



mezioborová integrace výuky zaměřená na rostlinnou biochemii a fytopatologii

CZ.1.07/2.2.00/28.0171

Biotechnologie

4. Fermentační biotechnologie – mléčné kvašení

Marek Petřivalský

Katedra biochemie PŘF UP

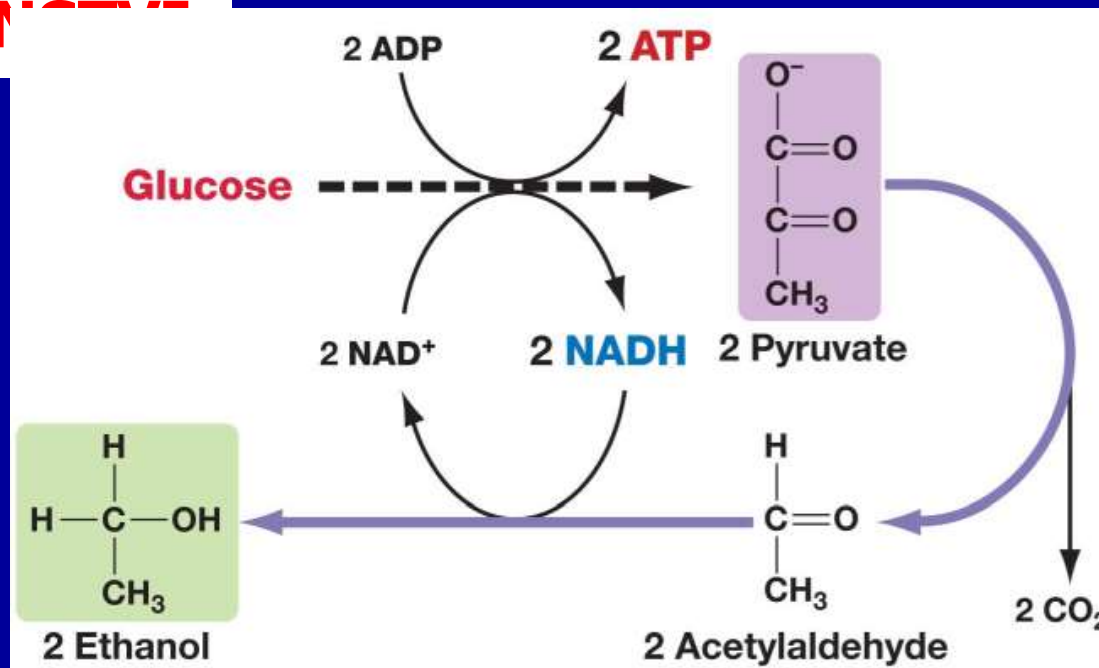


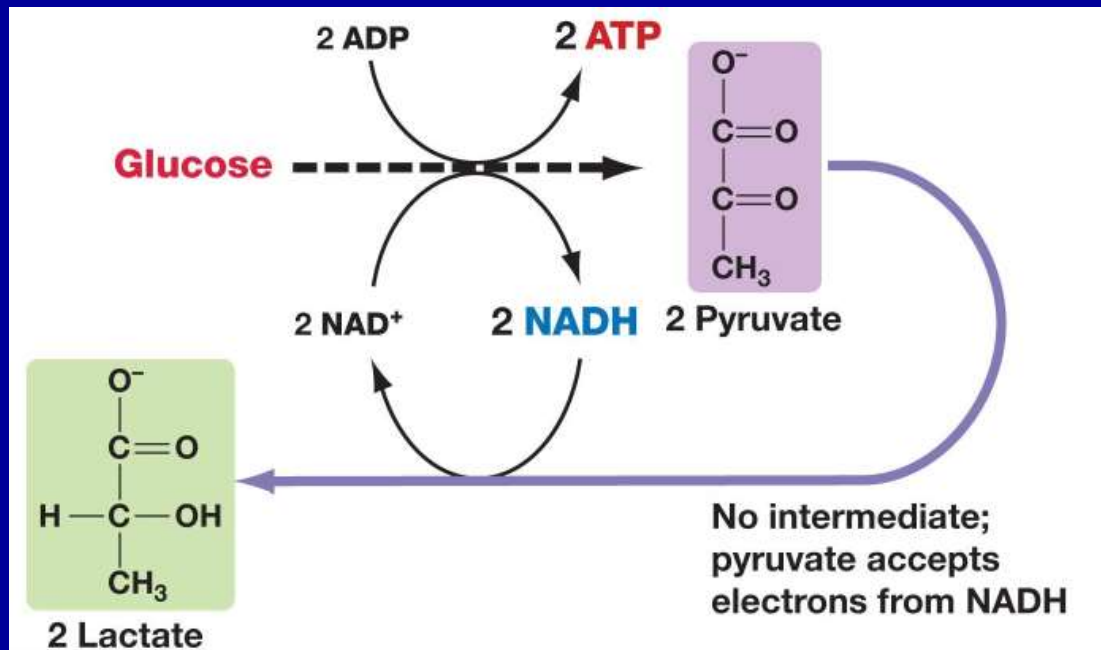
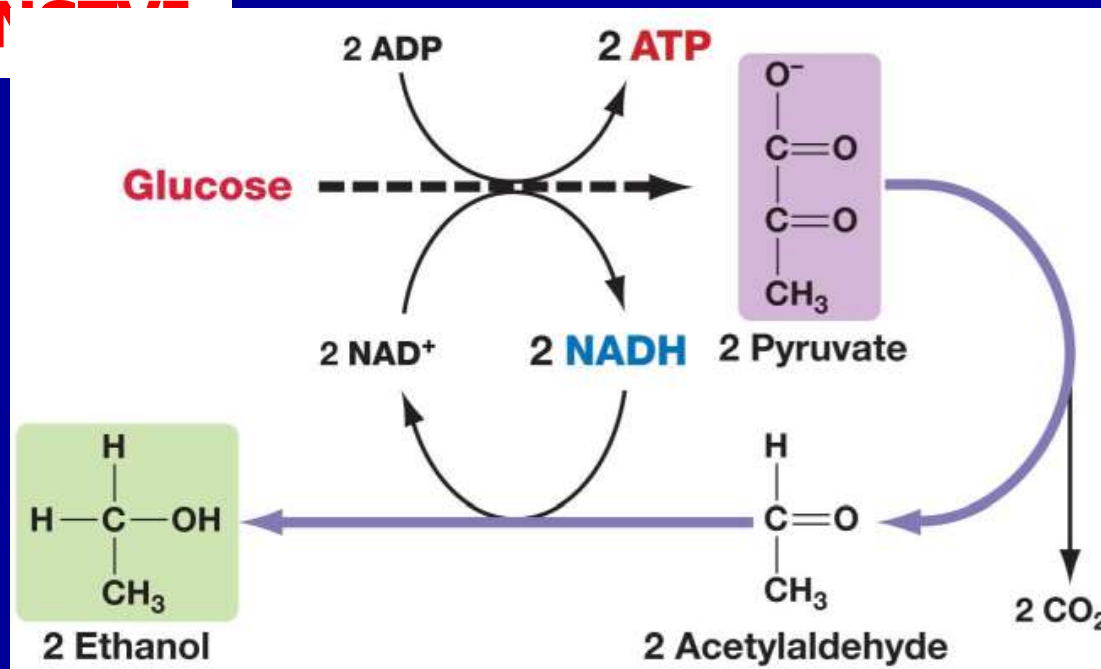
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

FROMAGES DE FRANCE / FRENCH CHEESE

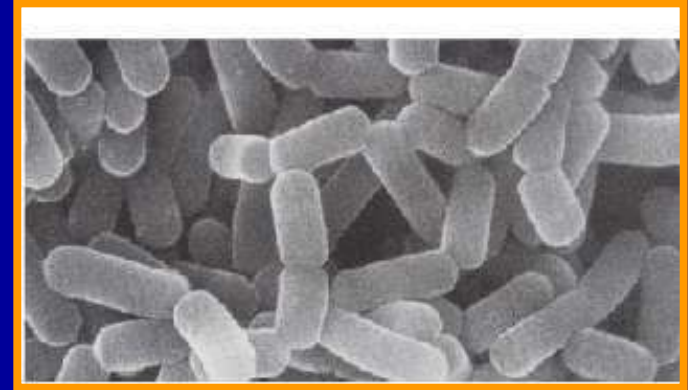


**Mikrobiální biotechnologie
pro zpracování mléka a masa**





MLÉKÁRENSTVÍ

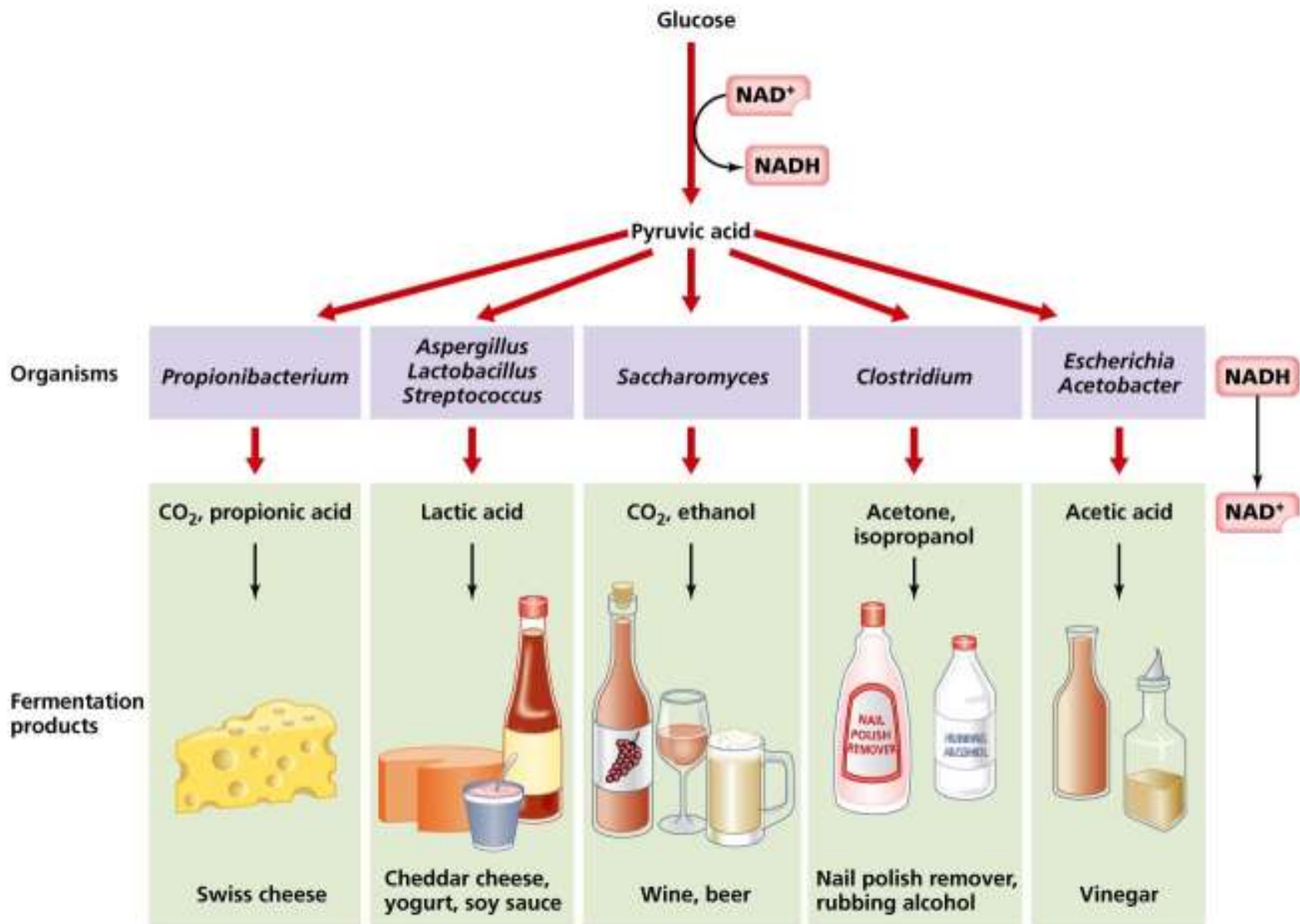


Baktérie mléčného kvašení

= *specifická skupina Gram-positivních eubaktérií*

- vysoká odolnost na **kyselé prostředí** (do pH = 3)
- **nepatogenní** (vyjímečně způsobují hnilobu – *Pediococcus*)
- **fermentují** laktózu a jiné sacharidy na kys. mléčnou
 - = **koagulace** kaseinu
- ovlivnění **chutě** mléčných produktů
- zvýšení **trvanlivosti** (nízké pH + bakteriociny)

MLÉKÁRENSTVÍ



MLÉKARENSTVÍ

Technologie fermentovaných mléčných výrobků:

- jemná sraženina mléčných bílkovin
- delší trvanlivost, rychlá stravitelnost
- kysací kultury ze sterilního mléka a čistých kultur
- anaerobní přeměna laktosy na kys mléčnou, pH 3,8 - 4,6

Rozdělení dle mikrobiálních druhů:

- **MESOFILNÍ** bakterie mléčného kvašení
(smetanový zákys, podmásílí . . .)
- **TERMOFILNÍ** bakterie mléčného kvašení
(jogurt, acidofilní mléko . . .)
- bakterie **mléčného kvašení a kvasinky**
(kefír, kumys . . .)

Rozdělení dle konzistence:

- výrobky s neporušenou sraženinou
- výrobky krémovité konzistence
- výrobky tekuté konzistence



KVAŠENÉ MLÉČNÉ NÁPOJE

- dle substrátu podobnější výrobě vína
- dle charakteru produktu podobnější pivu



KEFÍR = tradiční nápoj Kavkazu

- * kolonie symbiotických bakterií a kvasinek
typický tvar „kvěťáku“

Lactobacillus kefiranofaciens – exopolysacharid **kefiran**

- * **substrát:** živočišná i rostlinná mléka, hydrolyzáty, ovocné šťávy
- * **fermentace laktosy** – přes noc při pokoj. teplotě (12h, 18-22°C)
- * **produkty:** primární - kys. mléčná, etanol (1-2,5%), CO₂
sekundární – kys. listová, kefiran

KVAŠENÉ MLÉČNÉ NÁPOJE



KUMYS = tradiční nápoj asijských kočovníků
mongolsky „airag“

* **tekutá startérová kultura**

Lactobacillus + kvasinky

* **substrát:**

původně kobydí mléko (40% více laktosy) x obtížně dostupné
fortifikované kravské mléko – sacharosa, modifikované syrovátko

* **fermentace laktosy** – několik hodin za třepání

- tradičně ve vaku na koni (25-27°C)

* **produkty:** primární - kys. mléčná, etanol (1-2%), CO₂



Zralé mléko

- **albuminové** (ženské, kobyli, psí, osličí . . .)
- **kaseinové** (kravské, kozí, ovčí, kobyli, sobí . . .)

Složení kravského mléka :

- voda (88 %)
- sušina (12 %)
 - bílkoviny
 - kasein
 - syrovátkové bílkoviny
 - sacharidy
 - laktosa
 - jiné sacharidy
 - lipidy
 - minerální látky – makroelementy, mikroelementy
 - vitamíny - rozpustné ve vodě, rozpustné v tucích
 - pigmenty
 - hormony



Trend: použití definovaných kultur

a) **Homofermentativní** - pouze kys.mléčná

- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* – obvykle sýry
- *Streptococcus thermophilus* (40-45°C) – obvykle jogurty, zahřívané sýry typu Ementál

b) **Homofermentativní** - kys. mléčná a chuťové látky

- *Lactobacillus delbruecki* subsp. *bulgaricus* a *lactis* - jogurty

c) **Heterofermentativní** – kys. mléčná a octová

- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. **cremoris**
– sýry typu Brie a Camembert
- *Bifidobacterium*, *Lactobacillus rhamnosus* : **probiotický**
účinek – obligátní anaeroby GI traktu živočichů

Startovací kultury

d) Baktérie propionového kvašení:

Propionibacterium shermanii - typ **Ementál**

Brevibacterium linens - typ **Limburger**



e) Plísně

Penicillium camemberti - sýry typu Camembert

Penicillium roqueforti - sýry typu Roquefort

Startovací kultury bakterií

Jiné použití:

- * ***Lactobacillus plantarum*** – kvašení zelí, okurky, olivy, siláž
- * ***Leuconostoc* sp.** – jablečnomléčné kvašení ve víně
přeměna kys. jablečné na mléčnou = snížení kyselosti

Biotechnologické pokroky:

- rekombinantní bakterie *Lactobacillus casei*
- kmen odolný proti fágovi A2
(vnesení virového genu do plasmidu bakterie)

Syřidlo – sléz telecího žaludku (4.část) x nestálá produkce

Chymosin – Asp-proteasa z epiteliálních buněk lumenů sléze

Pepsin – kontaminace (degradace proteinů, nežádoucí chutě)

Vznik:

* *preprochymosin*

* *prochymosin*

* **chymosin**



Srážení mléka:

a) **pouze kys. mléčná** = měkký tvaroh

b) **kys.mléčná a chymosin** = tvrdý tvaroh

odštěpení hydrofobního kaseinu od hydrofilní části s postranním sacharidovým řetězcem

velmi specifické = náhrada jinými proteasami neefektivní

Rekombinantní chymosin

1) bakterie – rekombinantní *Escherichia coli*

produkce až 5% celkového proteinu
denaturace a hromadění v inklusních tělískách

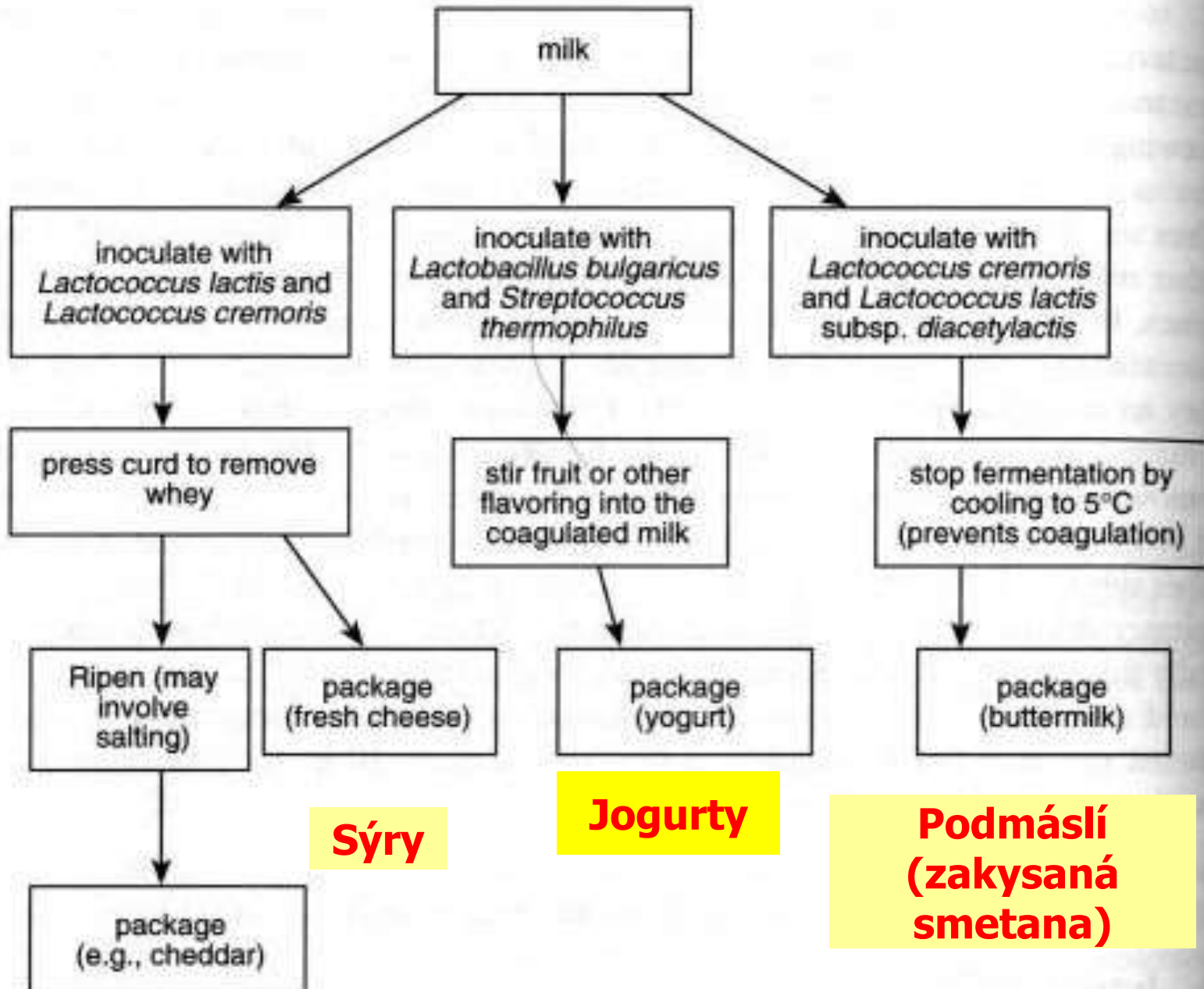
2) kvasinky - YEp (kvasinkový episomální plasmid: 30-50 kopií/buňku) - elektroporace

S. cerevisiae (YEp) – hromadění prochymosinu v buňkách
sekreční vektor se signální sekvencí
= sekrece proteinu x malý výtěžek

Kluyveromyces lactis – vysoce sekreční kvasinka (např. **laktasa**)
úspěšná produkce rekombinantního chymosinu

3) plísně – *Aspergillus nidulans*

1988 – první GMO enzym schválený pro potravinářské použití
FDA: “**dostatečně totožný s telecím chymosinem**” = bez testů toxicity



Sýry

Jogurty

**Podmáslí
(zakysaná
smetana)**

Druhy sýrů podle konsistence:

A) Syrovátkové sýry - Riccota

B) Čerstvé sýry - tvaroh, domácí, smetanové sýry
Mozarella, Feta

C) Zralé sýry

1) Měkké - Brie, Camembert

2) Poloměkké - Gorgonzola

3) Tvrdé - Cheddar, Gruyere

4) Velmi tvrdé - Parmazán

D) Tavené sýry

Sýření



Výroba tvarohu – základní výchozí meziprodukt

- pasterace při 80°C, temperování
- **srážení kys.mléčnou** (16 - 20 h), teplota + pH (Ricotta)

Rozdělení tvarohu:

- měkký (bez tuku)
- tučný
- na strouhání (bez tuku, sušina 32 %)
- na výrobu čerstvých sýrů
- na výrobu tvarohových krémů
- k výrobě olomouckých tvarůžků



VÝROBA SLADKÝCH SÝRŮ

Základní prvky výrobního procesu:

- * **příprava mléka** (odstředění, odtučnění, ...)
- * **pasteurizace** (72°C, 16 sec)
- * **termizace** (60°C, 16 sec - min. 60dnů)
- * **aditiva**: CaCl_2 , NaNO_3 , karoten, peroxid, lipasy
- * **inokulace kulturou** (45-60 min při 25-30°C)
- * **koagulace**: enzymatická

Zpracování čerstvého sýra

- * krájení (synerese), vysychání
- * oddělení syrovátky, omývání, solení
- * zrání



DRUHY SÝRA

MOZZARELLA

= hnětený sýr, sýr „*pasta filata*“

- tradičně vyráběný z **buvolího mléka**
jedinečná chuť
- z kravského mléka „*Fior de latte*“
- uzená mozzarella „*Povola*“
- balí se do syrovátky: udržení vlhkosti
- během zrání (cca 1 měsíc) sýr měkne.



DRUHÝ SÝRA**Olomoucké tvarůžky (*Echte Olmutzer Quargel*)**

- **zakysání** s 2 % termofilního zákysu při 38 - 40°C
- **srážení** 3 - 4 h., promíchávání
- lisování
- přidavek 3 - 4,5 % soli
- uskladnění 1 - 2 týdny, mletí, formování
- sušení 20 – 24°C,
rozvoj **povrchové mikroflory** (*Candida, Torulopsis*)
omytí vodou po dosažení pH 6,4
- aktivace **aerobní mikroflory** (*Brevibacterium linens*)
- zrání 4 - 8 dní při 18 - 22 °C



DRUHY SÝRA

- „plísňové zrající sýry“

BRIE

„pravý Brie“

– z kravského mléka z kraje Seine-et-Marne

CAMEMBERT

- původ 1785 : sedlák z vesnice Camembert
dnes hlavně Normandie
- z nepasterovaného kravského mléka („*au lait cru*“)
- zrání 1 až 2 měsíce,
- čisté bylinkové aroma s příjemnou žampionovou chutí
Penicillium camembertii – klasická kultura
Penicillium candidum

! **nedáváme do chladničky** (zastavení zrání) !



DRUHÝ SÝRA

ROQUEFORT

= **polotvrdý sýr s modrou plísní**

privilegium na výrobu udělené Karlem Velkým

Roquefort-sur-Sulzon

- **nepasterované ovčí mléko**
- zraje v jeskyních v Combalou
- máčí se v solné lázni, propichuje se pro přístup vzduchu a podporu růstu plísně
- **dobu zrání je 3 až 6 měsíců**
- výrazné aroma, vůně po oříškách nebo rozinkách



DRUHÝ SÝRA

GOUDA

= polotvrdý sýr z kravského mléka

- tvoří 50% světové produkce sýra
- tvar tradičního bochníku
- **dohříváním a lisováním** s přírodní tvrdou kůrou
- slaná chuť s ovocnou příchutí a sladkým dozníváním
- zraje od 1 měsíce do 2 let



GOUDA

= polotvrdý sýr z kravského mléka



DRUHY SÝRA

EMENTÁL - již od roku 1293

= polotvrdý, dohřívaný a lisovaný sýr se škrábanou kůrou

- z nepasterovaného kravského mléka

- při dozrávání *Propionibacterium* spp.



- jedním z největších sýrů na světě,

spotřeba 1200 L mléka/ 1 sýr (80kg)

- voní po květinových lukách s příměsí rozinek, ovoce a kouře

- **zraje 4 až 12 měsíců**, dosahuje 45% tučnosti

- oka v hmotě od velikosti třešní až golfových míčků.



DRUHY SÝRA

ČEDAR

= tvrdý, lisovaný sýr

- nejrozšířenější sýr na světě
 - x průmyslová velkovýroba
- z kravského mléka
- jemné nasládlým aroma s ořechovými tóny
- **zraje až 3 roky**
- starší sýry se vyznačují slanou kyselostí



DRUHY SÝRA

PARMEZÁN

= velmi tvrdý sýr

- nepasterované kravské mléko
- nízký obsah tuku je od 28 do 32%
- doba zrání od 1 do 4 let
- nezaměnitelné aroma plné rozinek a sušeného ovoce
- lehce stravitelný (dlouhá doba zrání)



Grand Moravia (sýrárna Orrero)
Tři Dvory u Litovle



Grand Moravia - vaření



Grand Moravia - sýření



Grand Moravia – krájení sýřeniny



Grand Moravia - formování



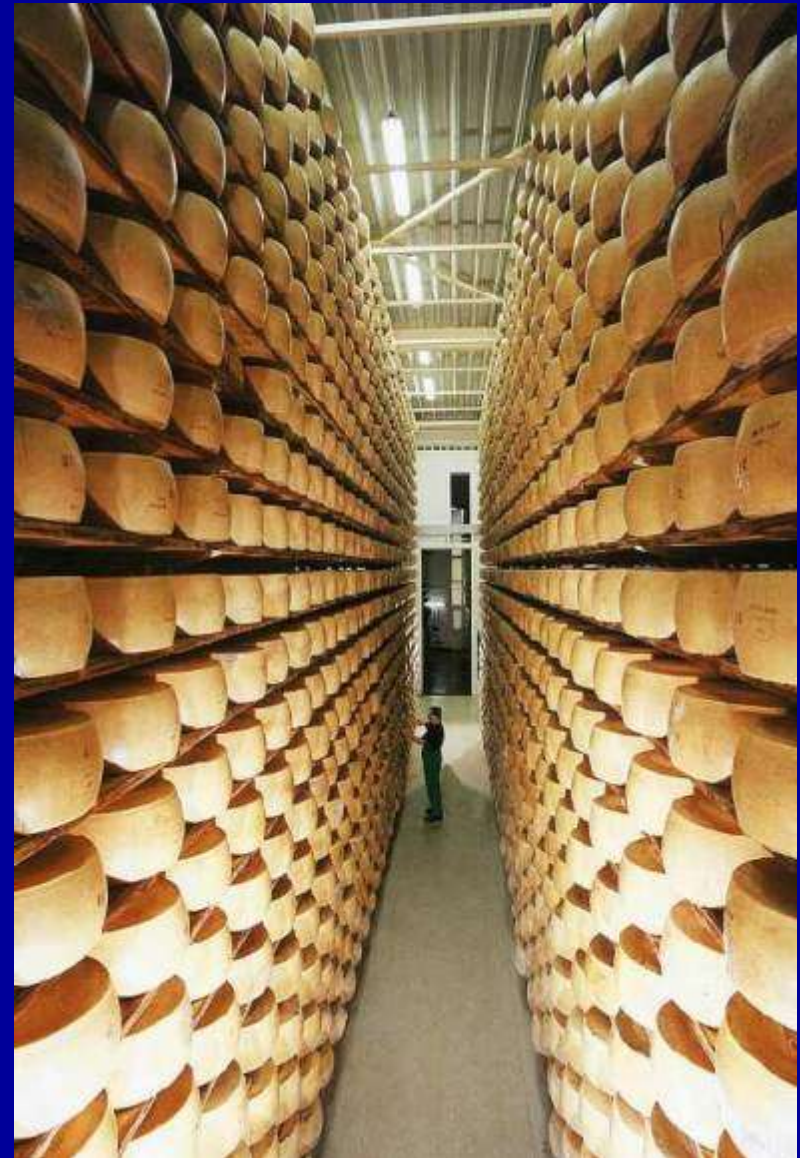
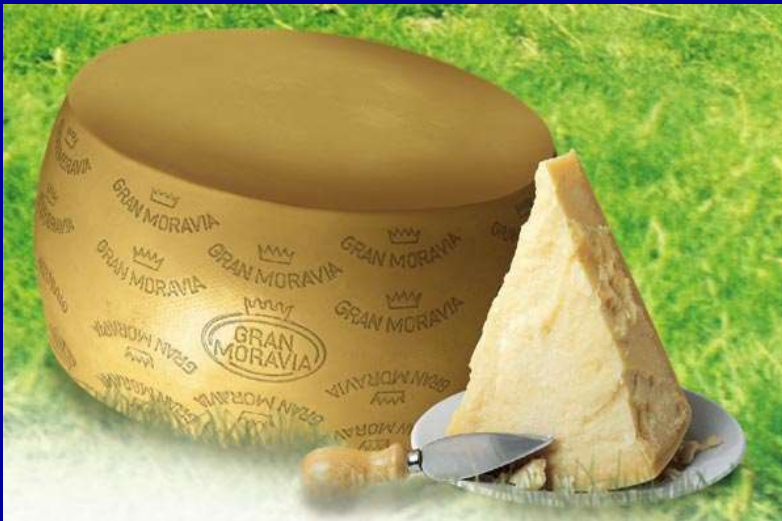
Grand Moravia – formování II



Grand Moravia - solení



Grand Moravia - zrání



Video: [parmezán](#)

Masné výrobky:

1) Netrvanlivé – dušená šunka, párky, měkké salámy, ...

2) Trvanlivé („suché“)

a) tepelně opracované – uzené (např. salám Vysočina)

b) fermentované – konzervované činností mikrobů

Poličan, Herkules (Krahulčí)

Křemešník (Kostelec)

čabajské a uherské klobásy



Výchozí suroviny:

A. Maso

Tuk (sádlo)

B. Soli – NaCl, KCl, NaNO₂, NaNO₃

C. Další ingredience:

„Plnidla“ – škrob, mouka, kasein

Sacharidy – glukosa, fruktosa, sacharosa

Koření – pepř, paprika sladká a pálivá

Kys. askorbová – antioxidant

Okyselovače – **startovací kultura**, kys. citronová

Dle vyhlášky MZe: **zakázány sojové proteiny** u trvanlivých salámů



Startovací kultury

a) bakterie mléčného kvašení

Pediococcus pentosaceus

Lactobacillus plantarum

Lactobacillus curvatum

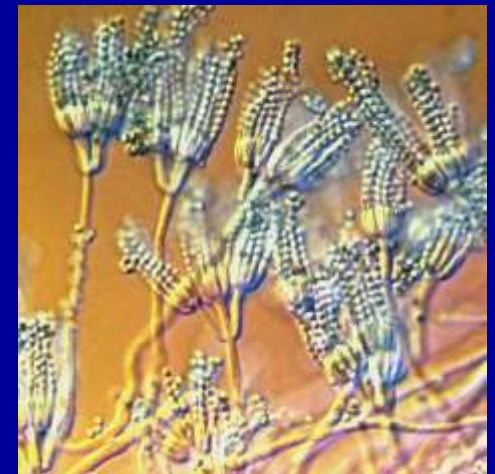
- * požadovaný profil snížení pH
- * **homofermentativní** = produkce hlavně laktát (jemná chuť) a málo acetát
- * kompetice s nežádoucími bakteriemi

b) Micrococcacea

Staphylococcus xylosus (jemnější)

Povrchové plísňové kultury

Penicillium nalgiovense (bílá)



Činnost bakterií mléčného kvašení:

- fermentace cukrů a tvorba laktátu a snížení pH
- snížení vazebné kapacity masa pro vodu = vysoušení
- některé kmeny produkují **bakteriociny** = inhibice patogenů

Činnost zástupců *Micrococcacea*

- **tvorba NO z dusitanu** = přeměna myoglobinu na nitrosomyoglobin
tmavě červená barva
 - **tvorba katalasy** = enzym rozkládající H_2O_2 tvořený jinými mikroby
zvýšená stabilita nitrosomyoglobinu
 - **tvorba aromatických látek**
citlivé na rychlý pokles pH = menší obsah při rychlé fermentaci
- * teplota začíná na +24 °C, po 1 týdnu se snižuje na +18 °C
v dalším období na + 15 až 16 °C
- * Relativní vlhkost vzduchu z počátečních 95% na 85 % po 1 týdnu
v dalším období až na 75 %

Vlastnost

Zbarvení
Stabilita barvy
Vývoj aroma
Vývoj chuti
Nízký redox.potenciál
Konzervace

Micrococcacea

Nitrátreduktasa
Katalasa
Lipáza a proteázy
Spotřeba kyslíku
Nitrátreduktasa
odbourání dusitanů

Baktérie MK

Okyselení

Okyselení

Okyselení

Kompetice

Bakteriocin

Odbourání NO₂



Produkce



„**Jamón Ibérico**“ = sušená šunka

Speciální surovina:

- rasa „**černá prasata**“

extenzivní chov - volný výběh

přirozená strava – cca 450kg žaludů

minimální věk 14 měsíců



„*Jamón Ibérico*“ = sušená šunka

Příprava -3 fáze

A) solení – v chladících komorách pokryté mořskou solí (1den/ 1kg čerstvé váhy)
výsledný produkt není slaný !

B) sušení – pomalé po dobu 8 měsíců
tradičně ve venkovních sušárnách

C) zrání – enzymatické pochody po dobu 18 měsíců
plísňě - tvorba chuti, aroma a textury masa

Složení tuků – cca 55% kys. olejová (1 nenasycená)
= podobnost rostlinných olejům



Příště:

Organické kyseliny

