hodnotou pH, které je definováno jako záporný dekadický logaritmus H^+ iontů.

Nejprve byla provedena úprava vzorku nastroháním, poté bylo naváženo 10 g s přesností 0,01 g. Navážené množství vzorku bylo rozetřeno v třecí misce s destilovanou vodou. Do takto připraveného vzorku byla ponořena elektroda pH metru a na displeji odečtena hodnota pH.

Stanovení vlhkosti sušením

Vhodně upravený vzorek, tj. nastrohaný, se suší při teplotě 105 °C a po vysušení do konstantní hmotnosti se váží. Metoda je obecně použitelná pro materiály neobsahující vysoké množství cukrů. Ke stanovení se používá vysušená a zvážená hliníková vysoušečka nebo porcelánový kelímek. Navažuje se 5 až 10 g zhomogenizovaného vzorku s přesností na čtyři desetinná místa, který se promíchá se zváženým množstvím vysušeného písku. Suší se v elektrické sušárně, prvních 30 min při 55 °C a poté 2 až 3 hodiny při 105 °C do konstantní hmotnosti. Potom se miska uzavře a po vychladnutí v exsikátoru zváží. Vzorek sušíme tak dlouho, dokud rozdíl mezi posledními váženými není nižší než 1 mg [29].

2.5 Stanovení biogenních aminů a volných aminokyselin ve vzorcích sýrů

2.5.1 Materiál

Lyofilizace

Přístroje

Analytické váhy A&D GH-200 EC; Hlubokomrazicí box MDF-U3286S, SANYO, prodejce Schoeller instruments, ČR, Praha; Lyofilizátor ALPHA 1-4 LSC, CHRIST, prodejce LABICOM s.r.o., ČR, Olomouc

Stanovení biogenních aminů

Chemikálie

Příprava pufrů

Kyselina citronová, LACHNER; Citronan sodný, LACHNER; Chlorid sodný, Ing. Petr Lukeš; Bromid draselný, Ing. Petr Lukeš; Hydroxid sodný, PENTA; Isopropanol, Ing. Petr Lukeš

Příprava ninhydrinu

Ninhydrin, ZMBD Chemik s.r.o.; Methylcellosolv, ZMBD Chemik s.r.o; Hydrintantin, ZMBD Chemik s.r.o; Acetátový pufr, ZMBD Chemik s.r.o

Přístroje

Analytické váhy A&D GH-200 EC; Laboratorní třepačka LT2; Odstředivka EBA 21, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen; Odstředivka MIKRO 200R, MIKRO 200 R, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen; Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400, Ingot, Praha

Stanovení volných aminokyselin

Chemikálie

Příprava pufrů

Kyselina citronová, LACHNER; Citronan litný, ZMBD Chemik s.r.o; Chlorid litný, ZMBD Chemik s.r.o; Hydroxid litný, ZMBD Chemik s.r.o

Příprava ninhydrinu

Ninhydrin, ZMBD Chemik s.r.o; Methylcellosolv, ZMBD Chemik s.r.o; Hydrintantin, ZMBD Chemik s.r.o; Acetátový pufr, ZMBD Chemik s.r.o

Přístroje

Analytické váhy A&D GH-200 EC; Laboratorní třepačka LT2; Odstředivka EBA 21, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen; Odstředivka MIKRO 200R, MIKRO 200 R, Hettich ZENTRIFUGEN, Germany, Tuttlingen; Automatický analyzátor aminokyselin AAA 400, Ingot, Praha

2.5.2 Metodika

Lyofilizace vzorků

- navážka vzorku;
- umístění vzorků do mrazicího boxu o teplotě - 80 °C na dobu minimálně 4 hod;
- následuje lyofilizace po dobu 2 dnů.

Stanovení biogenních aminů

- do centrifugační zkumavky o objemu 15 ml navážit vzorek a přidat 5 ml sodno-citrátového pufru pH=2,2;
- nechat třepat po dobu 45 min;
- odstředit při 6000 otáčkách po dobu 15 min;
- odpipetovat do ependorfek (2 ks od každého vzorku);
- nechat odstředit při 15000 otáčkách po dobu 45 min;
- filtrace přes 0,45 μ m filtr do ependorfky;
- připravený vzorek vložit do automatického analyzátoru aminokyselin AAA 400, kde proběhne vlastní analýza.

Složení pufrů:Pufr pH 2,2

kyselina citronová, chlorid sodný, thiodiglykol

Pufr I na stanovení

kyselina citronová, citronan sodný, chlorid sodný, bromid draselný, isopropanol

Pufr II na stanovení

kyselina citronová, chlorid draselný, hydroxid draselný

Ninhydrin

- do láhve nasypeme obsah lahvičky s ninhydrinem (dále jen NHD, 40 g);
- zalijeme cca 1,3 l methylcellosolvu (dále jen MCV, zbylý použijeme později na rozpuštění hydrindantinu), volně nasadíme zátku, nastavíme průtok dusíku;
- po rozpuštění NHD přidáme 0,5 l Na-acetátového pufru (4 M, pH 5,5) a probubláváme mírným proudem dusíku cca 5 min;
- v cca 250 ml kádince rozpustíme 2,0 g hydrindantinu (dále jen HD) ve zbytku MCV36, bez prodlení přidáme k činidlu a necháme probublávat dusíkem;
- láhev s činidlem dosud napojenou na dusík vložíme do analyzátoru;
- vývod zátky připojíme přes gumovou hadičku na dusíkový zásobník a necháme jej naplnit.

Stanovení volných aminokyselin

- do centrifugační zkumavky o objemu 15 ml navážit vzorek a přidat 5 ml lithno-citrátového pufru;
- nechat třepat po dobu 45 min;
- odstředit při 6000otáčkách po dobu 15min;
- odpipetovat do ependorfek (2 ks od každého vzorku);
- nechat odstředit při 15000 otáčkách po dobu 45 min;

- filtrace přes 0,45 μ m filtr do ependorfky;
- připravený vzorek vložit do automatického analyzátoru aminokyselin AAA 400, kde proběhne vlastní analýza.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

3.1 Výroba eidamského bloku

3.1.1 Výsledky

V poloprovozu střední průmyslové školy mlékárenské v Kroměříži byly vyrobeny tři vzorky eidamského bloku. Z provozních důvodů byl každý den vyroben jeden vzorek sýru. První den byl vyroben klasický eidamský blok o tučnosti 30 %, který sloužil jako kontrola, druhý den proběhla výroba eidamského bloku s přidavkem kultury *Bifidobacterium bifidum* a třetí den byl vyroben eidamský blok s přidavkem kultury *Lactobacillus acidophilus*. Po vylisování sýrů byl každý blok rozkrájen na dvanáct stejných dílů, které byly nasoleny a poté jednotlivě zabaleny, tím byly dosaženy stejné podmínky a zamezilo se případné kontaminaci každého vzorku po celou dobu zrání i skladování. Mléko pro výrobu bylo předem šetrně pasterované a dodala jej mlékárna Kromilk v Kroměříži. V této mlékárně také proběhlo solení sýrů v solné lázni a následně i zrání sýrů ve zracích sklepech a to po dobu šesti týdnů. Ze zracího sklepa byly každý týden odebrány vzorky, které sloužily k analýze. Po uplynutí šesti týdnů byly vzorky přemístěny ze zracího sklepa do chladničky, kde probíhalo skladování po dobu dvanácti týdnů.

Vzorky:

- KONT – eidamský blok sloužící jako kontrola
- BIF – eidamský blok s přidavkem kultury *Bifidobacterium bifidum*
- AC – eidamský blok s přidavkem kultury *Lactobacillus acidophilus*

3.2 Mikrobiologický rozbor vzorků sýrů

3.2.1 Výsledky

Mikroskopické vyšetření kultur

Po kultivaci vzorků na půdách M17, MRSC a MRSC+cystein, bylo provedeno mikroskopické vyšetření dle Grama. Toto vyšetření bylo provedeno 1. týden zrání a po 12. týdnech skladování, tj. 18. týden od výroby a to se stejným výsledkem.

Vzorek BIF

- půda M17 – drobné G⁺ koky
- půdě MRSC+cystein - drobné G⁺ koky a středně velké zakřivené G⁺ tyčinky

Vzorek AC

- půda M17 – drobné G⁺ koky
- půdě MRSC - drobné G⁺ koky a větší pravidelné G⁺ tyčinky

Vzorek KONT

- půda M17 – drobné G⁺ koky
- půda MRSC - drobné G⁺ koky

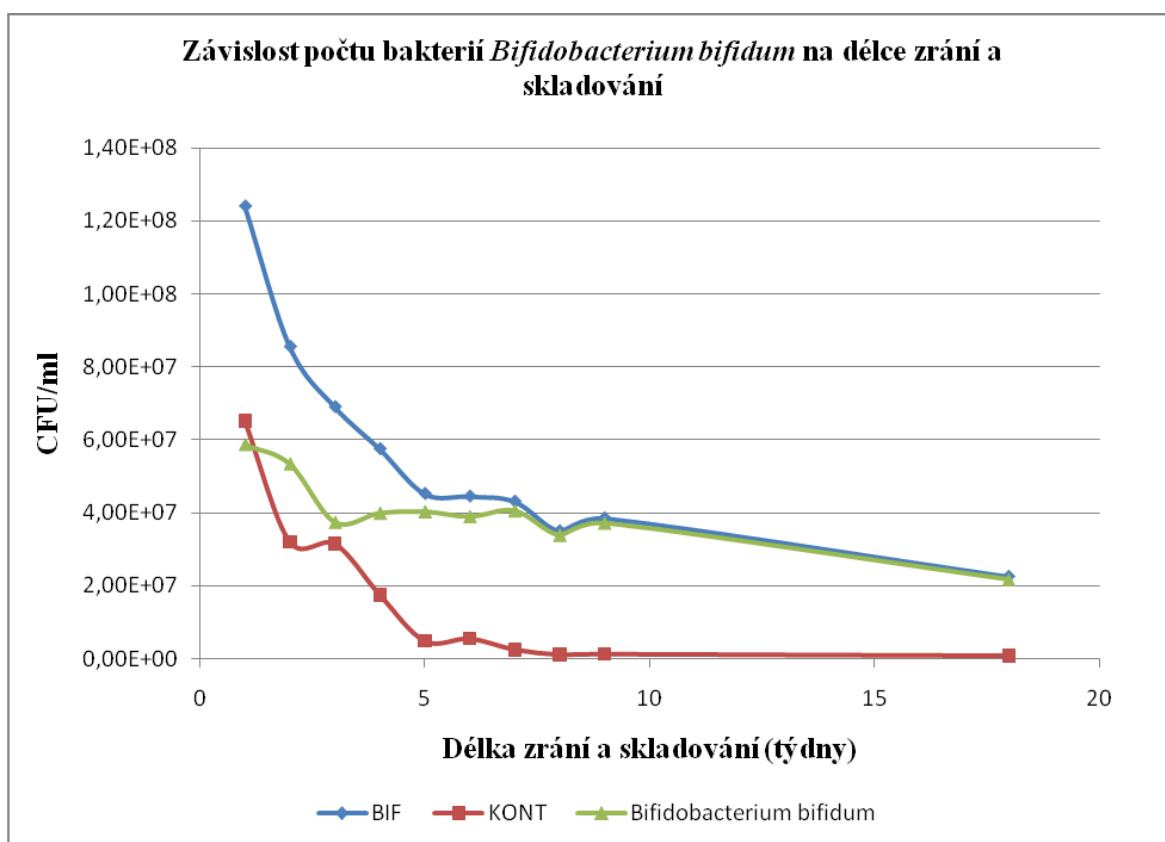
Plotnové metody pro stanovení počtu bakterií

Úkolem mikrobiologické analýzy vzorků sýrů bylo sledování životaschopnosti probiotických kultur *Bifidobacterium bifidum* a *Lactobacillus acidophilus*.

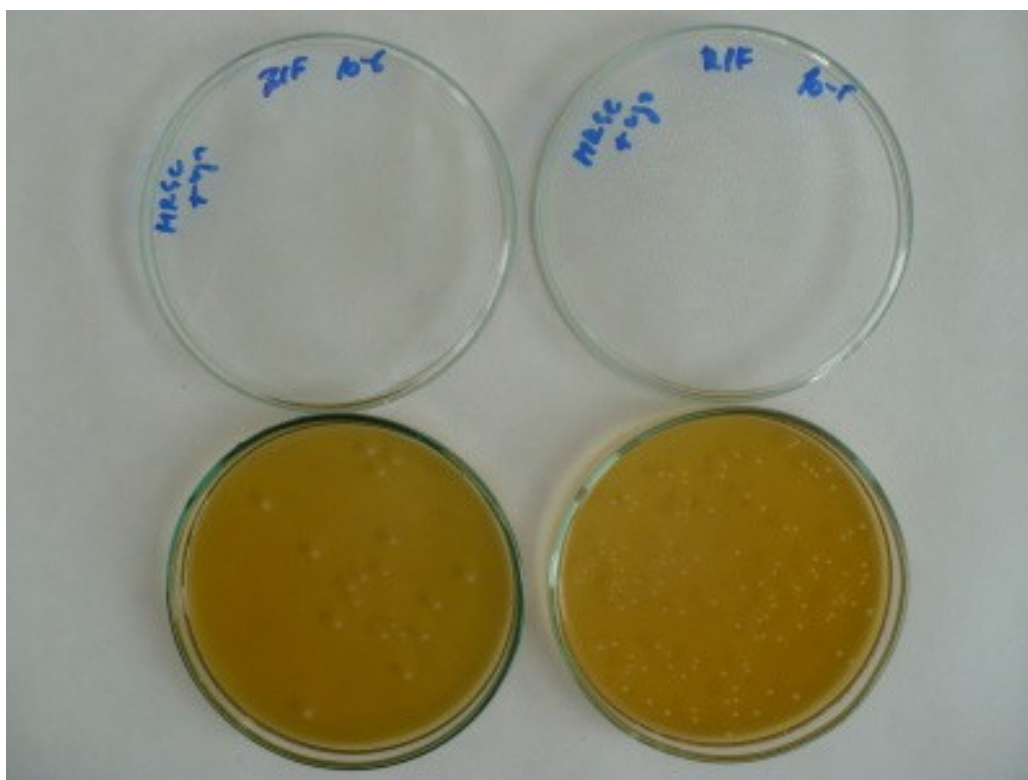
Přidané probiotické bakterie *Bifidobacterium bifidum* i *Lactobacillus acidophilus* rostou za anaerobních podmínek, na půdách bohatých na živiny. Proto byly stanovovány počty laktobacilů plotnovou metodou v anaerostatu na půdě MRSC (Tab. 3. a Obr. 2., 3. a 4.) a bifidobakterie na půdě MRSC obohacené o cystein (Tab. 4. a Obr. 4., 5. a 6.) Mléčné bakterie, tj. laktokoky a leukonostoky tvořící základní smetanovou kulturu jsou fakultativně anaerobní, proto byly kultivovány na půdě M17 za aerobních podmínek (Tab. 5., 6. a 7. a Obr. 7., 8., 9. a 10.).

Tab. 3. Počet mléčných bakterií a bakterií *Bifidobacterium bifidum*, při kultivaci na půdě MRSC+cystein

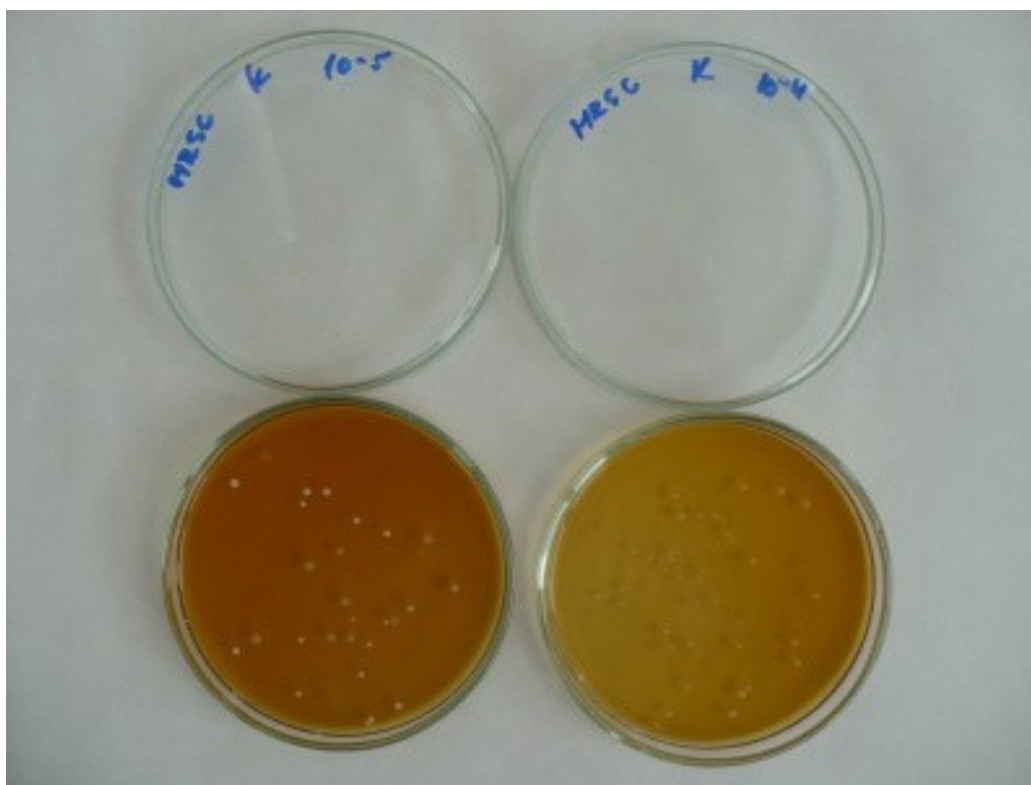
Půda MRSC+cystein			
Doba zrání a skladování (týdny)	BIF CFU/ml	KONT CFU/ml	<i>Bifidobacterium bifidum</i> CFU/ml
1	$1,24 \cdot 10^8$	$6,52 \cdot 10^7$	$5,88 \cdot 10^7$
2	$8,55 \cdot 10^7$	$3,20 \cdot 10^7$	$5,35 \cdot 10^7$
3	$6,90 \cdot 10^7$	$3,15 \cdot 10^7$	$3,75 \cdot 10^7$
4	$5,75 \cdot 10^7$	$1,75 \cdot 10^7$	$4,00 \cdot 10^7$
5	$4,52 \cdot 10^7$	$4,80 \cdot 10^6$	$4,04 \cdot 10^7$
6	$4,45 \cdot 10^7$	$5,45 \cdot 10^6$	$3,91 \cdot 10^7$
7	$4,31 \cdot 10^7$	$2,45 \cdot 10^6$	$4,07 \cdot 10^7$
8	$3,50 \cdot 10^7$	$1,06 \cdot 10^6$	$3,39 \cdot 10^7$
9	$3,85 \cdot 10^7$	$1,21 \cdot 10^6$	$3,73 \cdot 10^7$
18	$2,25 \cdot 10^7$	$7,65 \cdot 10^5$	$2,17 \cdot 10^7$



Obr. 2. Závislost počtu bakterií *Bifidobacterium bifidum* na délce zrání a skladování



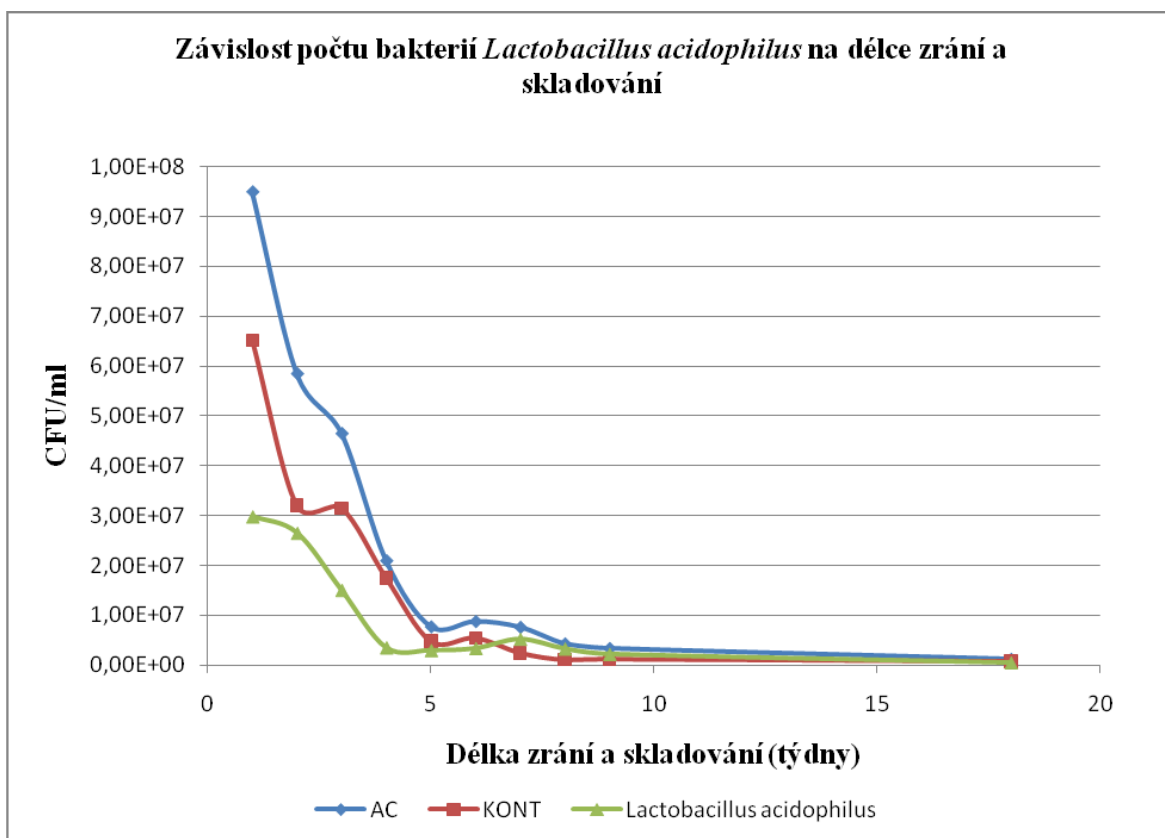
Obr. 3. Vzorek BIF po kultivaci na půdě MRSC+cystein



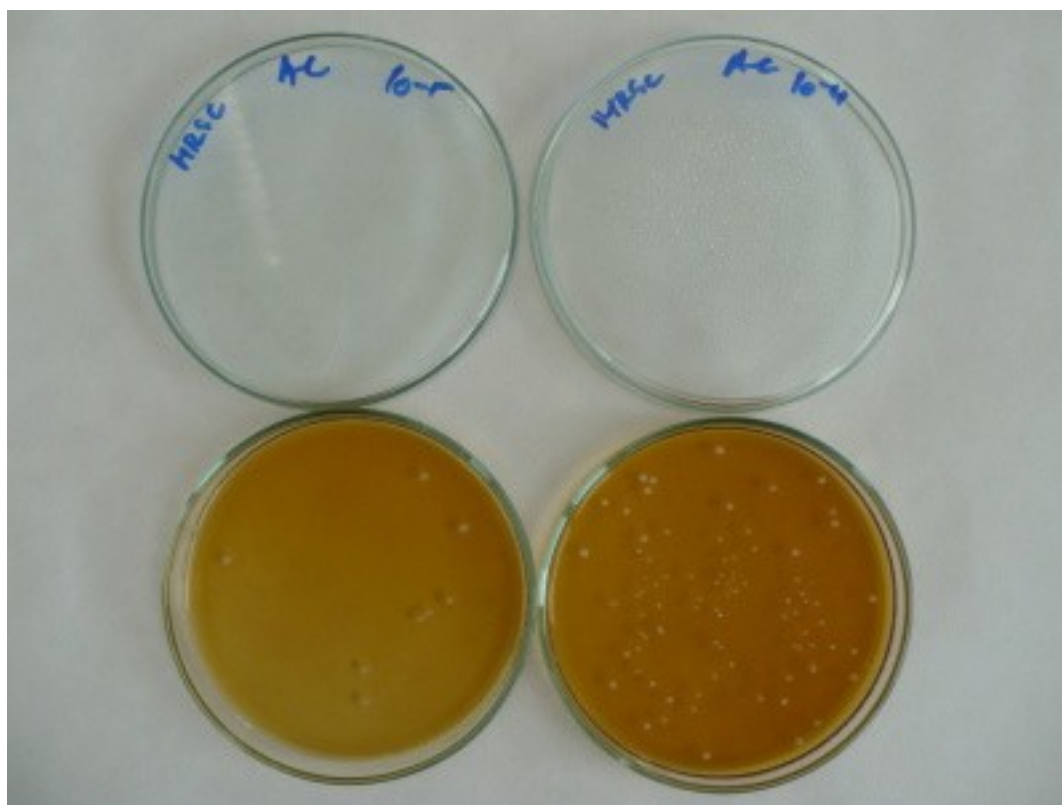
Obr. 4. Vzorek KONT po kultivaci na půdě MRSC

Tab. 4. Počet mléčných bakterií a bakterií *Lactobacillus acidophilus*, při kultivaci na půdě MRSC

Půda MRSC			
Doba zrání a skladování (týdny)	AC CFU/ml	KONT CFU/ml	<i>Lactobacillus acidophilus</i> CFU/ml
1	$9,50 \cdot 10^7$	$6,52 \cdot 10^7$	$2,98 \cdot 10^7$
2	$5,85 \cdot 10^7$	$3,20 \cdot 10^7$	$2,65 \cdot 10^7$
3	$4,65 \cdot 10^7$	$3,15 \cdot 10^7$	$1,50 \cdot 10^7$
4	$2,10 \cdot 10^7$	$1,75 \cdot 10^7$	$3,45 \cdot 10^6$
5	$7,70 \cdot 10^6$	$4,80 \cdot 10^6$	$2,90 \cdot 10^6$
6	$8,75 \cdot 10^6$	$5,45 \cdot 10^6$	$3,30 \cdot 10^6$
7	$7,60 \cdot 10^6$	$2,45 \cdot 10^6$	$5,15 \cdot 10^6$
8	$4,28 \cdot 10^6$	$1,06 \cdot 10^6$	$3,22 \cdot 10^6$
9	$3,35 \cdot 10^6$	$1,21 \cdot 10^6$	$2,14 \cdot 10^6$
18	$1,17 \cdot 10^6$	$7,65 \cdot 10^5$	$4,05 \cdot 10^5$



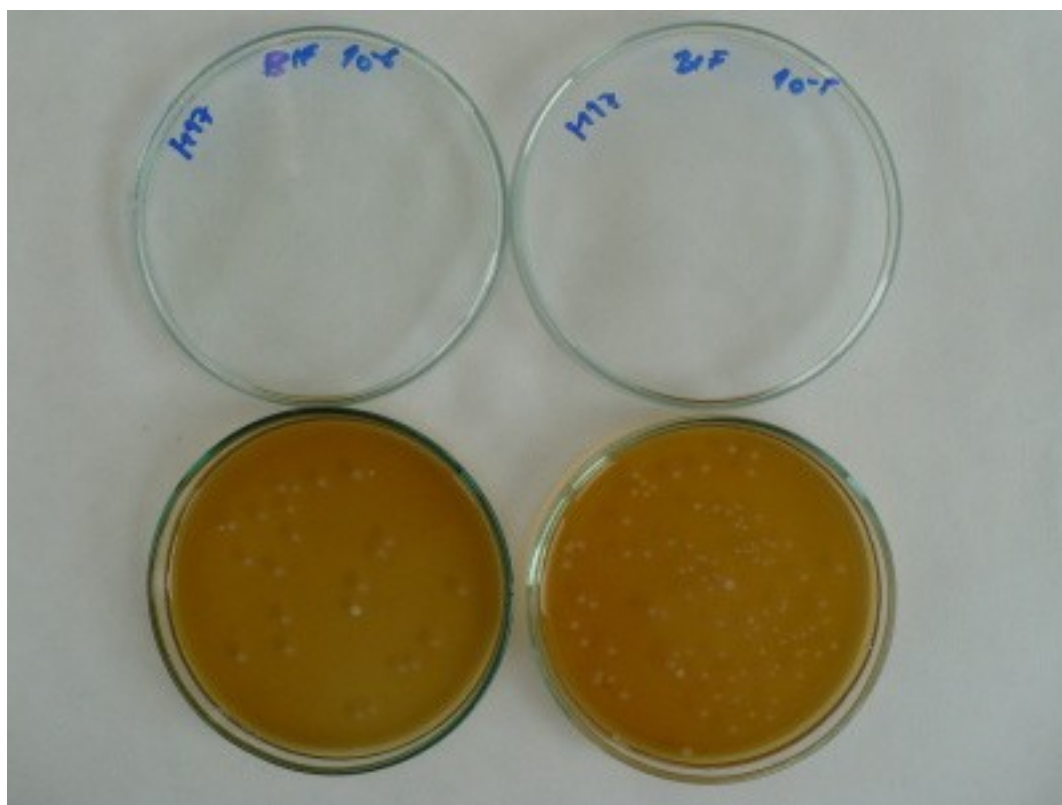
Obr. 5. Závislost počtu bakterií *Lactobacillus acidophilus* na délce zrání a skladování



Obr. 6. Vzorek AC po kultivaci na půdě MRSC

Tab. 5. Počet mléčných bakterií ve vzorku BIF, při kultivaci na půdě M17

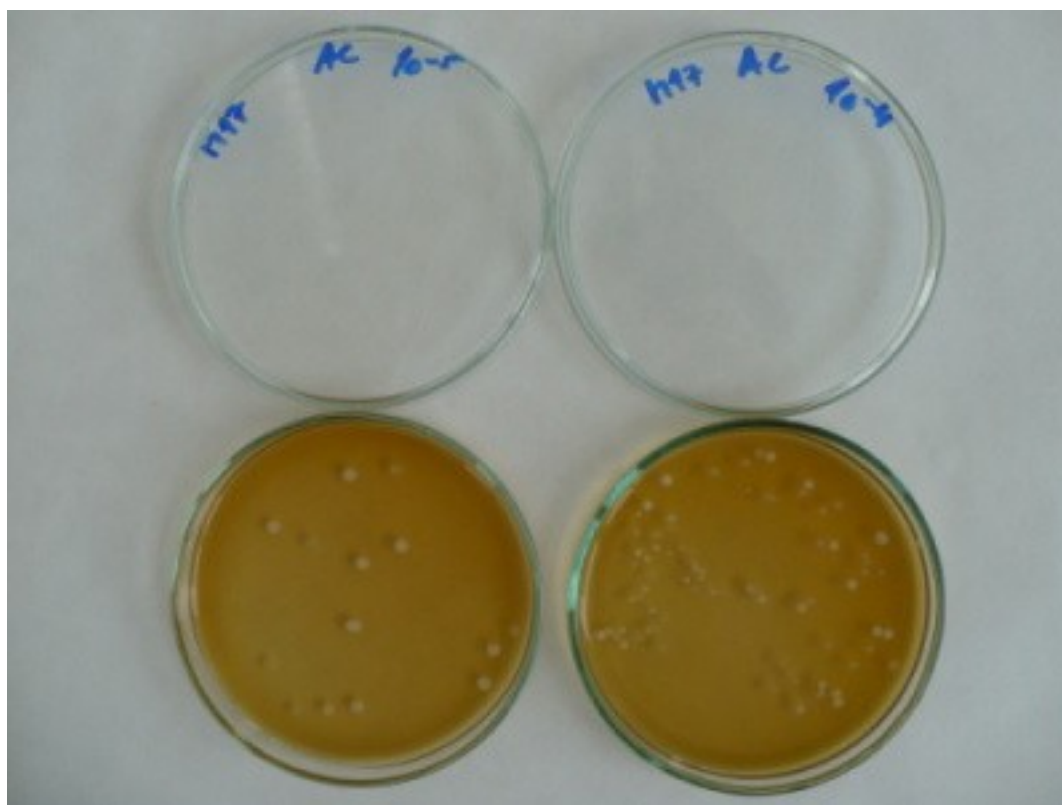
Půda M17	
Doba zrání a skladování (týdny)	BIF CFU/ml
1	$9,20 \cdot 10^7$
2	$8,85 \cdot 10^7$
3	$5,70 \cdot 10^7$
4	$5,16 \cdot 10^7$
5	$5,15 \cdot 10^7$
6	$5,28 \cdot 10^7$
7	$4,60 \cdot 10^7$
8	$5,60 \cdot 10^7$
9	$4,85 \cdot 10^7$
18	$1,16 \cdot 10^7$



Obr. 7. Vzorek BIF po kultivaci na půdě M17

Tab. 6. Počet mléčných bakterií ve vzorku AC, při kultivaci na půdě M17

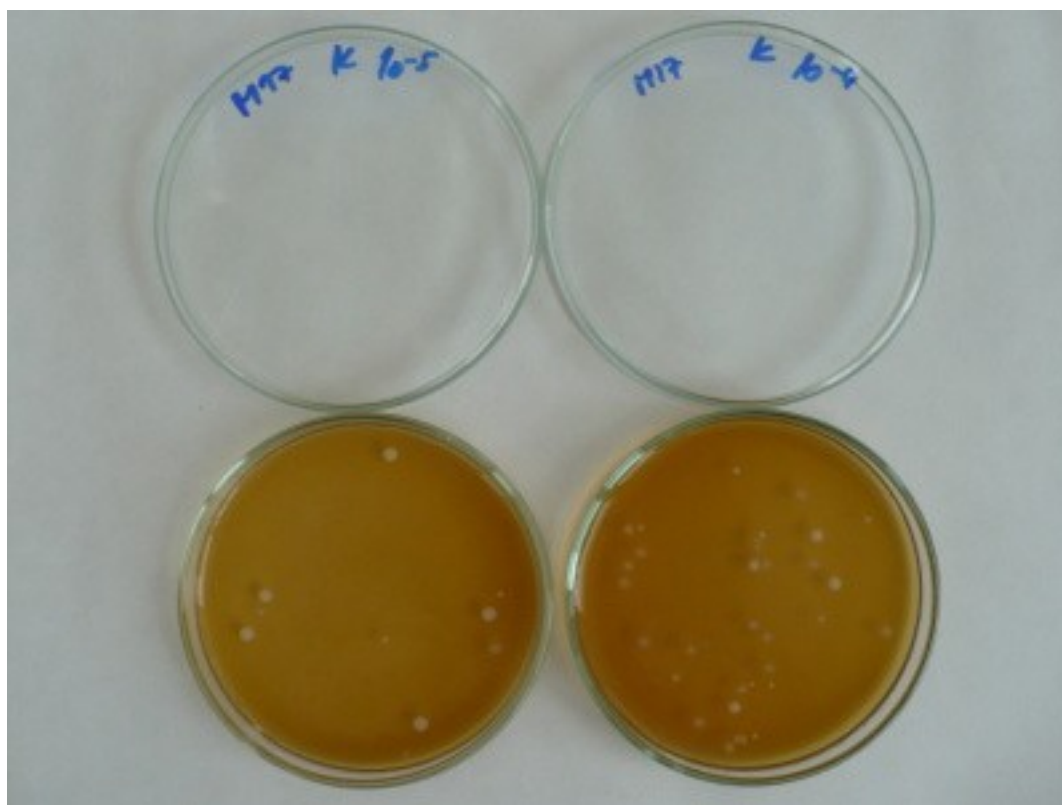
Půda M17	
Doba zrání a skladování (týdny)	AC CFU/ml
1	$6,70 \cdot 10^7$
2	$2,00 \cdot 10^7$
3	$9,10 \cdot 10^6$
4	$9,90 \cdot 10^6$
5	$7,00 \cdot 10^6$
6	$6,80 \cdot 10^6$
7	$5,65 \cdot 10^6$
8	$5,85 \cdot 10^6$
9	$5,30 \cdot 10^6$
18	$9,10 \cdot 10^5$



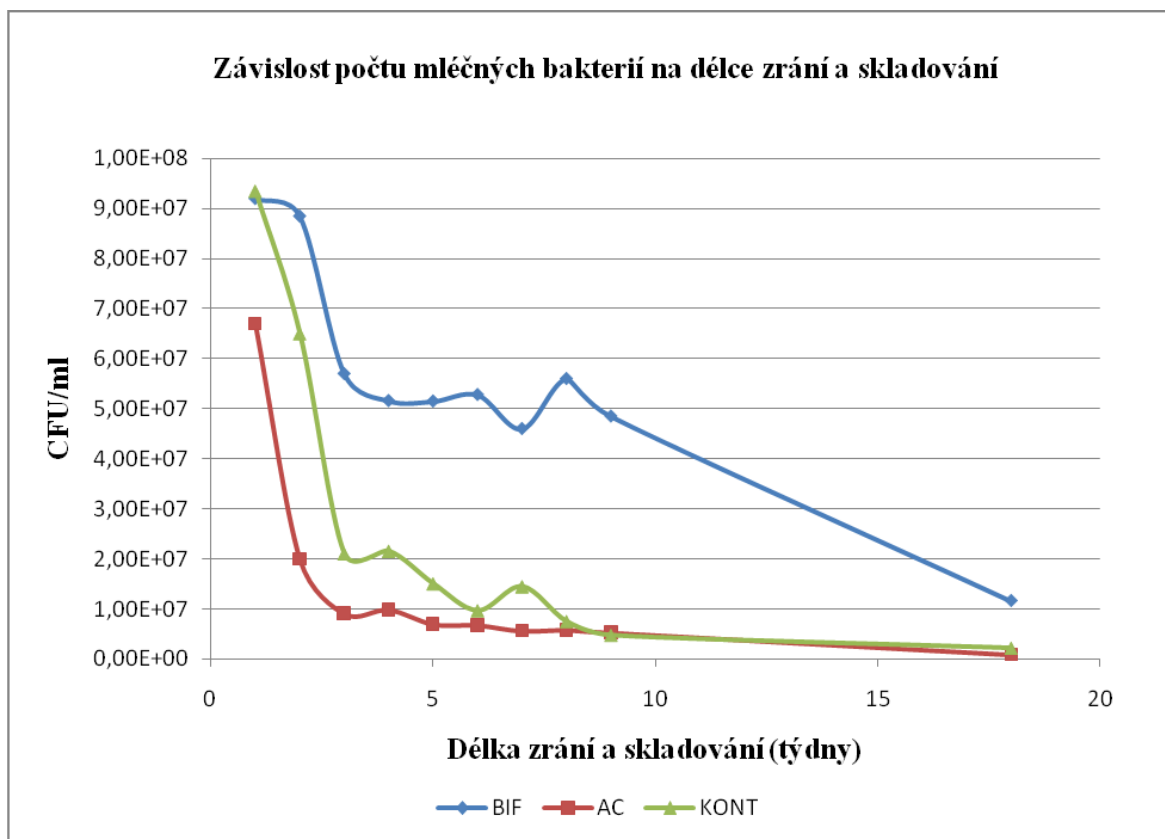
Obr. 8. Vzorek AC po kultivaci na půdě M17

Tab. 7. Počet mléčných bakterií ve vzorku KONT, při kultivaci na půdě M17

Půda M17	
Doba zrání a skladování (týdny)	KONT CFU/ml
1	$9,35 \cdot 10^7$
2	$6,50 \cdot 10^7$
3	$2,10 \cdot 10^7$
4	$2,15 \cdot 10^7$
5	$1,50 \cdot 10^7$
6	$9,60 \cdot 10^6$
7	$1,44 \cdot 10^7$
8	$7,45 \cdot 10^6$
9	$4,70 \cdot 10^6$
18	$2,11 \cdot 10^6$



Obr. 9. Vzorek KONT po kultivaci na půdě M17



Obr. 10. Závislost počtu mléčných bakterií na délce zrání a skladování, půda M17

3.2.2 Diskuse

Mikroskopickým vyšetřením bylo zjištěno, že ve vzorku BIF rostly na půdě M17 pouze drobné G^+ koky a na půdě MRSC+cystein byly zjištěny drobné G^+ koky i středně velké zakřivené G^+ tyčinky. Ve vzorku AC se na půdě M17 nacházely drobné G^+ koky a na půdě MRSC byly zjištěny drobné G^+ koky i větší, pravidelné G^+ tyčinky. V kontrolním vzorku označeném jako KONT byly na půdě M17 i MRSC nalezeny pouze drobné G^+ koky. Z toho můžeme usuzovat, že za aerobních podmínek rostou na půdě M17 pouze mléčné bakterie tj. laktokoky a leukonostoky pocházející ze smetanového zákysu. Na půdě MRSC, kultivované za anaerobních podmínek, pak rostou jak mléčné bakterie, tak přidané probiotické bakterie. Pro vyhodnocení počtu probiotických bakterií byly z tohoto důvodu odečteny celkové počty bakterií ze vzorku KONT od celkového počtu bakterií ve vzorcích BIF a AC. Tímto odečtením byl zjištěn počet bakterií *Bifidobacterium bifidum* ve vzorku BIF a počet bakterií *Lactobacillus acidophilus* ve vzorku AC. Počty bifidobakterií s dobou zrání a skladování pomalu klesaly až na hodnotu $2,17 \cdot 10^7$ CFU/ml a počty laktobacilů na $4,05 \cdot 10^5$ CFU/ml, což je i po 18 týdnech zrání a skladování dostatečný počet k projevení probiotických účinků těchto kultur na lidský organismus.

Dále byly vyhodnoceny počty laktokoků a leukonostoků na půdě M17. U všech vzorků počty mléčných bakterií pomalu klesaly, což odpovídá normálnímu průběhu zrání sýrů eidamského typu.

3.3 Senzorická analýza vzorků sýrů

3.3.1 Výsledky

Senzorická analýza vzorků sýrů byla provedena za účelem sledování změn organoleptických vlastností jednotlivých sýrů v průběhu zrání a skladování. V průběhu zrání byly provedeny tři analýzy, a to 2., 4. a 6. týden. Po šesti týdnech bylo zrání ve zracích sklepech ukončeno a sýry byly uloženy v chladničce. Změny v průběhu skladování byly sledovány ve 3. týdnu (tj. v 9. týdnu od výroby) a ve 12. týdnu skladování (tj. v 18. týdnu od výroby). Každé senzorické analýzy se účastnilo 24 vybraných posuzovatelů. Sledovanými znaky byly vzhled a barva sýrů (Tab. 8., 9., 17., 18., 26., 27., 35., 36., 44. a 45), konzistence (Tab. 10., 11., 19., 20., 28., 29., 37., 38., 46. a 47.), chuť a vůně (Tab. 12., 13., 21., 22., 30., 31., 39., 40., 48. a 49.) Dále posuzovatelé rozlišovali sýry podle

preferencí (Tab. 14., 15., 23., 24., 32., 33., 41., 42., 50. a 51.) a párovým testem hodnotili, který ze vzorků je kyslejší (Tab. 16., 25., 34., 43. a 52.). Posuzovatelé měli k dispozici pětibodovou kategorovou jakostní stupnici pro hodnocení eidamského bloku a protokol, do kterého zaznamenávali výsledky. Oba tyto dokumenty jsou uvedeny v příloze č. I a II.

V tabulkách porovnání dvojic se vyskytují značky S a R. Značka S znamená, že mezi testovanou dvojicí neexistuje na určité hladině významnosti statistický rozdíl. Naopak značka R znamená, že mezi testovanou dvojicí existuje statisticky významný rozdíl. Pro všechny výpočty byla zvolena hladina významnosti 5 %.

1. senzorická analýza

Tato senzorická analýza byla provedena ve 2. týdnu zrání sýrů.

Hodnocení s použitím stupnic

Každý vzorek byl hodnocen využitím pětibodové kategorové jakostní stupnice, ve které kategorie označovala výrobek jako:

1. vynikající;
2. výborný;
3. dobrý;
4. méně dobrý;
5. nevyhovující.

Výpočet byl proveden pomocí Kruskal-Wallisova testu. Počet hodnocení, označuje v tabulce, kolik posuzovatelů zařadilo výrobek do příslušné kategorie. Součet pořadí je hodnota vypočtená programem STATVYD a čím je tato hodnota nižší, tím byl výrobek hodnocen lépe.

Tab. 8. Vyhodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice

Vzhled a barva			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	11	3	4
2	10	6	13
3	3	12	6
4	0	3	1
5	0	0	0
Součet pořadí	608,5	1134	885,5

Tab. 9. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice

Vzhled a barva			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R	-	-
KONT	S	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení vzhledu a barvy vzorek BIF, následován vzorkem KONT. Nejhůře hodnocen byl vzorek AC.

Při hodnocení vzhledu a barvy můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% existuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl a to mezi vzorky AC a BIF.

Tab. 10. Vyhodnocení konzistence s použitím stupnice

Konzistence			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	8	5	7
2	13	7	11
3	2	5	5
4	1	7	0
5	0	0	1
Součet pořadí	734,5	1064,5	829

Tab. 11. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení konzistence s použitím stupnice

Konzistence			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	S	-	-
KONT	S	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení konzistence vzorek BIF, následován vzorkem KONT. Nejhůře hodnocen byl vzorek AC.

Při hodnocení konzistence můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% neexistuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl.

Tab. 12. Vyhodnocení chuti a vůně s použitím stupnice

Chut' a vůně			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	15	6	6
2	5	2	14
3	4	12	4
4	0	3	0
5	0	1	0
Součet pořadí	634	1144	850

Tab. 13. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení chuti a vůně s použitím stupnice

Chut' a vůně			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R	-	-
KONT	S	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení chuti a vůně vzorek BIF, následován vzorkem KONT. Nejhůře hodnocen byl vzorek AC.

Při hodnocení chuti a vůně můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% existuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl a to mezi vzorky AC a BIF.

Pořadová zkouška

Výpočet byl proveden pomocí Friedmanova testu. Posuzovatelé seřazovali vzorky podle svých preferencí. Byla vyžadována tzv. nucená volba, kdy na každé místo v pořadí může být přiřazen pouze jeden vzorek. Počet hodnocení, označuje v tabulce, kolik posuzovatelů zařadilo výrobek do příslušné kategorie. Součet pořadí je hodnota vypočtená programem STATVYD a čím je tato hodnota nižší, tím byl výrobek hodnocen lépe.

Tab. 14. Vyhodnocení pořadové zkoušky

Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	9	4	11
2	12	2	10
3	3	18	3
Součet pořadí	42	62	40

Tab. 15. Vyhodnocení testování dvojic pro pořadovou zkoušku

Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R	-	-
KONT	S	R	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl jako nejpreferovanější hodnocen vzorek KONT (kontrolní vzorek sýru), následoval vzorek BIF. A jako nejméně preferovaný byl hodnocen vzorek AC.

Na hladině významnosti 5 % můžeme konstatovat, že při určování preferencí existuje mezi výrobky statisticky významný rozdíl a to jednak mezi vzorky AC a BIF a také mezi vzorky AC a KONT.

Párová porovnávací zkouška

Párovou porovnávací zkouškou byl vyhodnocen směr rozdílnosti v intenzitě kyselosti předložených vzorků sýrů a to pomocí jednostranného testu. Formulace otázky zněla: „Který z předložených vzorků je kyselější“. Posuzovatelé použili metodu nucené volby.

Tab. 16. Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky

Vzorky	Poměr
BIF nebo AC	1 : 23
AC nebo KONT	22 : 2
BIF nebo KONT	4 : 20

Párovou porovnávací zkouškou bylo zjištěno, že na hladině významnosti 5 %::

- je vzorek AC kyselější než vzorek BIF;
- je vzorek AC kyselější než vzorek KONT;
- je vzorek KONT kyselější než vzorek BIF.

2. senzorická analýza

Tato senzorická analýza byla provedena ve 4. týdnu zrání sýrů.

Hodnocení s použitím stupnic

Tab. 17. Vyhodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice

Kategorie	Vzhled a barva		
	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	11	3	2
2	10	7	8
3	3	13	8
4	0	1	6
5	0	0	0
Součet pořadí	544	993	1091

Tab. 18. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice

Vzhled a barva			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R	-	-
KONT	R	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení vzhledu a barvy vzorek BIF, následován vzorkem AC. Nejhůře hodnocen byl vzorek KONT.

Při hodnocení vzhledu a barvy můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% existuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl a to jednak mezi vzorky AC a BIF a také mezi vzorky KONT a BIF.

Tab. 19. Vyhodnocení konzistence s použitím stupnice

Konzistence			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	13	3	4
2	9	6	9
3	2	8	8
4	0	6	3
5	0	1	0
Součet pořadí	536	1128,5	963,5

Tab. 20. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení konzistence s použitím stupnice

Konzistence			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R		-
KONT	R	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení konzistence vzorek BIF, následován vzorkem KONT. Nejhůře hodnocen byl vzorek AC.

Při hodnocení konzistence můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% existuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl a to jednak mezi vzorky AC a BIF a také mezi vzorky KONT a BIF.

Tab. 21. Vyhodnocení chuti a vůně s použitím stupnice

Chuť a vůně			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	16	3	4
2	7	2	11
3	1	13	6
4	0	6	2
5	0	0	1
Součet pořadí	480	1203,5	944,5

Tab. 22. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení chuti a vůně s použitím stupnice

Chuť a vůně			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R	-	-
KONT	R	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení chuti a vůně vzorek BIF, následován vzorkem KONT. Nejhůře hodnocen byl vzorek AC.

Při hodnocení chuti a vůně můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% existuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl a to jednak mezi vzorky AC a BIF a také mezi vzorky KONT a BIF.

Pořadová zkouška

Tab. 23. Vyhodnocení pořadové zkoušky

Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	21	1	2
2	2	4	18
3	1	19	4
Součet pořadí	28	66	50

Tab. 24. Vyhodnocení testování dvojic pro pořadovou zkoušku

Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R	-	-
KONT	R	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl jako nejpreferovanější hodnocen vzorek BIF, následoval vzorek KONT. A jako nejméně preferovaný byl hodnocen vzorek AC.

Na hladině významnosti 5 % můžeme konstatovat, že při určování preferencí existuje mezi výrobky statisticky významný rozdíl a to jednak mezi vzorky AC a BIF a také mezi vzorky BIF a KONT.

Párová porovnávací zkouška

Tab. 25. Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky

Vzorky	Poměr
BIF nebo AC	3 : 21
AC nebo KONT	20 : 4
BIF nebo KONT	7 : 17

Párovou porovnávací zkouškou bylo zjištěno, že na hladině významnosti 5 %::

- je vzorek AC kyselejší než vzorek BIF;
- je vzorek AC kyselejší než vzorek KONT;
- je vzorek KONT kyselejší než vzorek BIF.

3. senzorická analýza

Tato senzorická analýza byla provedena v 6. týdnu zrání sýrů.

Hodnocení s použitím stupnic

Tab. 26. Vyhodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice

Vzhled a barva			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	8	7	3
2	9	10	13
3	6	7	8
4	1	0	0
5	0	0	0
Součet pořadí	824,5	838,5	965

Tab. 27. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice

Vzhled a barva			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	S	-	-
KONT	S	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení vzhledu a barvy vzorek BIF, následován vzorkem AC. Nejhuře hodnocen byl vzorek KONT.

Při hodnocení vzhledu a barvy můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% neexistuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl.

Tab. 28. Vyhodnocení konzistence s použitím stupnice

Konzistence			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	8	3	5
2	10	10	12
3	6	10	6
4	0	1	1
5	0	0	0
Součet pořadí	750	1017	861

Tab. 29. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení konzistence s použitím stupnice

Konzistence			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	S	-	-
KONT	S	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení konzistence vzorek BIF, následován vzorkem KONT. Nejhůře hodnocen byl vzorek AC.

Při hodnocení konzistence můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% neexistuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl.

Tab. 30. Vyhodnocení chuti a vůně s použitím stupnice

Chuť a vůně			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	11	4	9
2	5	10	8
3	8	6	7
4	0	4	0
5	0	0	0
Součet pořadí	781,5	1040	806,5

Tab. 31. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení chuti a vůně s použitím stupnice

Chuť a vůně			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	S	-	-
KONT	S	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení chuti a vůně vzorek BIF, následován vzorkem KONT. Nejhůře hodnocen byl vzorek AC.

Při hodnocení chuti a vůně můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% neexistuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl.

Pořadová zkouška*Tab. 32. Vyhodnocení pořadové zkoušky*

Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	9	5	10
2	11	6	7
3	4	13	7
Součet pořadí	43	56	45

Tab. 33. Vyhodnocení testování dvojic pro pořadovou zkoušku

Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	S	-	-
KONT	S	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl jako nejpreferovanější hodnocen vzorek BIF, následoval vzorek KONT. A jako nejméně preferovaný byl hodnocen vzorek AC.

Na hladině významnosti 5 % můžeme konstatovat, že při určování preferencí neexistuje mezi výrobky statisticky významný rozdíl.

Párová porovnávací zkouška*Tab. 34. Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky*

Vzorky	Poměr
BIF nebo AC	2 : 22
AC nebo KONT	23 : 1
BIF nebo KONT	11 : 13

Párovou porovnávací zkouškou bylo zjištěno, že na hladině významnosti 5 %::

- je vzorek AC kyslejší než vzorek BIF;
- je vzorek AC kyslejší než vzorek KONT;

- nebyl v hodnocení kyselosti shledán statisticky významný rozdíl mezi vzorkem KONT a vzorkem BIF.

4. senzorická analýza

Tato senzorická analýza byla provedena ve 3. týdnu skladování sýrů (celkově 9. týdnu od výroby)

Hodnocení s použitím stupnic

Tab. 35. Vyhodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice

Vzhled a barva			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	5	8	4
2	13	7	8
3	4	6	10
4	1	3	2
5	1	0	0
Součet pořadí	817	831	980

Tab. 36. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice

Vzhled a barva			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	S	-	-
KONT	S	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení vzhledu a barvy vzorek BIF, následován vzorkem AC. Nejhuře hodnocen byl vzorek KONT.

Při hodnocení vzhledu a barvy můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% neexistuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl.

Tab. 37. Vyhodnocení konzistence s použitím stupnice

Konzistence			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	8	3	5
2	9	10	12
3	5	11	7
4	2	0	0
5	0	0	0
Součet pořadí	794	994,5	839,5

Tab. 38. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení konzistence s použitím stupnice

Konzistence			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	S	-	-
KONT	S	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení konzistence vzorek BIF, následován vzorkem KONT. Nejhůře hodnocen byl vzorek AC.

Při hodnocení konzistence můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% neexistuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl.

Tab. 39. Vyhodnocení chuti a vůně s použitím stupnice

Chut' a vůně			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	12	4	7
2	8	3	15
3	4	14	2
4	0	3	0
5	0	0	0
Součet pořadí	674	1203,5	750,5

Tab. 40. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení chuti a vůně s použitím stupnice

Chuť a vůně			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R	-	-
KONT	S	R	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení chuti a vůně vzorek BIF, následován vzorkem KONT. Nejhůře hodnocen byl vzorek AC.

Při hodnocení chuti a vůně můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% existuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl a to jednak mezi vzorky AC a BIF a také mezi vzorky KONT a AC.

Pořadová zkouška

Tab. 41. Vyhodnocení pořadové zkoušky

Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	15	1	8
2	6	5	13
3	3	18	3
Součet pořadí	36	65	43

Tab. 42. Vyhodnocení testování dvojic pro pořadovou zkoušku

Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R	-	-
KONT	S	R	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl jako nejpreferovanější hodnocen vzorek BIF, následoval vzorek KONT. A jako nejméně preferovaný byl hodnocen vzorek AC.

Na hladině významnosti 5 % můžeme konstatovat, že při určování preferencí existuje mezi výrobky statisticky významný rozdíl a to jednak mezi vzorky AC a BIF a také mezi vzorky AC a KONT.

Párová porovnávací zkouška

Tab. 43. Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky

Vzorky	Poměr
BIF nebo AC	1 : 23
AC nebo KONT	22 : 2
BIF nebo KONT	9 : 15

Párovou porovnávací zkouškou bylo zjištěno, že na hladině významnosti 5 %::

- je vzorek AC kyselější než vzorek BIF;
- je vzorek AC kyselější než vzorek KONT;
- nebyl v hodnocení kyselosti shledán statisticky významný rozdíl mezi vzorkem KONT a vzorkem BIF.

5. senzorická analýza

Tato senzorická analýza byla provedena ve 12. týdnu skladování sýrů (celkově 18. týdnu od výroby)

Hodnocení s použitím stupnic

Tab. 44. Vyhodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice

Kategorie	Vzhled a barva		
	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	19	3	4
2	13	10	13
3	2	8	4
4	0	2	3
5	0	1	0
Součet pořadí	494	1121,5	1012,5

Tab. 45. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice

Vzhled a barva			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R	-	-
KONT	R	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení vzhledu a barvy vzorek BIF, následován vzorkem KONT. Nejhůře hodnocen byl vzorek AC.

Při hodnocení vzhledu a barvy můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% existuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl a to jednak mezi vzorky AC a BIF a také mezi vzorky KONT a BIF.

Tab. 46. Vyhodnocení konzistence s použitím stupnice

Konzistence			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	17	2	4
2	7	10	17
3	0	10	1
4	0	2	2
5	0	0	0
Součet pořadí	487,5	1200	940,5

Tab. 47. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení konzistence s použitím stupnice

Konzistence			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R	-	-
KONT	R	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení konzistence vzorek BIF, následován vzorkem KONT. Nejhůře hodnocen byl vzorek AC.

Při hodnocení konzistence můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% existuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl a to jednak mezi vzorky AC a BIF a také mezi vzorky KONT a BIF.

Tab. 48. Vyhodnocení chuti a vůně s použitím stupnice

Chut' a vůně			
Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	14	5	8
2	7	8	9
3	1	6	6
4	2	5	1
5	0	0	0
Součet pořadí	667,5	1076,5	884

Tab. 49. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení chuti a vůně s použitím stupnice

Chut' a vůně			
Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R	-	-
KONT	S	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl nejlépe hodnoceným vzorkem při hodnocení chuti a vůně vzorek BIF, následován vzorkem KONT. Nejhůře hodnocen byl vzorek AC.

Při hodnocení chuti a vůně můžeme konstatovat, že na hladině významnosti 5% existuje mezi vzorky statisticky významný rozdíl a to mezi vzorky AC a BIF.

Pořadová zkouška

Tab. 50. Vyhodnocení pořadové zkoušky

Kategorie	Počet hodnocení		
	BIF	AC	KONT
1	18	2	4
2	4	4	16
3	2	17	4
Součet pořadí	32	63	48

Tab. 51. Vyhodnocení testování dvojic pro pořadovou zkoušku

Vzorky	BIF	AC	KONT
BIF	-	-	-
AC	R	-	-
KONT	S	S	-

Dle vypočtené hodnoty součtu pořadí byl jako nejpreferovanější hodnocen vzorek BIF, následoval vzorek KONT. A jako nejméně preferovaný byl hodnocen vzorek AC.

Na hladině významnosti 5 % můžeme konstatovat, že při určování preferencí existuje mezi výrobky statisticky významný rozdíl a to mezi vzorky AC a BIF.

Párová porovnávací zkouška

Tab. 52. Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky

Vzorky	Poměr
BIF nebo AC	2 : 22
AC nebo KONT	18 : 6
BIF nebo KONT	7 : 17

Párovou porovnávací zkouškou bylo zjištěno, že na hladině významnosti 5 %:

- je vzorek AC kyslejší než vzorek BIF;
- je vzorek AC kyslejší než vzorek KONT;
- je vzorek KONT kyslejší než vzorek BIF.

3.3.2 Diskuse

Při hodnocení vzhledu a barvy vzorků sýrů bylo zjištěno, že dle hodnoty součtu pořadí byl v průběhu všech pěti analýz hodnocen jako nejlepší vzorek, sýr s přídavkem kultury *Bifidobacterium bifidum*. Tudíž přídavek kultury *Bifidobacterium bifidum* má jednoznačně pozitivní vliv na vzhled a barvu sýru. Mezi kontrolním vzorkem a vzorkem sýru s přídavkem kultury *Lactobacillus acidophilus* nebyl při žádné senzorické analýze shledán statisticky významný rozdíl. Z této skutečnosti můžeme usoudit, že přídavek kultury *Lactobacillus acidophilus* nemá vliv na vzhled a barvu sýru.

Hodnocením konzistence bylo zjištěno, že mezi kontrolním vzorkem a vzorkem s přidavkem kultury *Lactobacillus acidophilus* nebyl v průběhu sledování zjištěn statisticky významný rozdíl. Tudíž přidavek kultury *Lactobacillus acidophilus* nemá vliv na konzistenci sýru. Konzistence sýru s přidavkem kultury *Bifidobacterium bifidum* byla na hladině významnosti 5 % hodnocena jako lepší pouze ve 4. týdnu zrání a na konci skladování, v ostatních případech nebyl mezi vzorky shledán statisticky významný rozdíl. Z tohoto můžeme usoudit, že přidavek kultury *Bifidobacterium bifidum* může mít kladný vliv na konzistenci sýrů, ale tento vliv není významný.

Při hodnocení chuti a vůně nebyl ve 2., 4. týdnu zrání a 3. týdnu skladování shledán statisticky významný rozdíl mezi kontrolním vzorkem a vzorkem s přidavkem kultury *Bifidobacterium bifidum*, avšak v 6. týdnu zrání a posledním, 12. týdnu skladování, byl mezi těmito vzorky statisticky významný rozdíl, proto můžeme říct, že přidavek kultury *Bifidobacterium bifidum* může mít kladný vliv na chuť a vůni sýru, ale nezáleží na délce zrání a skladování. Vzorek sýru s přidavkem kultury *Lactobacillus acidophilus* byl jako statisticky horší oproti kontrolnímu vzorku hodnocen pouze ve 3. týdnu skladování, proto můžeme říct, že přidavek kultury *Lactobacillus acidophilus* nezlepšuje chuť a vůni sýru, ale může tyto vlastnosti případně zhoršit.

Při určování preferencí byl při 1. senzorické analýze, nejpreferovanější kontrolní vzorek. Při všech ostatních analýzách byl nejpreferovanější, vzorek s přidavkem kultury *Bifidobacterium bifidum*. Z toho vyplývá, že kultura *Bifidobacterium bifidum* má na sýr celkově pozitivní vliv, ale tento pozitivní vliv kultury nastupuje až po uplynutí minimálně dvou týdnů zrání. Srovnáním kontrolního vzorku a vzorku s přidavkem kultury *Lactobacillus acidophilus* bylo zjištěno, že posuzovatelé preferovali kontrolní vzorek. Proto můžeme konstatovat, že kultura *Lactobacillus acidophilus*, nemá kladný vliv na celkový dojem ze sýru.

Párovou porovnávací zkouškou posuzovatelé hodnotili kyselost vzorků sýrů. Vyhodnocením bylo zjištěno, že při všech senzorických analýzách byl nejkyselejší vzorek s přidavkem kultury *Lactobacillus acidophilus*. Dále bylo zjištěno, že až do 4. týdne zrání a také v závěru skladování byl kyselejší kontrolní vzorek, oproti vzorku s přidavkem kultury *Bifidobacterium bifidum*. Hodnocením v 6. týdnu zrání a 3. týdnu skladování nebyl mezi těmito vzorky shledán statisticky významný rozdíl. Vzhledem k tomu, že posuzovatelé

použili u zmíněného testu nucenou volbu, nemůžeme konstatovat, že by přidavek kultury *Bifidobacterium bifidum* výrazněji ovlivňoval kyselost sýru.

3.4 Základní chemická analýza vzorků sýrů

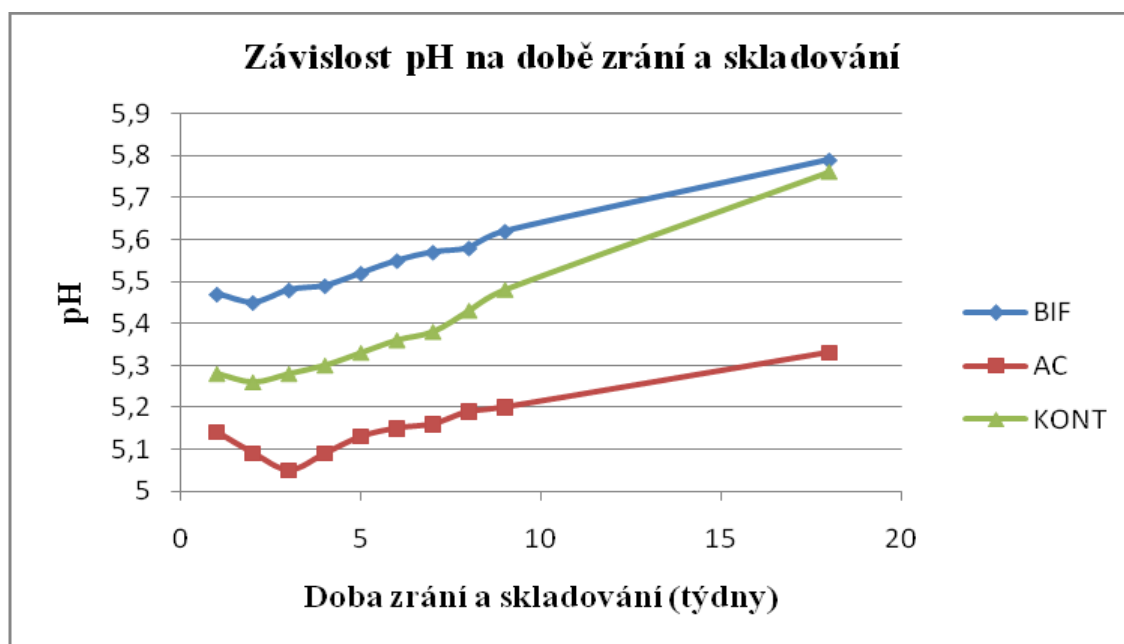
3.4.1 Výsledky

3.4.1.1 Stanovení aktivní kyselosti

Stanovení aktivní kyselosti bylo provedeno v každém z 6 týdnů skladování, poté 1., 2., 3. a 12. týden skladování (Tab. 53. a Obr. 11). Analýza byla provedena s pomocí pH metru.

Tab. 53. Závislost pH na době zrání a skladování

Týden	Aktivní kyselost - pH									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	18
BIF	5,47	5,45	5,48	5,49	5,52	5,55	5,57	5,58	5,62	5,79
AC	5,14	5,09	5,05	5,09	5,13	5,15	5,16	5,19	5,2	5,33
KONT	5,28	5,26	5,28	5,3	5,33	5,36	5,38	5,43	5,48	5,76



Obr. 11. Závislost pH na době zrání a skladování

3.4.1.2 Stanovení vlhkosti sušením

Stanovení vlhkosti sušením bylo provedeno celkem dvakrát. První analýza proběhla po 2 týdnech zrání (Tab. 54., 56. a 58.) a druhá analýza po 12 týdnech skladování, tj. celkově po 18 týdnech od výroby (Tab. 55., 57. a 59.). Poté byly výsledky analýz porovnány (Tab. 60.) Analýza byla provedena sušením v sušárně při 105 °C, s použitím písku.

Tab. 54. Hodnoty vzorku BIF naměřené při 1. analýze

BIF					
Vzorek	m_{misky}	$m_{\text{navážky}}$	$m_{\text{vysušené}}$	sušina (%)	vlhkost (%)
1	48,6971	5,0645	51,1492	48,42	51,58
2	46,5711	5,0243	48,9979	48,30	51,70
3	48,5398	5,0314	50,9777	48,45	51,55
Průměr				48,39	51,61

Tab. 55. Hodnoty vzorku BIF naměřené při 2. analýze

BIF					
Vzorek	m_{misky}	$m_{\text{navážky}}$	$m_{\text{vysušené}}$	sušina (%)	vlhkost (%)
1	52,1753	4,9459	54,5946	48,92	51,08
2	52,2412	4,9686	54,6503	48,49	51,51
3	52,1243	5,1219	54,6165	48,66	51,34
Průměr				48,69	51,31

Tab. 56. Hodnoty vzorku AC naměřené při 1. analýze

AC					
Vzorek	m_{misky}	$m_{\text{navážky}}$	$m_{\text{vysušené}}$	sušina (%)	vlhkost (%)
1	48,6998	5,0473	51,0648	46,86	53,14
2	48,4205	5,0240	50,7693	46,75	53,25
3	48,4465	5,0403	50,8173	47,04	52,96
Průměr				46,88	53,12

Tab. 57. Hodnoty vzorku AC naměřené při 2. analýze

AC					
Vzorek	m_{misky}	$m_{\text{navážky}}$	$m_{\text{vysušené}}$	sušina (%)	vlhkost (%)
1	51,9141	5,2000	54,3467	46,78	53,22
2	51,9636	5,0929	54,3658	47,17	52,83
3	52,1777	5,0190	54,5381	47,03	52,97
Průměr				46,99	53,01

Tab. 58. Hodnoty vzorku KONT naměřené při 1. analýze

KONT					
Vzorek	m_{misky}	$m_{navážky}$	$m_{vysušené}$	sušina (%)	vlhkost (%)
1	48,2404	5,0385	50,7908	50,62	49,38
2	48,5235	5,0355	51,0816	50,80	49,20
3	48,5939	5,0175	51,1165	50,28	49,72
Průměr				50,57	49,43

Tab. 59. Hodnoty vzorku KONT naměřené při 2. analýze

KONT					
Vzorek	m_{misky}	$m_{navážky}$	$m_{vysušené}$	sušina (%)	vlhkost (%)
1	52,2569	5,0179	54,8021	50,72	49,28
2	52,0136	5,0626	54,5973	51,04	48,96
3	52,2488	5,1681	54,8821	50,95	49,05
Průměr				50,90	49,10

Tab. 60. Srovnání průměrné vlhkosti vzorků při 1. a 2. analýze

Vzorek	Pořadí analýzy	Průměrná vlhkost %	Rozdíl
BIF	1.	51,61	0,30
	2.	51,31	
AC	1.	53,12	0,11
	2.	53,01	
KONT	1.	49,43	0,33
	2.	49,10	

3.4.2 Diskuse

Aktivní kyselost vzorků sýrů byla sledována každý týden v průběhu zrání sýrů, následně první tři týdny skladování, poté byla aktivní kyselost změřena 12. týden skladování. U vzorku sýru s přidavkem kultury *Bifidobacterium bifidum* a kontrolního vzorku klesala kyselost v průběhu prvních dvou týdnů a od třetího týdne postupně mírně rostla. U vzorku sýru s přidavkem kultury *Lactobacillus acidophilus* kyselost klesala během prvních třech týdnů a poté také postupně vzrůstala. Pokles pH je způsoben produkcí kyseliny mléčné mléčnými a probiotickými bakteriemi. Zatímco zaznamenaný nárůst pH v dalších týdnech by zřejmě mohl být způsoben tím, že dané bakterie nemají v kyselém prostředí optimální

podmínky pro jejich růst a množení. Jejich metabolismus se pak mění tak, že kyselinu mléčnou spotřebovávají v dýchacím řetězci, čímž získávají energii.

Vlhkost po šestnácti týdnech u vzorku sýru s přidavkem kultury *Bifidobacterium bifidum* klesla o 0,30 %, u vzorku s přidavkem kultury *Lactobacillus acidophilus* klesla o 0,11 % a u kontrolního vzorku klesla o 0,33 %. Proto můžeme konstatovat, že při zrání a skladování sýrů pod obalovou fólií Cryovac dochází pouze k zanedbatelnému odpařování vody.

3.5 Stanovení biogenních aminů a volných aminokyselin

3.5.1 Výsledky

Předmětem zkoumání bylo sledování změn obsahu volných aminokyselin (Tab. 61., 62. a 63.) a biogenních aminů (Tab. 64., 65. a 66.) ve vzorcích sýrů v průběhu čtyř týdnů jejich zrání. První analýza byla provedena ve 2. týdnu zrání a druhá analýza na konci zrání, tj. 6. týden zrání.

Označení ND v tabulce znamená, že tato aminokyselina nebo biogenní amin nebyl detekován.

Tab. 61. Volné aminokyseliny ve vzorku BIF

BIF					
Aminokyseliny	1. stanovení		2. stanovení		rozdíl
	Obsah (mg/kg)	Směrodatná odchylka	Obsah (mg/kg)	Směrodatná odchylka	Obsah (mg/kg)
Treonin	ND		0,328	0,0165	0,328
Serin	ND		0,230	0,0061	0,230
Kyselina asparagová	0,030	0,0019	0,942	0,0660	0,911
Asparagin	ND		ND		
Kyselina glutamová	ND		1,611	0,0517	1,611
Glutamin	ND		0,794	0,0363	0,794
Prolin	0,203	0,0121	0,621	0,0294	0,418
Glycin	0,055	0,0024	0,218	0,0094	0,163
Alanin	0,098	0,0065	0,786	0,0739	0,689
Citrulin	ND		0,163	0,0116	0,163
Valin	0,315	0,0221	1,408	0,0554	1,092
Cystein	ND		ND		
Metionin	0,129	0,0107	0,350	0,0261	0,220
Izoleucin	0,103	0,0067	0,258	0,0153	0,155
Leucin	1,013	0,0697	2,934	0,0694	1,921
Tyrozín	0,074	0,0053	0,097	0,0054	0,024
Fenylalanin	0,628	0,0529	2,121	0,1054	1,494
beta-alanin	0,034	0,0022	0,116	0,0062	0,081
beta-aminomáselná kyselina	0,025	0,0018	0,053	0,0047	0,028
gamma-aminomáselná kyselina	0,056	0,0034	0,881	0,0478	0,824
Etanolamin	0,017	0,0015	0,046	0,0018	0,029
Ornitin	0,364	0,0370	0,497	0,0253	0,133
Lyzin	0,155	0,0053	0,412	0,0289	0,257
Histidin	0,137	0,0113	0,275	0,0182	0,138
Arginin	0,028	0,0017	0,063	0,0041	0,035
Suma aminokyselin	3,465		15,202		11,738

Tab. 62. Volné aminokyseliny ve vzorku AC

AC					
Aminokyseliny	1. stanovení		2. stanovení		rozdíl
	Obsah (mg/kg)	Směrodatná odchylka	Obsah (mg/kg)	Směrodatná odchylka	Obsah (mg/kg)
Treonin	ND		0,286	0,0128	0,286
Serin	ND		0,287	0,0174	0,287
Kyselina asparagová	0,026	0,0014	0,725	0,0286	0,699
Asparagin	ND		0,444	0,0335	0,444
Kyselina glutamová	ND		2,333	0,1760	2,333
Glutamin	ND		0,694	0,0324	0,694
Prolin	0,126	0,0043	0,347	0,0253	0,221
Glycin	0,031	0,0012	0,144	0,0078	0,113
Alanin	0,065	0,0044	0,293	0,0302	0,228
Citrulin	ND		0,173	0,0137	0,173
Valin	0,195	0,0204	1,127	0,0310	0,932
Cystein	ND		ND		
Metionin	0,070	0,0049	0,229	0,0096	0,159
Izoleucin	0,060	0,0025	0,182	0,0190	0,122
Leucin	0,507	0,0240	2,212	0,0226	1,705
Tyrozín	0,168	0,0134	0,287	0,0184	0,119
Fenylalanin	0,444	0,0100	1,745	0,1283	1,301
beta-alanin	0,040	0,0028	0,128	0,0112	0,088
beta-aminomáselná kyselina	0,033	0,0022	0,098	0,0061	0,065
gamma-aminomáselná kyselina	0,055	0,0044	0,116	0,0043	0,061
Etanolamin	0,018	0,0017	0,113	0,0066	0,096
Ornitin	0,201	0,0090	0,722	0,0436	0,521
Lyzin	0,187	0,0083	0,540	0,0257	0,353
Histidin	0,098	0,0033	0,161	0,0117	0,063
Arginin	0,056	0,0045	0,087	0,0045	0,032
Suma aminokyselin	2,377		13,473		11,095

Tab. 63. Volné aminokyseliny ve vzorku KONT

KONT					
Aminokyseliny	1. stanovení		2. stanovení		rozdíl
	Obsah (mg/kg)	Směrodatná odchylka	Obsah (mg/kg)	Směrodatná odchylka	Obsah (mg/kg)
Treonin	ND		0,306	0,0104	0,306
Serin	ND		0,316	0,0195	0,316
Kyselina asparagová	ND		0,250	0,0142	0,250
Asparagin	ND		0,855	0,0393	0,855
Kyselina glutamová	ND		2,344	0,1057	2,344
Glutamin	ND		0,774	0,0608	0,774
Prolin	0,147	0,0124	0,382	0,0274	0,235
Glycin	0,039	0,0015	0,162	0,0093	0,123
Alanin	0,099	0,0032	0,315	0,0117	0,217
Citrulin	ND		0,141	0,0101	0,141
Valin	0,314	0,0188	1,119	0,1125	0,805
Cystein	ND		ND		
Metionin	0,104	0,0057	ND		-0,104
Izoleucin	0,093	0,0051	0,215	0,0172	0,122
Leucin	0,897	0,0505	2,347	0,1044	1,450
Tyrozín	0,248	0,0176	0,221	0,0131	-0,027
Fenylalanin	0,678	0,0367	1,705	0,0782	1,028
beta-alanin	0,049	0,0018	0,128	0,0086	0,079
beta-aminomáselná kyselina	0,033	0,0010	0,075	0,0077	0,042
gamma-aminomáselná kyselina	0,046	0,0036	0,041	0,0018	-0,005
Etanolamin	0,023	0,0019	0,103	0,0062	0,080
Ornitin	ND		0,594	0,0418	0,594
Lyzin	0,086	0,0036	0,234	0,0111	0,149
Histidin	0,122	0,0089	0,190	0,0141	0,068
Arginin	0,060	0,0031	0,114	0,0022	0,054
Suma aminokyselin	3,038		13,199		10,161

Tab. 64. Biogenní aminy ve vzorku BIF

BIF					
	1. stanovení		2. stanovení		rozdíl
Biogenní aminy	Obsah (mg/kg)	Směrodatná odchylka	Obsah (mg/kg)	Směrodatná odchylka	Obsah (mg/kg)
Histamin	ND		ND		
Tyramin	64,16	0,692	186,38	3,408	122,22
Putrescin	7,09	0,212	155,95	4,674	148,86
Kadaverin	167,55	7,553	264,19	4,505	96,64
Agmatin	ND		ND		
Spermidin	ND		ND		
Spermin	ND		ND		

Tab. 65. Biogenní aminy ve vzorku AC

AC					
	1. stanovení		2. stanovení		rozdíl
Biogenní aminy	Obsah (mg/kg)	Směrodatná odchylka	Obsah (mg/kg)	Směrodatná odchylka	Obsah (mg/kg)
Histamin	ND		ND		
Tyramin	25,40	0,415	57,09	0,794	31,69
Putrescin	1,97	0,058	31,29	1,657	29,32
Kadaverin	63,99	0,993	110,37	3,142	46,38
Agmatin	ND		ND		
Spermidin	ND		ND		
Spermin	ND		ND		

Tab. 66. Biogenní aminy ve vzorku KONT

KONT					
	1. stanovení		2. stanovení		rozdíl
Biogenní aminy	Obsah (mg/kg)	Směrodatná odchylka	Obsah (mg/kg)	Směrodatná odchylka	Obsah (mg/kg)
Histamin	ND		ND		
Tyramin	27,76	0,661	112,61	2,595	84,85
Putrescin	5,26	0,320	75,28	3,982	70,02
Kadaverin	163,96	4,119	219,83	7,284	55,87
Agmatin	ND		ND		
Spermidin	ND		ND		
Spermin	ND		ND		

3.5.2 Diskuse

Biogenní aminy jsou nízkomolekulární organické látky, s alifatickou (putrescin, kadaverin, spermin, spermidin), aromatickou (tyramin, fenyethylamin) nebo heterocyklickou (histamin, tryptamin) strukturou, které se vytváří dekarboxylací aminokyselin [30]. Patří mezi důležité dusíkaté sloučeniny biologického významu nacházející se v rostlinných, mikrobiálních a živočišných buňkách. Mohou být detekovány jak v surovinách, tak ve zpracovaných potravinách. V potravinářství se nejčastěji uvádí ve spojitosti s kažením a fermentačními procesy [31]. Po rybách jsou sýry nejčastější potravinou spojovanou s otravami biogenními aminy [30]. Ve vzorcích sýrů nalezený tyramin vzniká činností tyrosindekarboxylasy z tyrosinu, dekarboxylací argininu vzniká putrescin a z dekarboxylací lysinu působením lysindekarboxylasy vzniká kadaverin [32].

Výsledky stanovení volných aminokyselin ve 2. týdnu zrání a na konci zrání (6. týden) byly srovnány. Porovnáním bylo zjištěno, že u všech třech vzorků dochází ke zvýšení obsahu volných aminokyselin. To odpovídá normálnímu průběhu zrání, při kterém mléčné bakterie štěpí část bílkovin právě až na aminokyseliny. Rozdíly v obsahu aminokyselin jsou mezi vzorky minimální. Proto lze konstatovat, že přidavek probiotických kultur nemá výrazný vliv na tvorbu aminokyselin při zrání sýrů.

Stanovením biogenních aminů ve vzorcích sýrů bylo zjištěno, že ve všech třech vzorcích se vyskytoval tyramin, putrescin a kadaverin. Srovnáním množství uvedených biogenních aminů ve vzorcích sýrů s přidavkem probiotických kultur a v kontrolním vzorku bylo zjištěno, že přítomnost bakterie *Bifidobacterium bifidum* způsobuje zvýšení tvorby biogenních aminů, zatímco přidavek bakterie *Lactobacillus acidophilus* naopak způsobuje snížení tvorby biogenních aminů v porovnání s kontrolním vzorkem.

Obsah tyraminu ve všech třech vzorcích je poměrně nízký a zdaleka nepřekračuje toxikologický limit 800 mg/kg. Putrescin a kadaverin, které byly také stanoveny ve vzorcích sýrů samy o sobě nemají negativní zdravotní vliv [33], takže je možno tvrdit, že přidavek probiotických kultur neovlivňuje obsah biogenních aminů tak, aby mohlo dojít k intoxikaci organismu.

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo sledování účinků přidavku probiotických kultur *Bifidobacterium bifidum* a *Lactobacillus acidophilus* do polotvrdých sýrů eidamského typu. Bylo usilováno o co nejkompexnější zhodnocení účinků probiotik na sýry, proto byly prováděny pravidelné analýzy po dobu 6 týdnů zrání a následně 12 týdnů skladování. Předmětem prováděných analýz byl mikrobiologický rozbor vzorků, sledování organoleptických vlastností senzoricou analýzou, sledování změn pH a vlhkosti, dále také případná produkce biogenních aminů probiotickými kulturami v daných sýrech.

Základním krokem byla výroba sýrů. Byly vyrobeny celkem tři vzorky sýrů a to eidamský blok s přidavkem probiotické kultury *Bifidobacterium bifidum*, eidamský blok s přidavkem kultury *Lactobacillus acidophilus* a eidamský blok bez přidavku probiotických kultur, který sloužil jako kontrolní vzorek. U těchto vzorků byly poté provedeny zmíněné analýzy.

Mikrobiologickou analýzou bylo ověřeno, že obě probiotické kultury jsou schopny přežít po celou dobu zrání i skladování a přežívají i na konci skladování v počtu převyšujícím terapeutické minimum.

Senzorická analýza prokázala jednoznačně pozitivní vliv přidavku kultury *Bifidobacterium bifidum* na organoleptické vlastnosti sýru. Vzorek s touto kulturou byl velmi dobře hodnocen ve všech hodnocených znacích a celkově byl nejvíce preferovaným vzorkem. Přídavek kultury *Lactobacillus acidophilus* je z hlediska organoleptických vlastností sporný. Ve většině znaků i v hodnocení preferencí byl celkově hodnocen jako nejméně dobrý. Toto hodnocení bylo způsobeno výraznou kyselostí, kterou způsobovaly přidané laktobacily. Avšak je nutno konstatovat, že při každé senzoricke analýze se našla část hodnotitelů, kterou organoleptické vlastnosti daného vzorku nadchly. Z toho důvodu lze usoudit, že i tento sýr by si mohl najít svůj okruh spotřebitelů.

Při stanovení pH bylo zjištěno, že přídavek kultury *Lactobacillus acidophilus*, oproti jiným vzorkům, snižuje pH sýru na začátku zrání. V dalších týdnech už však probíhaly změny pH stejně u všech vzorků.

Vyhodnocením výsledků vlhkosti sýrů bylo prokázáno, že na vlhkost nemá vliv přídavek probiotických kultur, ale pouze použitý obalový materiál.

Poslední analýzou bylo stanovení biogenních aminů, kde bylo cílem prokázat zdravotní nezávadnost sýrů vyrobených s přidavkem probiotické kultury. Výsledky ukazují, že kultura *Bifidobacterium bifidum* sice mírně zvyšuje tvorbu biogenních aminů v sýru, ale i tak se obsah biogenních aminů pohybuje v hodnotách, jež by neměly ohrozit zdraví lidského organismu.

Po shrnutí výsledků všech analýz je zřejmé, že přidavek kultury *Bifidobacterium bifidum* zlepšuje vlastnosti polotvrdých sýrů, proto má tento sýr předpoklady stát se velmi oblíbeným výrobkem. Přídavek kultury *Lactobacillus acidophilus* sice výrazněji mění vlastnosti sýru, tedy především jej výrazně okyseluje, ale i přesto by si mohl najít své spokojené spotřebitele.

Z dosažených poznatků lze soudit, že výroba sýrů s probiotickými kulturami by mohla mít v potravinářském průmyslu budoucnost.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ZBOŘIL, V. *Mikroflóra trávicího traktu klinické souvislosti*. Grada publishing, a.s., 2005.
- [2] VAUGHAN, E. E., MOLLET, B. *Probiotics in the new millenium*. Nahrung 43 (1999) Nr. 3. 5. 148-153.
- [3] KVASNIČKOVÁ, A. *Sacharidy pro funkční potraviny: probiotika – prebiotika – symbiotika*. ÚZPI Praha, 2000
- [4] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Academia Praha, 2002.
- [5] www.valosun.cz
- [6] TEPLÝ, M., A KOL. *Čisté mlékařské kultury*. SNTL Praha, 1984.
- [7] MACH, I. *Doplňky stravy*. Svoboda Servis Praha, 2004.
- [8] VELÍŠEK, J., *Chemie potravin 3*. OSSIS Tábor, 1999.
- [9] VINDEROLA, C., G., MOCCHIUTTI, P. REINHEIMER, J., A. *Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products*. American dairy science association, 2002, J. Dairy Sci. 85: 721-729.
- [10] HRABĚ, J., BŘEZINA, P., VALÁŠEK, P. *Technologie výroby potravin živočišného původu*. UTB Zlín, 2006.
- [11] ŽÍŽKA, B., MARTINKOVÁ, Z. *Mikrobiologie pro 4. ročník SPŠ mlékárenské*. SNTL, 1990.
- [12] GÖRNER, F., VALÍK, L. *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*. Malé centrum Bratislava, 2004.
- [13] KODÍČEK, M. *Biochemické pojmy: výkladový slovník*. VŠCHT Praha, 2004.
- [14] KÁŠ, V. *Zemědělská mikrobiologie*. SZN Praha, 1964.
- [15] http://mail.gvm.cz/people/soukalova/vyuka/prirodni_latky/Metabolismus%20-%20sacharidy.pdf

- [16] POKORNÁ, L. *Sbírka mlékařských kultur Laktoflora '91*. Milcom-servis a.s. Praha, 1991.
- [17] Sbírka zákonů ČR, Vyhláška Ministerstva zemědělství ČR č.77/2003 sb.
- [18] OLŠANSKÝ, Č., KNĚZ, V. *Výroba tvrdých sýrů eidamského a ementálského typu*. ČAZ – VÚPP Praha, 1971.
- [19] PROKŠ, J. *Mlékařství Díl I*. SNTL Praha, 1964.
- [20] KNĚZ, V., A KOL. *Mlékárenská příručka*. SNTL Praha, 1974.
- [21] TEPLÝ, M., A KOL. *Výroba sýrů, kaseinů a kaseinátů*. SNTL Praha, 1985.
- [22] TEPLÝ, M., A KOL. *Nové směry v technice a technologii mlékárenského průmyslu*. SNTL Praha, 1980.
- [23] PROKŠ, J. *Mlékařství Díl II*. SNTL Praha, 1965.
- [24] POKORNÝ, J., DAVÍDEK, J. *Analýza potravin. Část B, Sensorická analýza*. VŠCHT, 1990.
- [25] KŘÍŽ, O., BUŇKA, F., HRABĚ, J. *Sensorická analýza potravin II.: statistické metody*. UTB Zlín, 2007.
- [26] BUŇKA, F., HRABĚ, J., VOSPĚL, B. *Sensorická analýza potravin I*. UTB Zlín, 2008.
- [27] POKORNÝ, J. *Metody sensorické analýzy potravin a stanovení sensorické jakosti*. ÚZPI Praha, 1997.
- [28] BURDYCHOVÁ, R., SLÁDKOVÁ, P. *Mikrobiologická analýza potravin*. MZLU Brno, 2007.
- [29] HÁLKOVÁ, J., RUMÍŠKOVÁ, M., RIEGLOVÁ, J. *Analýza potravin*. Újezd u Brna: Ivan Straka, 2000.
- [30] KOMPRDA, T., SMĚLÁ, D., NOVICKÁ, K. *Content and distribution of biogenic amines in Dutch-type hard cheese*. Food chemistry 102 (2007) 129-137.
- [31] SILLA SANTOS, M., H. *Biogenic amines: their importance in foods*. International journal of food microbiology 29 (1996) 213-231.

- [32] VELÍŠEK, J., *Chemie potravin 3*. OSSIS Tábor, 1999.
- [33] ÖNAL, A. *A review: Current analytical methods for determination of biogenic amines in foods*. Food Chemistry 103 (2007) 1475-1486.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

- BIF Sýr s přídavkem kultury *Bifidobacterium bifidum*
- AC Sýr s přídavkem kultury *Lactobacillus acidophilus*
- KONT Sýr bez přídavku probiotických kultur, sloužící jako kontrolní vzorek
- G⁺ Grampozitivní bakterie
- G⁻ Gramnegativní bakterie

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Schéma průběhu mléčného kvašení [15].	27
Obr. 2. Závislost počtu bakterií <i>Bifidobacterium bifidum</i> na délce zrání a skladování	63
Obr. 3. Vzorek BIF po kultivaci na půdě MRSC+cystein	64
Obr. 4. Vzorek KONT po kultivaci na půdě MRSC.....	64
Obr. 5. Závislost počtu bakterií <i>Lactobacillus acidophilus</i> na délce zrání a skladování	65
Obr. 6. Vzorek AC po kultivaci na půdě MRSC	66
Obr. 7. Vzorek BIF po kultivaci na půdě M17	67
Obr. 8. Vzorek AC po kultivaci na půdě M17.....	68
Obr. 9. Vzorek KONT po kultivaci na půdě M17	69
Obr. 10. Závislost počtu mléčných bakterií na délce zrání a skladování, půda M17.....	69
Obr. 11. Závislost pH na době zrání a skladování	90

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Průměrné složení kravského mléka [20]	30
Tab. 2. Klimatické podmínky při zrání sýrů eidamského typu [18]	39
Tab. 3. Počet mléčných bakterií a bakterií <i>Bifidobacterium bifidum</i> , při kultivaci na půdě MRSC+cystein.....	63
Tab. 4. Počet mléčných bakterií a bakterií <i>Lactobacillus acidophilus</i> , při kultivaci na půdě MRSC	65
Tab. 5. Počet mléčných bakterií ve vzorku BIF, při kultivaci na půdě M17	66
Tab. 6. Počet mléčných bakterií ve vzorku AC, při kultivaci na půdě M17.....	67
Tab. 7. Počet mléčných bakterií ve vzorku KONT, při kultivaci na půdě M17	68
Tab. 8. Vyhodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice	72
Tab. 9. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice.....	72
Tab. 10. Vyhodnocení konzistence s použitím stupnice.....	72
Tab. 11. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení konzistence s použitím stupnice.....	73
Tab. 12. Vyhodnocení chuti a vůně s použitím stupnice	73
Tab. 13. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení chuti a vůně s použitím stupnice.....	73
Tab. 14. Vyhodnocení pořadové zkoušky.....	74
Tab. 15. Vyhodnocení testování dvojic pro pořadovou zkoušku.....	74
Tab. 16. Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky	75
Tab. 17. Vyhodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice	75
Tab. 18. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice.....	75
Tab. 19. Vyhodnocení konzistence s použitím stupnice.....	76
Tab. 20. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení konzistence s použitím stupnice.....	76
Tab. 21. Vyhodnocení chuti a vůně s použitím stupnice	77
Tab. 22. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení chuti a vůně s použitím stupnice.....	77
Tab. 23. Vyhodnocení pořadové zkoušky.....	77

Tab. 24. Vyhodnocení testování dvojic pro pořadovou zkoušku.....	78
Tab. 25. Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky	78
Tab. 26. Vyhodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice	79
Tab. 27. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice.....	79
Tab. 28. Vyhodnocení konzistence s použitím stupnice.....	79
Tab. 29. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení konzistence s použitím stupnice.....	80
Tab. 30. Vyhodnocení chuti a vůně s použitím stupnice	80
Tab. 31. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení chuti a vůně s použitím stupnice.....	80
Tab. 32. Vyhodnocení pořadové zkoušky.....	81
Tab. 33. Vyhodnocení testování dvojic pro pořadovou zkoušku.....	81
Tab. 34. Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky	81
Tab. 35. Vyhodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice	82
Tab. 36. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice.....	82
Tab. 37. Vyhodnocení konzistence s použitím stupnice.....	83
Tab. 38. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení konzistence s použitím stupnice.....	83
Tab. 39. Vyhodnocení chuti a vůně s použitím stupnice	83
Tab. 40. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení chuti a vůně s použitím stupnice.....	84
Tab. 41. Vyhodnocení pořadové zkoušky.....	84
Tab. 42. Vyhodnocení testování dvojic pro pořadovou zkoušku.....	84
Tab. 43. Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky	85
Tab. 44. Vyhodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice	85
Tab. 45. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení vzhledu a barvy s použitím stupnice.....	86
Tab. 46. Vyhodnocení konzistence s použitím stupnice.....	86
Tab. 47. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení konzistence s použitím stupnice.....	86

Tab. 48. Vyhodnocení chuti a vůně s použitím stupnice	87
Tab. 49. Vyhodnocení testování dvojic pro hodnocení chuti a vůně s použitím stupnice.....	87
Tab. 50. Vyhodnocení pořadové zkoušky.....	87
Tab. 51. Vyhodnocení testování dvojic pro pořadovou zkoušku.....	88
Tab. 52. Vyhodnocení párové porovnávací zkoušky	88
Tab. 53. Závislost pH na době zrání a skladování	90
Tab. 54. Hodnoty vzorku BIF naměřené při 1. analýze	91
Tab. 55. Hodnoty vzorku BIF naměřené při 2. analýze	91
Tab. 56. Hodnoty vzorku AC naměřené při 1. analýze.....	91
Tab. 57. Hodnoty vzorku AC naměřené při 2. analýze.....	91
Tab. 58. Hodnoty vzorku KONT naměřené při 1. analýze	92
Tab. 59. Hodnoty vzorku KONT naměřené při 2. analýze	92
Tab. 60. Srovnání průměrné vlhkosti vzorků při 1. a 2. analýze	92
Tab. 61. Volné aminokyseliny ve vzorku BIF	94
Tab. 62. Volné aminokyseliny ve vzorku AC.....	95
Tab. 63. Volné aminokyseliny ve vzorku KONT	96
Tab. 64. Biogenní aminy ve vzorku BIF.....	97
Tab. 65. Biogenní aminy ve vzorku AC	97
Tab. 66. Biogenní aminy ve vzorku KONT.....	97

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1. Protokol pro sensorické hodnocení jakosti polotvrdých sýrů - Eidam

Příloha 2. Kategorová jakostní stupnice pro hodnocení eidamského bloku

PŘÍLOHA I:

Hodnocení jakosti polotvrdých sýrů – Eidam

Posuzovatel:

Dne:

Hod:

1. Proved'te hodnocení sensorických znaků: vzhledu a barvy, konzistence, chuti a vůně předložených vzorků Eidamu dle přiložené kombinované (číselně kategorované) stupnice.

Jakost příslušného znaku hodnot'te číselně (odpovídající kategorií)

Kód vzorku	Vzhled a barva	Konzistence	Chuť a vůně
A			
B			
C			

Případně uveďte do poznámky důvody nižšího hodnocení např. slanější chuť, drobná konzistence, mazlavý povrch, apod.

1. Seřad'te vzorky A, B, C dle vlastních preferencí (1- nejlepší, 3- nejhorší)

Kód vzorku	A	B	C
Pořadí vzorku			

2. Proved'te párový preferenční test u následujících vzorků

Který z předložených vzorků je kyselější: A nebo B

Který z předložených vzorků je kyselější: B nebo C

Který z předložených vzorků je kyselější: A nebo C

PŘÍLOHA II:

Kategorová jakostní stupnice pro hodnocení Eidamského bloku

Vzhled a barva

1. Vynikající – suchá, jemná nepoškozená pokožka. Tvar sýru pravidelný. Barva sýru na řezu homogenní, stejnorodá, na řezu krémovitá až nažloutlá, slabě lesklá.
2. Výborná – suchý povrch, nepoškozená pokožka, mírné odchylky tvaru, na povrchu sýru drobné tvarové nerovnosti, zvrásnění, prolisy. Barva sýru krémovitá až žlutá, stále homogenní s mírnými odchylkami od stejnorodého zbarvení.
3. Dobrá – mírné deformace povrchu a tvaru, slabý výskyt nerovností a prolisů. V barvě sýru mírné odchylky od homogenní, krémovité, případně žluté barvy, slabší mramorovitost těsta.
4. Méně dobrá – zřetelnější tvarové deformace, narušení hladkosti a celistvosti povrchu sýru, výraznější povrchové nerovnosti a prolisy. Barva sýru nehomogenní, výskyt mramorování včetně slabšího solného prstence pod pokožkou, barva sýru křídovité bílá, výskyt cizího odstínu od standardní barvy.
5. Nevyhovující – výrazné tvarové deformace, trhliny na povrchu, povrch sýru nehomogenní, výrazné vzhledové vady. Barva sýru nehomogenní, silná mramorovitost, cizí odstíny barvy, křídovité bílá barva, výrazný solný prstenec na okrajích sýru.

Konzistence:

1. Vynikající – jemná, vláčná až roztíratelná, celistvá. Na řezu bez trhlinek, syrovátkových hnízd a vzduchových bublin. Oka velikosti hrášku, čistá, lesklá.
2. Výborná – stále jemná, celistvá, vláčná, připouští se mírně pevnější. Oka s mírnými odchylkami od požadované velikosti. Připouští se zanedbatelné provzdušnění těsta sýru.
3. Dobrá – celistvá, stále vláčná, mírně tužší, mírné provzdušnění, příp. výskyt syrovátkových hnízd (dutinek v těstě), mírná ořechovitost ok.
4. Méně dobrá – tuhá, málo prozřálé těsto, slabě gumovitá až tvarohovitá, kratší, nehomogenní v celé hmotě. Výrazné provzdušnění, trhlínky, syrovátková hnízda. Ořechovitá oka.
5. Nevyhovující – těsto silně provzdušněné, síťovité, krátké až drobné, konzistence tvarohovitá, silně nehomogenní.

Chuť a vůně:

1. Vynikající – čistá, jemně mléčně nakyslá, charakteristická pro Eidam. Chuť i vůně harmonická bez jakýchkoliv cizích pachů a příchutí.
2. Výborná – charakteristicky sýrová, mléčně nakyslá až nasládlá, stále harmonická a čistá.
3. Dobrá – mléčně nakyslá, sýrovitá, mírná disharmonie v důsledku výraznějšího vlivu některého chuťového deskriptoru např. nakyslé chuti, nasládlejší, slabě nahořklé, slanější apod., případně mírně nevýrazná.
4. Méně dobrá – chuť a vůně neharmonická, prázdná, převládají některé dominantní chuti a vůně např. slanější, kyselejší, nahořklá, pálivá, nečistá aj.
5. Nevyhovující – prázdná, netypická, tvarohovitá v důsledku neprozrání sýru, výrazně slaná, pálivá, cizí, zatuchlá, nečistá, žluklá, hnilobná.