

Fermentované mléčné produkty

Mléko

- Celková jakost mléka závisí na podmínkách jeho tvorby, získávání a ošetřování v zemědělské prvovýrobě
- Obsahuje potřebné živiny a další látky ve výhodném poměru (bílkoviny, tuky, laktóza, kyselina citronová,, chloridy, fosfáty, soli vápníku, vitaminy A, B, C, D, E, K atd.)
- **Primární mikroflóra** se do mléka před dojením dostává především strukovým kanálem, výjimečně krevním oběhem
- Celkový počet mikroorganismů ve vemeni zdravých krav je nízký (cca $10^2 \cdot \text{ml}^{-1}$). Převažují mikrokoky méně streptokoky a *Corynebacterium bovis*)
- Primární mikroflóra nemá významný vliv na kvalitu mléka. Ta je ovlivněna **sekundární mikroflórou**, tj. kontaminací při dojení a během dalšího zpracování

Mléčné produkty

- Fermentované mléčné nápoje
- Sýry
 - Čerstvé sýry
 - Bílé sýry
 - Měkké sýry
 - Plísňové sýry
 - Sýry s mletou sýřeninou
 - Sýry z nízkodohřívané sýřeniny
 - Sýry z vysokodohřívané sýřeniny
- máslo

Fermentované mléčné nápoje

- **Kysaná mléka** – pasterovaná mléka zaočkovaná základní smetanovou kulturou (*Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus lactis subsp. diacetilactis*)
- Kysnutí trvá 24-48 hodin. V průběhu fermentace vzniká kyselina mléčná, citronová, octová, diacetyl, acetoin a bílkoviny mohou být rozloženy až na volné aminokyseliny
- Vyrábí se s 2% hm.tuku a 3,5% hm.tuku

Fermentované mléčné nápoje

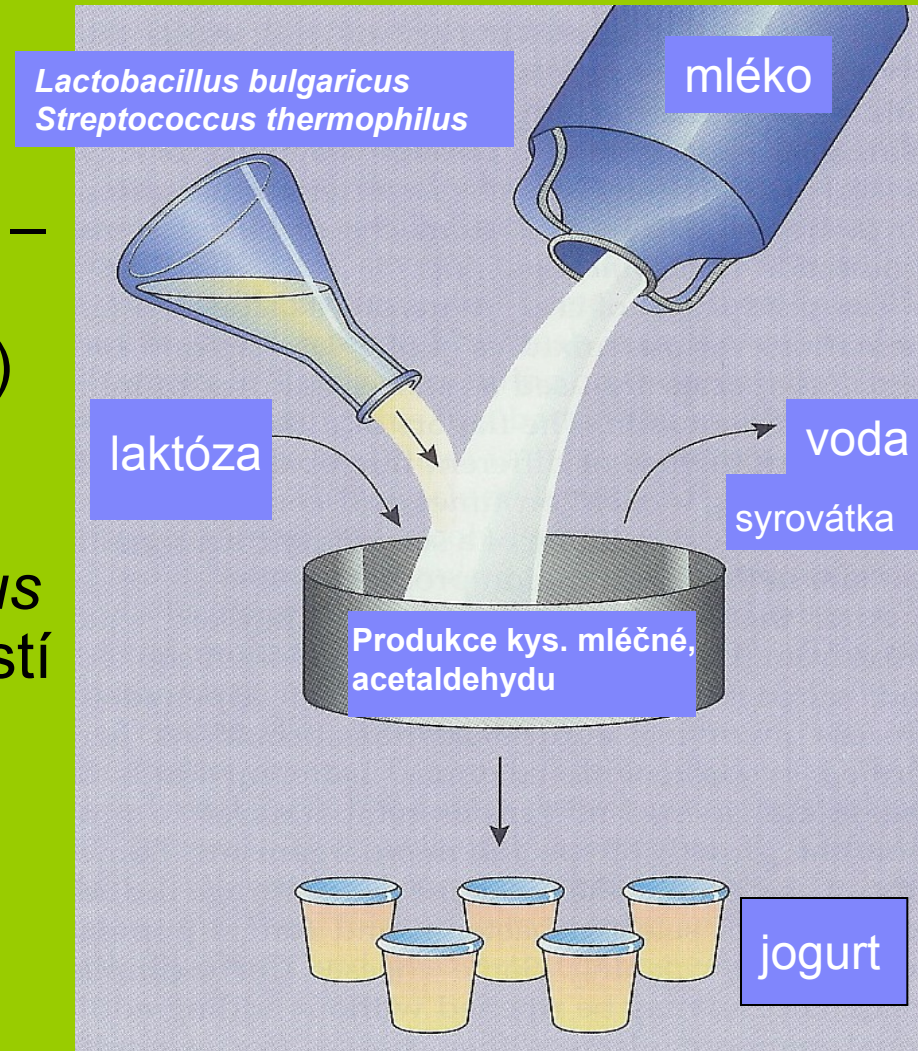
- **Kysané podmásolí a šlehané podmásolí**
- Podmásolí zbylá plazma po stloukání másla.
Obsahuje z hlediska výživy cenné složky
(bílkoviny, fosfolipidy)
- Kysané podmásolí se nechává dozrát s původní kulturou (pro výrobu másla)
- Šlehané podmásolí – k podmásolí se přidá pasterované mléko nebo smetana a základní smetanová kultura. Obsah tuku - cca 1% hm.

Fermentované mléčné nápoje

- **Kysané smetany**
- Pro zakysání se používá základní kultura *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Leuconostoc cremoris*, *Leuconostoc dextranicum* ve větším množství, pro vysoký obsah tuků, který neumožňuje optimální rozvoj kultury
- Kysaná smetana s 12%hm. tuku – zraje 16-20 hodin v nádrži a po ochlazení na 8°C se plní do obalů
- Kysaná lahůdková smetana (40% hm.tuku) – v části smetany se nechá nabobtnat malé množství želatiny, která se vleje současně s kulturou do tanku. Po promíchání se plní do obalů a nechá zrát asi 20 hodin
- Kysaná krémovitá smetana (18%hm.tuku) - směs pro výrobu : plnotučné mléko, smetana, sušené odstředěné mléko, stabilizátor (enzymově upravený bramborový škrob. Zrání 14-19 hodin v obalech nebo zracím tanku)

Fermentované mléčné nápoje

- **Jogurty** – bílé neochucené, ovocné
- Podle rheologických vlastností – pevné (tuhé), krémovité (pastovité), tekuté (nápoje)
- Jogurtová kultura – *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*
Pro zvýšení dietických vlastností jogurtu je možné přidat *Bifidobacterium bifidum* a *Lactobacillus acidophilus*



Fermentované mléčné nápoje

- **Kefír** - kefírová kultura pochází jednak z **Kavkazských hor** a také z opatství v **Tibetu** (tamní kefírová zrna nazývaná *Tibetská houba* jsou drobnější) a jsou snad 5000 let stará.
- Co se Kavkazu týká, tak podle legendy daroval kefír příslušníkům ortodoxní církve Aláhův prorok, Mohamed. Kvůli pověře, že „Prorokova zrna“ ztratí svoji moc a sílu, pokud by se ho zmocnili nevěřící, byl přísně střežen před cizinci a byl předáván z generace na generaci a pokládán za součást kmenového bohatství.
- Obsahuje malé množství etanolu



Kefírová zrna

Fermentované mléčné nápoje

- **Složení keřírové kultury**
- **Lactobacillus** - *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. casei* subsp. *rhamnosus*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. cellobiosus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. fructivorans*, *L. helveticus* subsp. *lactis*, *L. hilgardii*, *L. kefir*, *L. kefiranofaciens*, *L. kefirgranum* sp. nov, *L. parakefir* sp. nov, *L. lactis*, *L. plantarum*
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* var. *Diacetylactis*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Strep. Lactis*, *Enterococcus durans*, *Leuconostoc cremoris*, *Leuc. mesenteroides*

Fermentované mléčné nápoje -

složení kefírové kultury

- **Kvasinky** - *Candida kefir*, *C.pseudotropicalis*, *C. rancens*, *C. tenuis*, *Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus* var. *marxianus*, *K. bulgaricus*, *K. fragilis* / *marxianus*, *Saccharomyces lactis*, *Sacc. unisporus*, *Debaryomyces hansenii*, *Zygosaccharomyces rouxii*
- **Acetobakterie** - *Acetobacter aceti*, *A. rasens*

Fermentované mléčné nápoje

- **Kumys** – **vinum lactis** - je tradičním nápojem kočovníků střední Asie. Připravuje se z kobyliho, velbloudího a oslího mléka
- Kumys je mléčný šumivý alkoholický nápoj (1-3% obj. etanolu, po 3 dnech až 8%), s vínovou chutí, příjemně nakyslý. Je lehce stravitelný, urychluje látkovou výměnu, způsobuje pocení a je močopudný
- Složení mikroflóry je značně nestabilní obsahuje vždy *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus kumys*, *Lactococcus lactis*, *Thermobacterium bulgaricum*, *Saccharomyces kumys*, *Torulopsis kumys* a další
- K zaočkování mléka se používá sedlina starého kumysu



Kumys - složení

- vitamíny B1, B2, B6 a B12.
- vitamínu C obsahuje o něco více než citrón.
- 50 až 60 procent bílkoviny,
- cukru jako mateřské mléko.
- litr kumysu je výživností srovnatelný s 800 gramy dobrého chleba.
- pacientům se podává pouze denní kumys,
- dvoudenní má 110 stupňů kyselosti a pak začíná rychlé octovatět

Mléčné produkty

- Fermentované mléčné nápoje
- **Sýry**
 - Čerstvé sýry
 - Bílé sýry
 - Měkké sýry
 - Plísňové sýry
 - Sýry s mletou sýřeninou
 - Sýry z nízkodohřívané sýřeniny
 - Sýry z vysokodohřívané sýřeniny
- máslo

Sýry

- Příprava tvarohu

- Jednodenní tvaroh

Smetanový zákys – *Streptococcus lactis*,
Streptococcus cremoris, *Lactobacillus casei*
Leuconostoc cremoris, sýřidlo (chymosin +..)

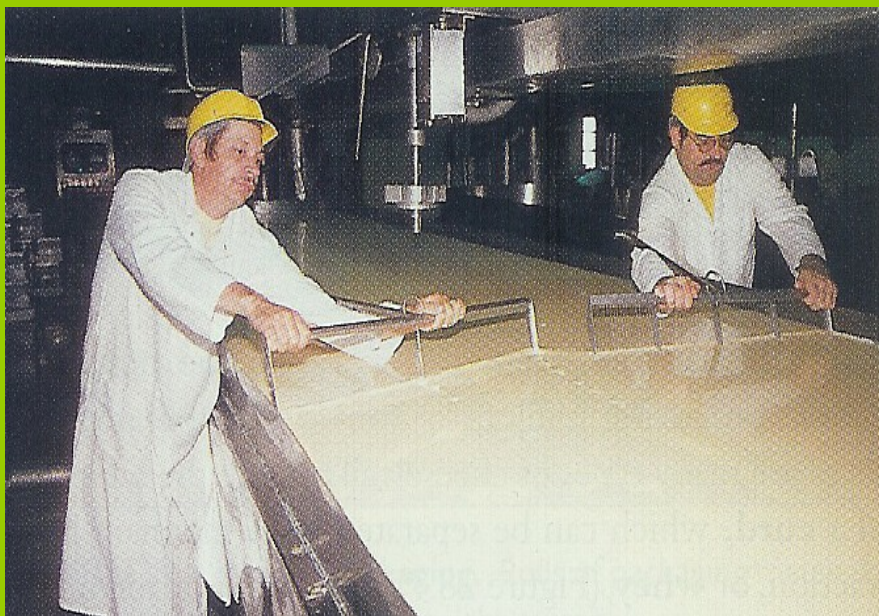
Teplota srážení mléka 20-22°C

- Dvoudenní tvaroh

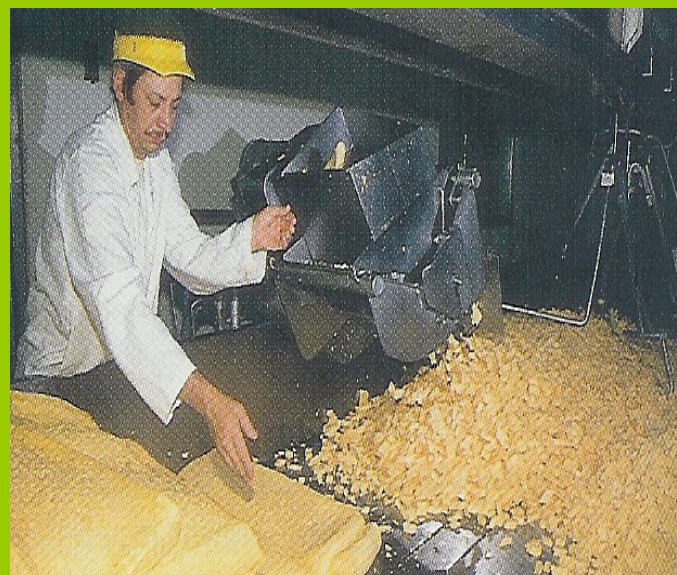
Smetanový zákys – *Streptococcus lactis*,
Streptococcus cremoris, *Leuconostoc*
cremoris.

Teplota srážení 16-18°C.

Tvaroh je jemnější s výraznější chutí



Výroba sýřeniny
(harfování)



Krájení tvarohu

Čerstvé sýry

- **Krémový sýr** – 50% tuku v suš.
(jednodenní nebo dvoudenní tvaroh – tření v kutru –
přídavek cukru + kyseliny citronové – balení do
válečků)
- **Imperial** - 50% tuku v suš.,
Jednodenní nebo dvoudenní tvaroh + NaCl (do
1,5%)
- **Kapiový sýr** - 50% tuku v suš.
Jednodenní nebo dvoudenní tvaroh + smetana
(33%) + kápie + cibule + NaCl + kari koření
- **Smetanové krémy** – 16% tuku v suš.
Jednodenní nebo dvoudenní tvaroh + cukr + (džem,
kakaová hmota, čokoláda + jiné chuťové přísady)
+ ušlehaná smetana

Bílé sýry

- Sýry z ovčího nebo kravského mléka vyráběné na Balkánském poloostrově a Malé Asii. Spotřebovávají se jako čerstvé nebo uchovávané v solném nálevu (i více než rok)
- Obsah tuku v suš. 40-50%, obsah soli 6-8%
- Akawi, Istambuli, balkánský, Jadel

Měkké sýry

- Smetanový zákys+*Lactobacillus casei*+*Streptococcus lactis* var.tae-tte
Desertní 20% t.vs., 1,5-3% NaCl
Kmínový 10% t.vs., 1,5-3% NaCl
Romadúr 20% t.vs., 1,5-3% NaCl
Romadúr 50% t.vs., 1,5-3% NaCl
Pivní 53% t.vs., 4,5-6,5% NaCl
- Doba zrání je obvykle 14 dnů a sýry se obden ošetřují 3% roztokem NaCl

Plísňové sýry

- Patří mezi nejpikantnější sýry. Výběrem vhodného kmene plísně je možné prakticky vytvořit jakoukoliv chuť
- **Sýry s plísní v těstě** (Roquefort, Niva, gorgonzola)
- **Sýry s plísní na povrchu** (Camembert, Hermelín, nalžovský, De Brie)

Plísňové sýry

Sýry s plísní v těstě

- Tento typ sýra byl vyráběn již dobách římských ze syrového ovčího mléka
- U nás se vyráběl ze syrového kravského mléka. Nyní se mléko šetrně pasteruje (72°C, do 30 sekund)
- Zasýření – smetanový zákys + *Penicillium roqueforti* + *Torulopsis sphaerica* + sýřidlo
- Po naformování se sýry 5 dnů solí a po oschnutí „píchají“ (očkování *Penicillium roqueforti* – 1cm² jeden vpich). Další píchání je po deseti dnech zrání při teplotě 12-14°C. Celková doba zrání je 6-8 týdnů

Výroba Nivy

Mlékařství, máslařství, sýrařství – Hojdar-Kněž-Fiala 1947

- „Niva – sýr se zelenou plísní v těstě jest příjemné pikantní chuti s roquefortovým aromatem. Modrozelená plíseň *Penicillium roqueforti* se očkuje přímo do mléka nebo při formování do těsta. Sýří se při 28 – 31° C buď 1 ½ - 2 hodiny a pak krájí a drobí na velikost ořechu s odpočinkem 15-20 minut, nebo se sýří půl hodiny s velmi pomalým a opatrným drobením zrna do velikosti lískového ořechu s častými odpočinky. Po posledním odpočinku, tj. asi 2 – 2 ½ hod. po zasýření se odčerpá část syrovátky a sýřenina se vybere na odkapací stůl na plachty. Po odkapání se přikročí k formování. Tvořítka se narovnají na desky po 4 vedle sebe a sýřenina se vrství do všech najednou. První vrstva se osolí a nebyla-li plíseň přidána do mléka před zasýřením, posype se práškovitou plísní. Rovněž druhá vrstva se posolí a případně naočkuje plísní a tvořítka se doplní třetí vrstvou. Sýry se nechají odkapávat do příštího dne. Často se musí obracet, aby stejnoměrně odkapávaly a dostaly pěkný, válcovitý tvar. Příští dny se solí na sucho 3 až 4 krát. Až do druhé soli zůstávají sýry v tvořítkách. Vysolené sýry se oškrábou a ručně nebo píchacím strojem se propichují. Při prvním píchání má sýr dostat asi 80 vpichů. Propíchané sýry zrají na korýtkách ve vlhkých sklepích při teplotě nejdříve 10 – 12° C, později při 8 až 6° C. Sýry na korýtkách se musí denně o 90 stupňů obrátit, aby udržely tvar. Na korýtkách musí býti sýry narovnané tak, aby se nedotýkaly. Ve vlhkém sklepě se sýry brzy začnou pokrývat červenohnědým mazem. Maz musí býti seškrabán a sýry znovu propíchané. Při tomto píchání stačí už jen 40 – 50 vpichů. Podle délky zrání a tvoření mazu následuje někdy i třetí píchání. Zralé sýry (po 6 až 8 týdnech) se očistí od mazu a balí do staniolu s označením. Na řezu zralého sýra musí být stejnoměrné, modrozelené mramorování od plísně, těsto má být mírně drobivé, ale roztíratelné. Sýry s puklinami v těstě a nestejně nebo slabě prorostlé plísní, jsou vadné. Sýry Niva jsou tvaru válce o průměru 18 cm a výšce 10 cm, váha 1 kusu asi 2 kg“.

Plísňové sýry

Sýry s plísní v těstě



Penicillium roqueforti

Stopy po jehle



Plísňové sýry

Sýry s plísní na povrchu

- Poprvé byl vyroben v roce 1791 v obci Camembert v departmentu l'Orne paní Maria la Fontaine
- V malých mlékárnách se používá mléko kozí+mléko kravské, ve velkých jen mléko kravské
- Zásýření – smetanový zákys – sýřenina se nekrájí, tvořítko se plní postupně – druhý den se sýřenina vyjme z tvořitek a očkuje *Penicillium camemberti* (obvykle ve směsi s *Penicillium candidum*)
- Zrání – 5 dnů při teplotě 15°C – 10-14 dnů zrání při 13-15°C. Sýry zrají na lískách z bambusu nebo s výpletem ze syntetického vlákna (denně se obracejí)

Plísňové sýry

Sýry s plísní na povrchu



Transport sýřeniny
do tvořitek



Tvořítka se sýřeninou na lískách

Stohování lísek



Plísňové sýry

Sýry s plísní na povrchu



AOC Camembert de Normandie

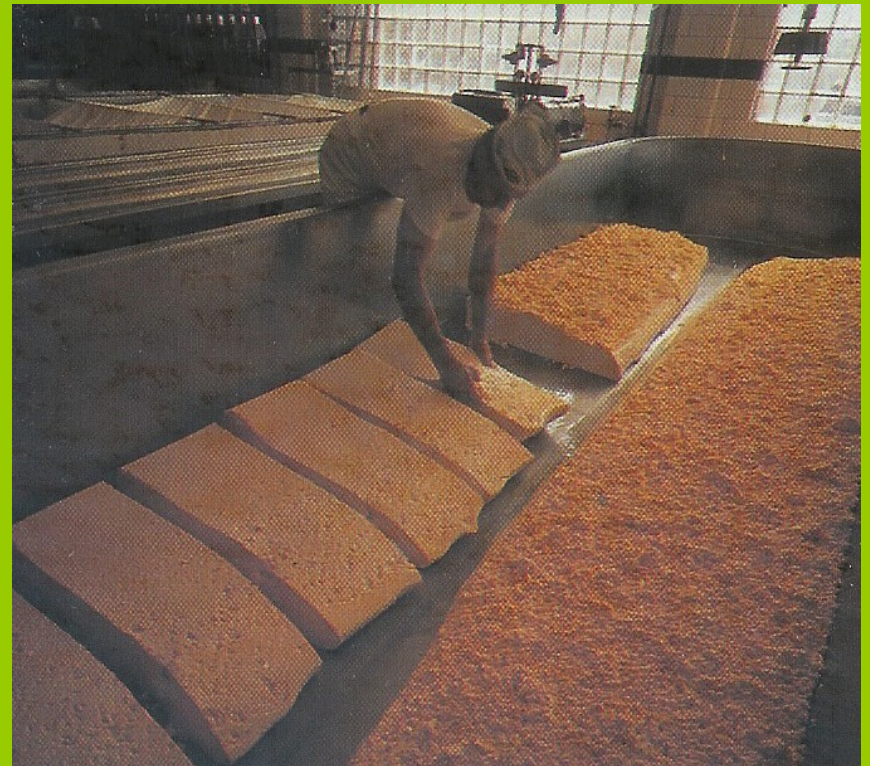


Sýry s mletou sýřeninou - Čedar

- Název podle vesničky Cheddar v Anglii, kde byl poprvé vyroben (1170)
- Původně se vyráběl z kozího nebo ovčího mléka, potom se přešlo na výrobu z kravského mléka
- Zasýření – smetanový zákys + čedarová kultura (*Streptococcus faecium*, *Streptococcus faecalis*) + *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* + sýřidlo
- Během srážení se sýřenina přehřívá na až na 40°C a dosouší při této teplotě asi 70 minut

Sýry s mletou sýřeninou - Čedar

- Sýřenina se při vypouštění syrovátky shrabuje ke stranám, aby mohla volně odtékat (čedarování)
- Rozkrájená sýřenina se několikrát mele a solí
- Plnění do tvořítek a lisování
- Doba zrání 6-18 měsíců
- Váha klasického bochníku je 27,5 kg
- Vedle čedaru se dále vyrábí sýr Otava (ČR), Kaškaval – na balkáně. Vyrábí se z ovčího nebo kravského mléka



Sýry z nízkodohřívané sýřeniny

- Původ technologie výroby těchto sýrů je v severním Holandsku, proto jsou označovány jako sýry holandské
- Patří mezi ně eidamská cihla, eidamská koule (**správný název je Edam**. Po roce 1945 se v ČR už objevuje pouze název EIDAM a asi už nezjistíme proč), gouda, salámový sýr, mini gouda, Javor, Světlan,.....
- Nejvyšší váhu má Javor – 11-13 kg, nejmenší mini gouda 48 dkg

Sýry z nízkodohřívané sýřeniny

- Zásýření – smetanový zákys + *Streptococcus cremoris* + *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis* + *Lactobacillus casei* + sýřidlo
- Technologický postup – srážení mléka – odpouštění syrovátky – dohřívání (u sýrů 30% t.vs.- 33-36°C, 40-45%t.vs. – 36-40°C) – dosoušení – plnění tvořítek – lisování (10 min. 0,1 kp, 10 min 0,2 kp, 10 min 0,3kp) – solení – zrání (ošetřování slanou vodou, pod vazelínou, pod voskem, pod plísní, v cutisinu)
- Doba zrání 3-8 týdnů

Sýry z nízkodohřívané sýřeniny

Eidam

- **EIDAM - známý sýr s nesprávným názvem.**
- Tento sýr získal svůj název od přístavního městečka Edam am IJsselmeer v severním Holandsku, kde se vyráběl již ve 14. století.
- Výroba byla rozvinuta hlavně v provincii Nord Holland (25 km severně od Amsterdamu), ale brzy se rozšířila po celém Holandsku a Edam (nebo Edammer kaas = Edamský sýr)
- Již od roku 1570 se v městě Edam pořádají až do dnešní doby tradiční týdenní sýrové trhy
- Holandsku se Edam vyrábí v několika tvarových variantách: Baby Edam - koule o hmotnosti 0,8 - 1,2 kg, Edam - koule o hmotnosti 1,7 - 2,5 kg, Commisiekaas - Komisní sýr - (dvojitý edam) - koule o hmotnosti 3 - 4,5 kg Middlebare edam - sýr kořeněný kmínem Broodkaas (Brood-Edammer) - hranol o hmotnosti 2,5 - 4,5 kg a v nových sýrárnách se Edam vyrábí i ve formě až 12 kg bloků. Obvykle je sýr se žlutým nebo červeným voskem



Sýry z nízkodohřívané sýřeniny

Eidam



- Muži v historických uniformách a s kloboučkem zabarveným podle příslušnosti k obchodní firmě přenášejí na speciálních nosítkách až 80 koulí sýra, tedy dohromady okolo 200 kg. S edamskými sýry se podobně obchoduje také na proslulém sýrařském trhu v Alkmaaru

Je-li sýr pokrytý černým voskem, znamená to, že je uzrálý alespoň po sedmnáct měsících. Výborně se hodí k vínu Pinot Noir a pochopitelně k pivu.

Sýry z vysokodohříváné sýřeniny

- Patří k nejnáročnějším na kvalitu mléka a technologii výroby
- Původ ementálu je ve Švýcarsku, kde nejlepší se vyráběl v údolí říčky Emmen – proto Emmenthaler Käse. Písemné doklady o výrobě jsou z 15. století
- Původně se vyráběly sýry malé a později se jejich velikost zvětšovala. Nyní, aby ve Švýcarsku se mohl sýr označit jako ementálský musí vážit nejméně 70 kg (u nás 65 kg). Vyrábějí se i tzv. malé ementály o váze 35-40 kg.
- Představitelem je Ementál, dále pak moravský bochník, Parmezán, Sbrinz, Toporocký sýr, Trapist,....

Sýry z vysokodohříváné sýřeniny

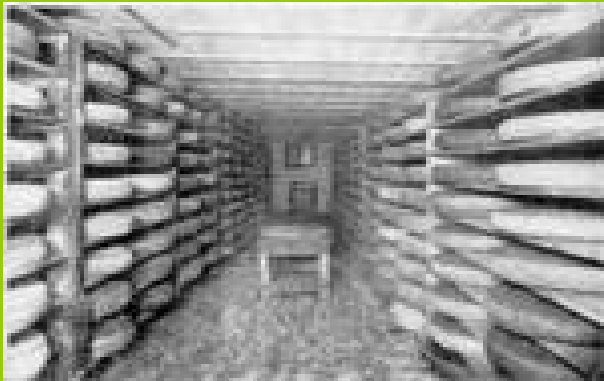
- Zasyření – smetanový zákys + ementálská kultura (*Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*) + propionová kultura (*Propionibacterium freudenreichii*, *Propionibacterium freudenreichii* susp. *shermanii*) + sýřidlo
- Technologický postup – srážení mléka – krájení sýřeniny – harfování - dohřívání na teplotu 53-55°C – dosoušení – plnění tvořítek – lisování (5x při různých tlacích) – solení – zrání (chladný sklep, předkvasný sklep, kvasný sklep, přechodný sklep, zrací sklep – celková délka zrání asi 150 dní) - ošetřování slanou vodou - nyní centrální zrací sklepy nebo zrání ve zvláštních fóliích

Sýry z vysokodohříváné sýřeniny

Ementál



Sýrařské kotle s harfami



Zrací sklep



- Propionová kultura zajišťuje vytváření hladkých ok v sýru a je také zodpovědná za buket – z kyseliny mléčné tvoří kyselinu propionovou, která spolu s Ca^{2+} dává propionan vápenatý, s typickou nasládlou příchutí a aroma
- Vedle typických organizmů jsou také přítomné sporulující bakterie vytvářející těkavé kyseliny dodávající sýrům jemné příchutěové odstíny a kvasinky (*Candida casei*) podílející se na rozkladu kaseinu a tvorbě příchutěové látek

Výroba másla

- Výroba

z kyselé smetany

ze sladké smetany

Výroba másla z kyselé smetany

mléko

odstředění

smetana - úprava

zmáselňování

stloukání

podmáslí

máslo

praní, hnětení, solení

formování

balení

zakysání smetanovým zákysem

(*Streptococcus lactis*, *Str. lactis*
var. *diacetylactis*, *Str. cremoris*,
Leuconostoc cremoris,
Leuconostoc dextranicum
Leuconostoc citrovorum)



Výroba másla z kyselé smetany

- Stloukání se provádí v máselnicích (dřevěných nebo kovových) a získá se máselné zrno
- V dalším kroku se odlučuje máslové zrno od podmáslí (dříve sběračkou)
- Při praní se zrno omývá a chladí
- Hnětením se odlučuje přebytečné podmáslí (voda) a dojde ke spojení jednotlivých zrn
- Dříve se máslo formovalo do šišek a balilo se do křenových listů nebo do různě vyřezávaných dřevěných forem



Výroba másla z kyselého smetany

- *Str. lactis* vytváří kyselinu mléčnou
- *Str. cremoris* a *Str. lactis* var. *diacetylactis* vytvářejí aromatické látky
- *Leuconostoc* tvoří aromatické látky z kyseliny citronové. Významná je tvorba diacetylu
- Produkty metabolismu mikroorganismů působí antioxidačně, mají stabilizující a antimikrobiální efekt
- Pro zvýšení stability a organoleptických vlastností jsou do smetanového zákysu přidávány kvasinky rodu *Saccharomyces* nebo *Torulopsis*

Výroba másla ze sladké smetany

- Postup je stejný jako u výroby z kyselé smetany jen s tím rozdílem, že ke smetaně se přidává **technický zákys** :
 - kyselina mléčná
 - kyselina octová
 - kyselina mravenčí
 - jodičnan draselný
 - aromatické látky (především diacetyl)

Fermentované nápoje

pivo

- Technologie výroby piva – etapy
 - Výroba sladu
 - Výroba mladiny
 - Kvašení a dokvašování piva

Fermentované nápoje

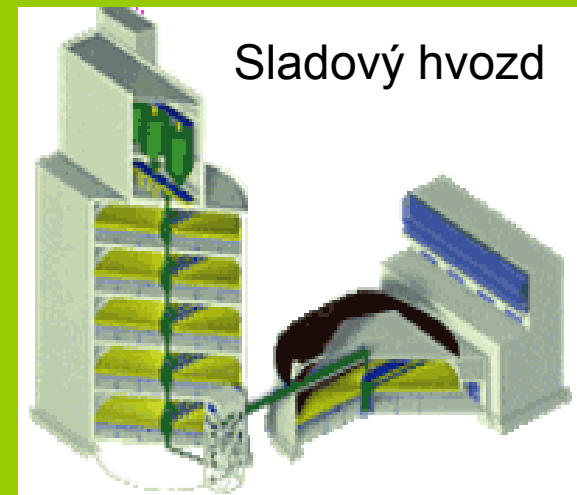
pivo - výroba sladu

- 1.fáze – máčení zrna

- 2.fáze – klíčení

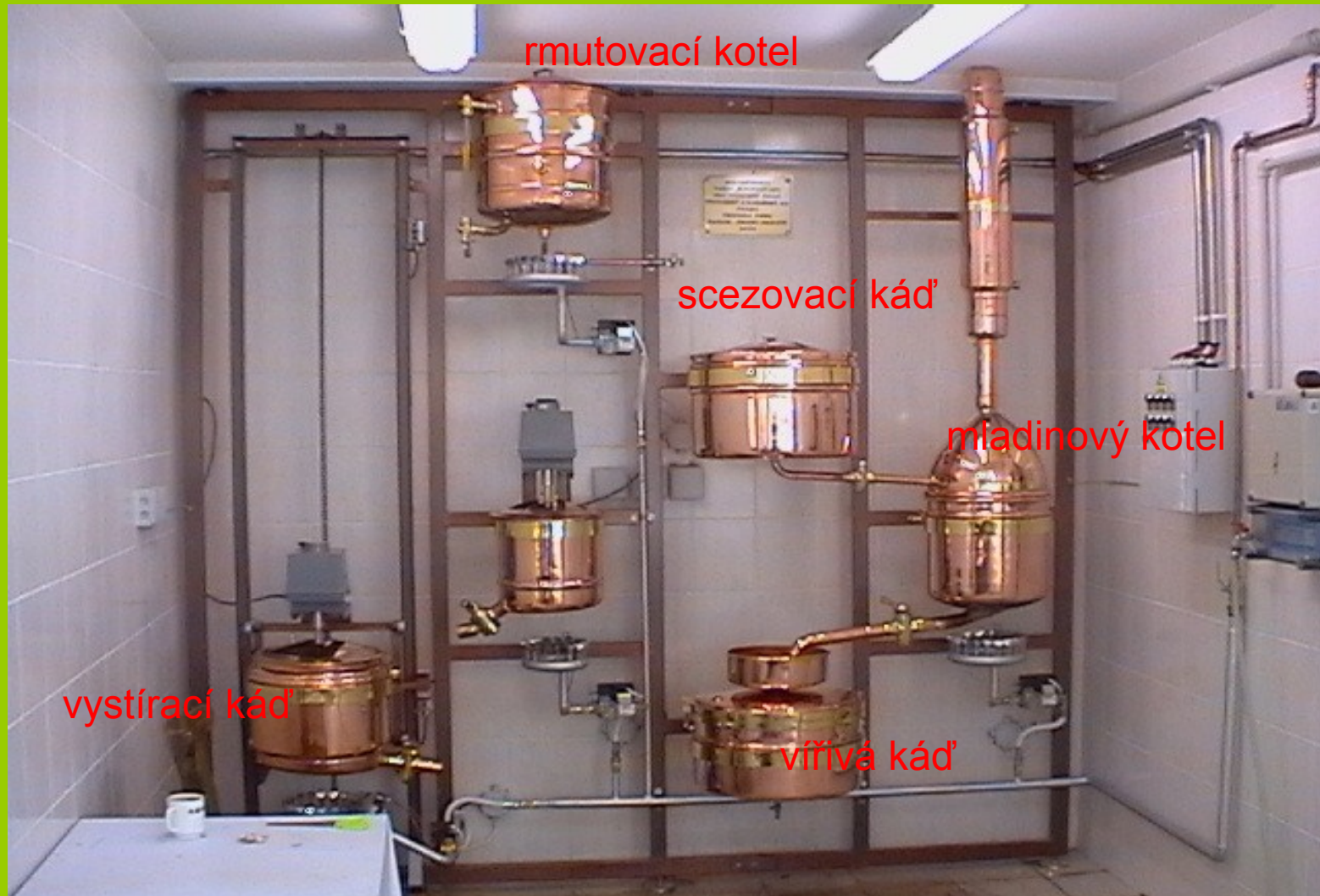


- 3. fáze – hvozďení (příprava světlého a tmavého sladu)



Fermentované nápoje

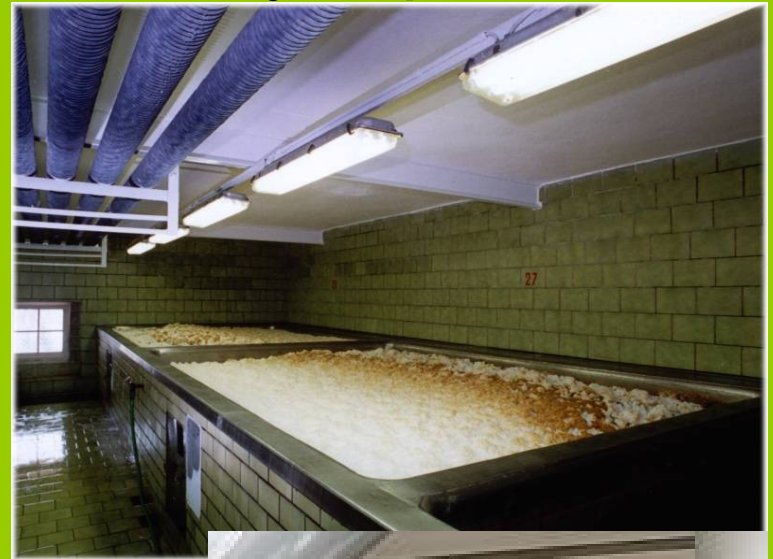
pivo - výroba mladiny



Fermentované nápoje

pivo - kvašení

- Hlavní kvašení probíhá v chlazených prostorách – spilkách
- Kvasné nádoby jsou otevřené – **kádě** betonové, ocelové
- uzavřené – **cyindrisko konické tanky** (CK tanky)



Fermentované nápoje

pivo - kvašení



Bílé kroužky



Hnědé kroužky

Fermentované nápoje

pivo - dokvášení

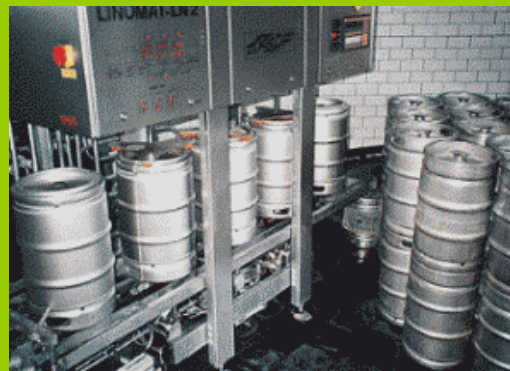
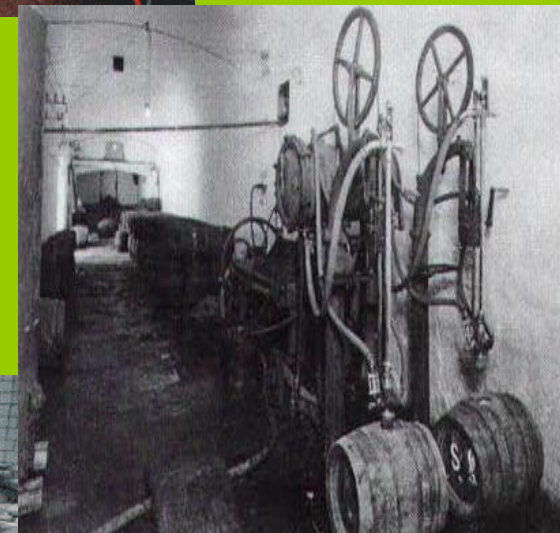
- Dokvašování piva probíhá v ležáckých nádobách (dřevěných nebo kovových) při teplotě 0-5°C
- Klesá zkvasitelný extrakt
- Kvasinky postupně sedimentují a strhávají sebou část vysokomolekulárních dusíkatých a polyfenolových látek
- Pivo se čeří a získává přirozenou koloidní stálost
- Chemickými procesy získává pivo odpovídající chuť a aroma



Fermentované nápoje

pivo – filtrace, expedice

- Po skončeném ležení se pivo filtruje (směs celulózy a azbestu, křemelina, pivovarská filtrační hmota, perlity, filtrační desky,...)
- Stabilizuje – přidáním stabilizátorů
- Stabilizátory - **bentonity a silikagely** (adsorbují dusíkaté látky), **tanin** (sráží dusíkaté látky), **polyamidy** (adsorbují polyfenoly), **enzymové přípravky** (např. papain-štěpí vysokomolekulární dusíkaté látky), **antioxidační preparáty** (kys. askorbová, glukózaoxidáza,..)
- Pasterace filtrovaného a stabilizovaného piva



Fermentované nápoje

pivo - typy piv

- Piva spodně kvašená
 - Plzeňský typ – světlé pivo 10 až 12% (původní koncentrace mladiny), silně chmelené, středně prokvašené (4,4%alkoholu)
 - Dortmundský typ – světlé pivo 13 až 14% (původní koncentrace mladiny), hluboko prokvašené, obsahující až 4,8% alkoholu, mírně hořké
 - Mnichovský typ – tmavé aromatické pivo až 14%, výjimečně 19%, málo chmelené, nasládlé chuti
 - DIA pivo – 8 až 10% s minimálním obsahem zbytkových, tzv.zatěžujících, sacharidů, je hluboko prokvašené se zvýšeným obsahem alkoholu

Fermentované nápoje

pivo - typy piv

- Piva svrchně kvašená (hlavní kvašení při teplotách nad 10°C) – kvasinky většinou r. *Brettanomyces*
 - “Ale“ 11 až 20%, mírně chmelená s velkou pěnivostí a výraznou chutí po sladu
 - “Stout“ a “Porter“ tmavá vysokoprocentní, hluboko prokvašená (6,8% alkoholu), silně chmelená
 - “Lambic“ vysokoprocentní, hluboko prokvašené s typickou chutí (výroba v Bruselu)
 - “Weissbier“ středně prokvašená, středně chmelená s nakyslou chutí (přítomnost mléčných bakterií) výroba Německo
 - Většina piv produkovaných ve Velké Británii a Belgii

Pivu podobné nápoje

- **Pito** – nealkoholický nápoj, při jehož přípravě se vychází z 4% mladiny a zkráceného kvašení. Doba kvašení je volena tak, aby obsah alkoholu nebyl vyšší než 0,59%
- **Ruský kvas** – nápoj z ječného nebo žitného sladu, žitné mouky. Kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Obsahuje asi 0,5% alkoholu
- **Pombe** – vyráběný z prosa činností *Saccharomyces pombe*. Obsahuje asi 0,5% alkoholu. Někdy se označuje jako “africké pivo“

Fermentované nápoje

víno

- Víno se vyrábí prakticky po celém světě. Polovina celkové produkce je v Evropě (Itálie, Španělsko, Portugalsko, Francie, Německo) a asi 20% je z jižní a severní Ameriky
- V XV.století potulný mnich Basilius Valentinus naučil vinaře odstraňovat z vína “faeces vini” (vinné exkrementy) – stáčení vína
- Aktivita Pasteura –výběr kvasinek, pasterace vína
- Mikroorganizmy podílející se na výrobě vína : *Kloeckera appiculata*, *Saccharomyces cerevisiae* var. *Ellipsoideus*, *Saccharomyces oviformis*, *Hanseniaspora guilliermondii*, *Lactobacillus* ssp. (pro jablečno-mléčnou fermentaci – snížení kyselosti vína)

Fermentované nápoje

výroba bílého vína



mletí hroznů

Rmut – rozdrcené bobule

Lisování

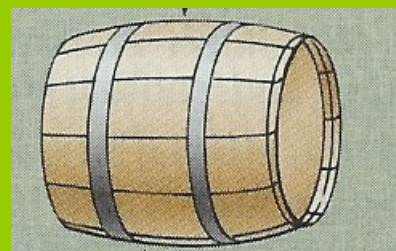
matolína
vylisované zbytky

mošt



kvašení

zrání



školení

filtrace

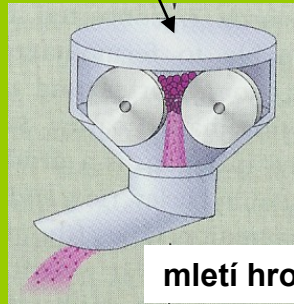
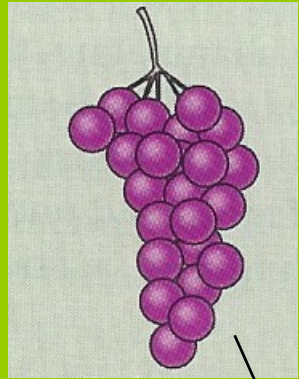
pasterace

Expedice



Fermentované nápoje

výroba červeného vína



mletí hroznů

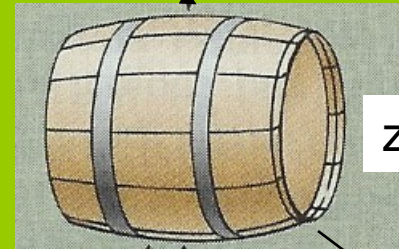


kvašení

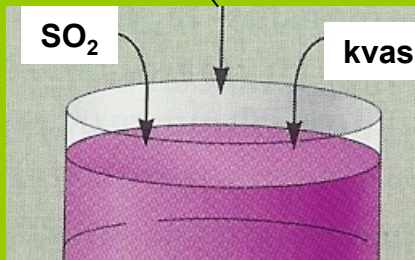
lisování

mošt

matolína



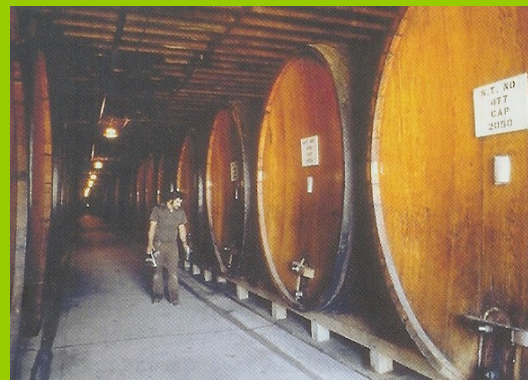
zrání



SO₂

kvasinky

“kvašení na slupkách“



školení

filtrace

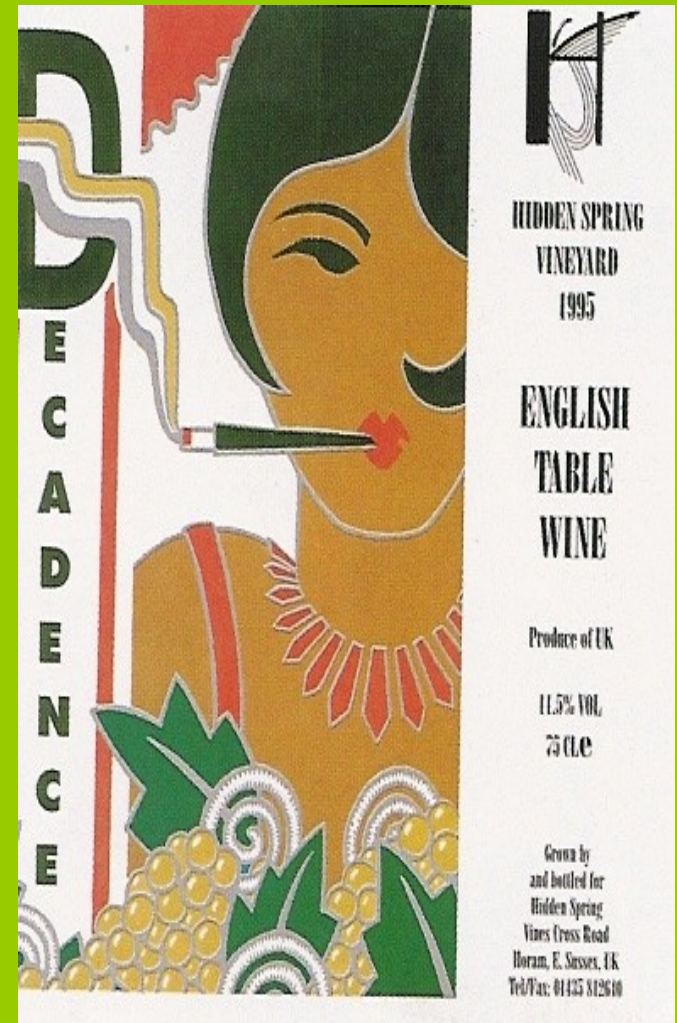
pasterace

Expedice

Fermentované nápoje

víno

- přírodní vína suchá
- vína přírodně sladká
- vína dezertní
- vína kořeněná
- vína šumivá
- vína perlivá



Fermentované nápoje

víno

- Vína přírodně sladká

Sauterenské výběry

typické odrůdy

Sauvignon, Semillon.

“Roi de vin et vin de rois“

Tokajská vína – pozdní sklizeň, napadená *Botrytis cinerea*. Odrůdy – Furmint, Lipovina, Muškát. Do moštu se přidávají zhrozinkovatělé bobule. 10-12% etanolu, 10-15% cukru.



Suché slovenské tokajské

Fermentované nápoje

víno

- **Dezertní vína** (slazená)

Dezertní vína přislazovaná – z běžných vín přidáním hrozin, sacharózy (100-150g/l) a velejemného lihu (do 15%). Muškátová vína

Dezertní vína likérová – zkrácením kvašení moštu nebo přidáním koncentrovaného moštu a alkoholu k přírodním vínům (Malaga, Madeira, Sherry, Mersala)

Dezertní vína kořeněná – přírodní vína s přísadkou cukru, alkoholu a výluhu koření (pelyněk, zeměžluč, kořen fialky a angeliky, máta, puškvorec, skořice, koriandr, hřebíček muškátový ořech atd.)

Extrakce – při 50°C ve směsi vína a alkoholu. Vermuty (německy pelyněk) – Cinzano, Martini, Metropol – bílé, červené, hořké (bitter) a suché. Obsah alkoholu 15-18% obj., 3-15% cukru.

Fermentované nápoje

víno

- **Dezertní vína likérová**

Madeira – maderizace – mladé víno zraje ve velkých sudech v prostorách nazývaných estufas, které ohřívá slunce. Obsah alkoholu 18-20%obj. Může být i směsí několika ročníků.

Portské – kvašení ve velkých sudech s přídavkem vinného destilátu (10l na 45 l moštu). Mladé víno se přečerpá do menších sudů, kde “odpočívá” několik měsíců. Sváží se do Vila Nova de Gaia – zrání v 550 l sudech několik let (nejméně 2 roky) – změna barvy - od fialově červené po hnědou. Vína tawny – zrání v sudech 10-xx let → 10 years old, 20 years old, over 40 years old.



Fermentované nápoje

víno

- **Dezertní vína likérová**

Sherry – mošt do tanků (40000 l)- kvašení *S.apiculata*, *S. cerevisiae* var. *elipsoideus* (cca 10 dní) – stočení do sudů (několik měsíců) dolihování na 15-18%obj. - zrání v sudech z amerického dubu (600 l) naplněných jen do 2/3 objemu

Sherry systém solera – mladé víno je v sudech umístěných nad sebou a vzájemně propojených (z posledního se odebere 1/5 objemu a doplní se z předchozího – cesta může trvat i několik let). V každém sudu *S.beticus* vytváří květ. Úprava – přidání prvotřídního vína a koňaku.



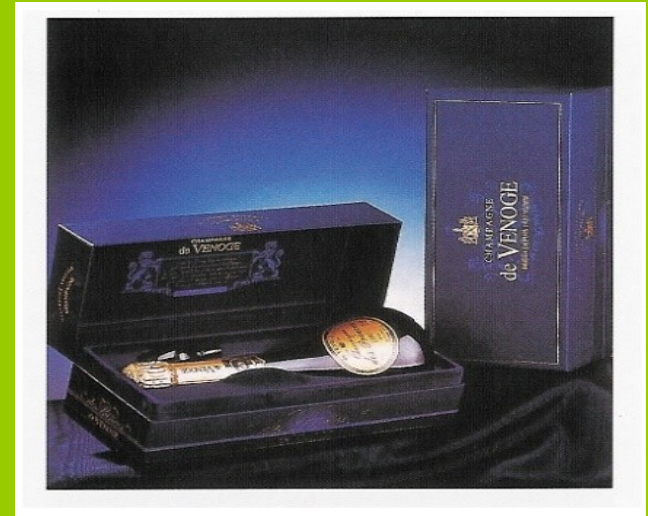
Fermentované nápoje

víno

- Vína šumivá
- Klasická technologie
 - 1700 Don Perignon
 - Odrůdy – Chardonnay,

Pinot noir, Pinot meunier

- Klaret +tirážní likér+šampaňské kvasnice do tlustostěnných lahví – kvašení (10°C, půl až 3 roky – sedimentace kvasinek – degoržování (odstřelení kvasinek) – doplnění dosázním likérem (50% vína, 45% cukru, 5% vinného destilátu) - zrání



Fermentované nápoje

víno



Perlivá vína

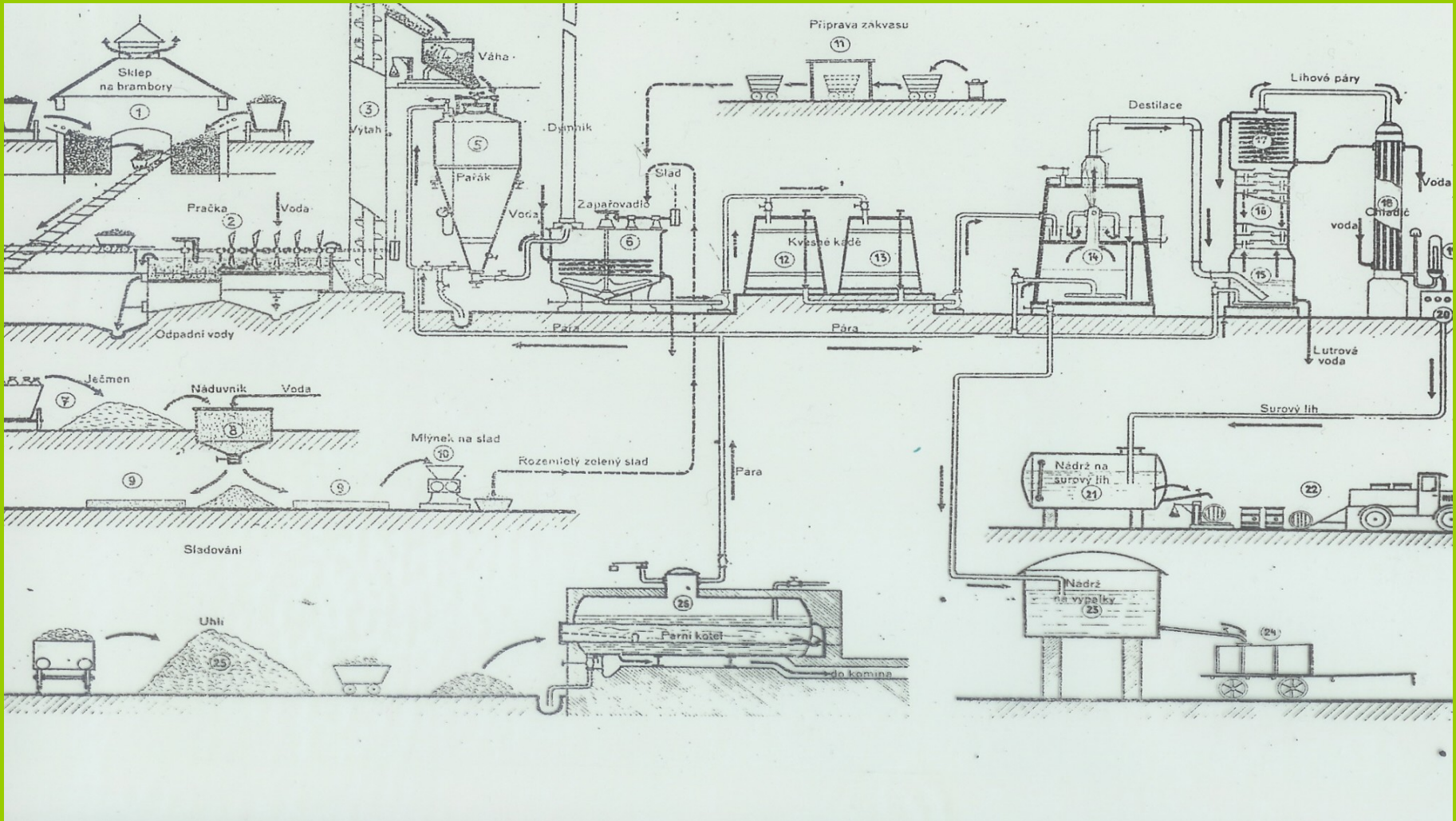
- Nejsou připravována druhotným kvašením
- Sycení vína oxidem uhličitým
- Nedosahují jemnosti a vyrovnanosti chuti
- Vazba oxidu uhličitého na extraktivní složky labilní

Fermentační výroba etanolu

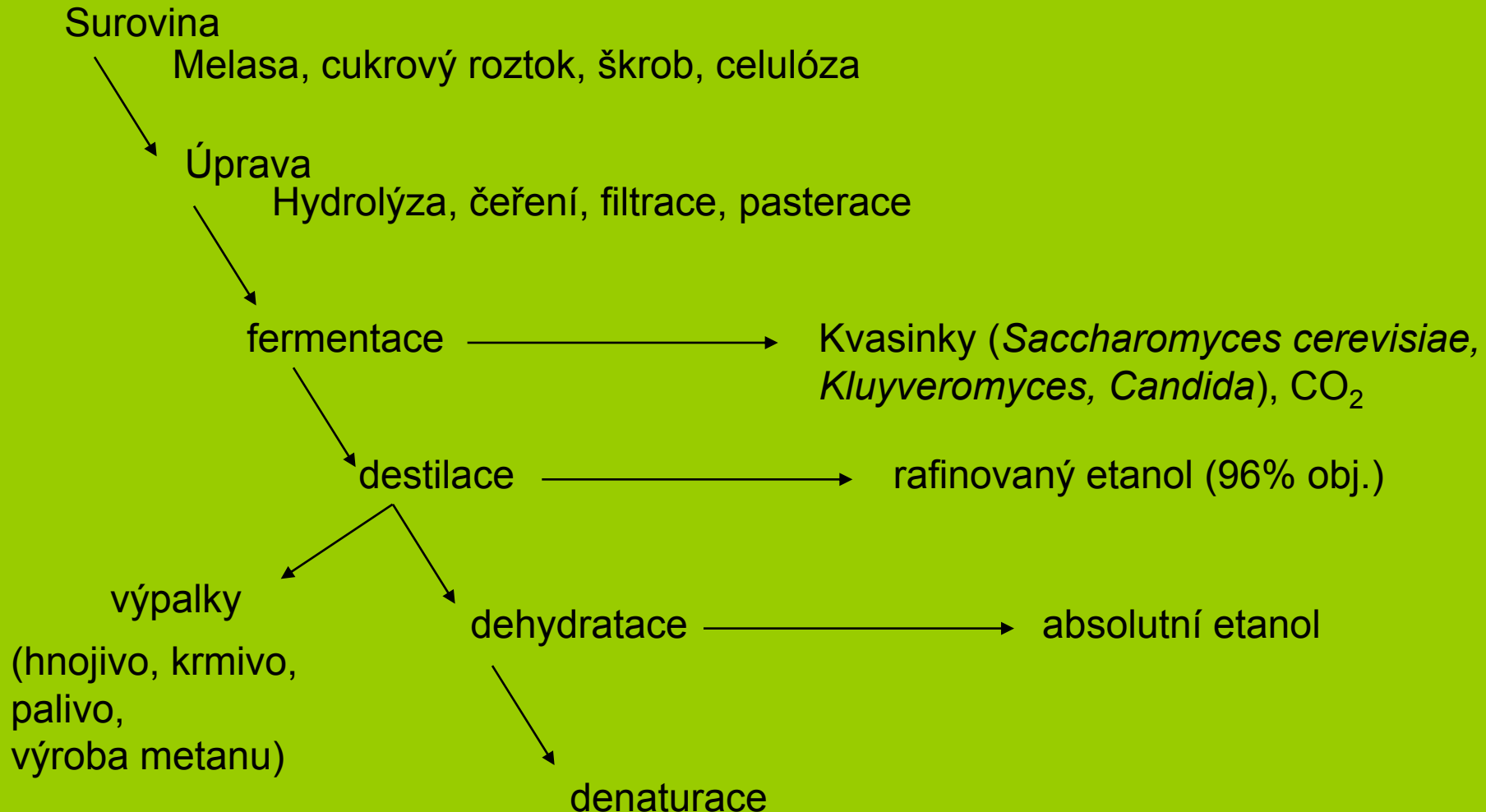
- Výroba lihu destilací byla známa více než 2000 let před naším letopočtem
- Ve středověku byl líh řazen mezi základních 5 prvků – Země, Voda, Vzduch, Oheň, Líh
- V lihovarnictví rozlišujeme výrobu :
 - zemědělského lihu** (škrobnaté plodiny - brambory, obilí. Cukerné plodiny – cukrovka, polocukrovka, ovoce)
 - průmyslového lihu** (substrát – melasa, sulfitové výluhy, lignocelulóza – dřevní odpad)

Fermentační výroba etanolu

Schéma lihovaru



Fermentační výroba etanolu



Lihoviny podle původu etanolu

- **Lihoviny vyráběné kvasným pochodem** – etanol vzniká zkvašením sacharidických surovin pro výrobu lihovin. Následující destilací a dalšími úpravami destilátu se získá konečný výrobek, jehož charakter je určen původní zpracovávanou surovinou (slivovice, brandy, koňak, whisky, calvados, ...)
- **Lihoviny vyráběné studenou cestou bez kvašení** – připravují se smícháním jednotlivých složek. Základní surovinou je rafinovaný líh (vyrobený v oddělených lihovarech). Dalšími složkami jsou cukr, ovocné suskusy a šťávy, destiláty, maceráty bylin a drog apod. (vodka, gin, Becherovka, tuzemský rum,)

Lihoviny vyráběné kvasným pochodem



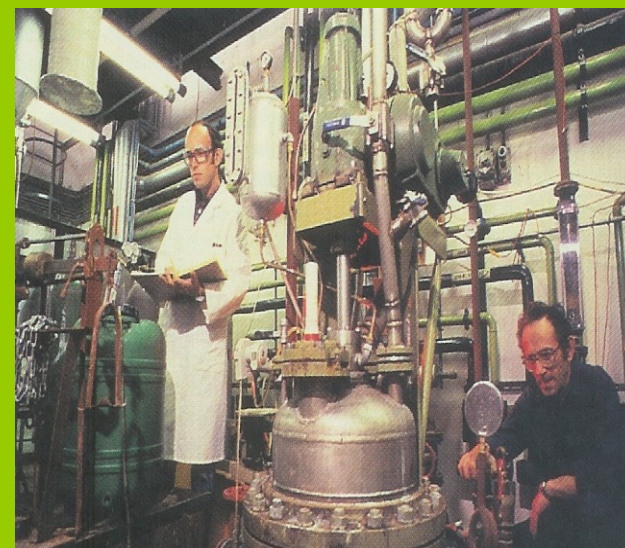
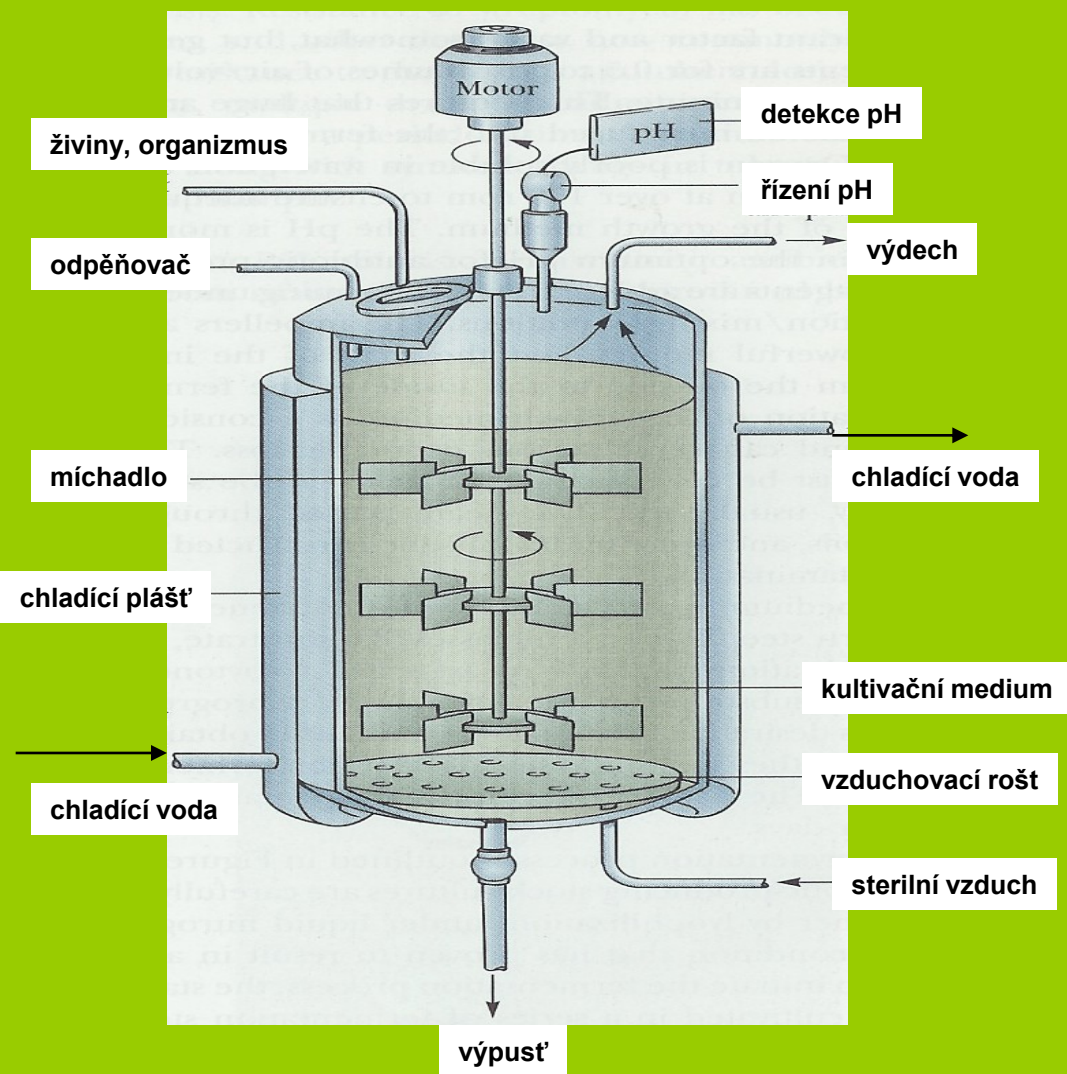
- Malt whisky – surovina: ječný slad, při sušení rašelinným kouřem získává typickou kouřovou vůni; zraje 4 a více let v sudech z bílého dubu, vypálených svítiplynem
- Grain whisky – surovina: další druhy nesladovaných obilnin a kukuřice; zraje 4 a více let v dubových prožehnutých sudech
- Bourbon whisky – surovina: převážně kukuřice; zraje 4 a více let v dubových sudech
- Ray-whisky – surovina: žito; zraje 4 a více let
- Slivovice – surovina: švestka nebo bluma; zrání několik let v sudech (již po jednom roce žlutohnědé zbarvení), při zrání ve skle bezbarvá. Kvalitní slivovice při nalití do sklenice tzv. *prstýnkuje* (vytváří drobné praménky kondenzujícího alkoholu stékající zpět do sklenice)
- Brandy – surovina: víno na pálení; zraje v dubových sudech 4 a více let. U méně kvalitní brandy umělé sestaření a pro zaokrouhlení chuti se přidávají bonifikátory (macerát z rozinek, fíků, ořechů, svatojánského chleba, mandlí, ..). Označení koňak pouze pro produkty společnosti Cognac
- Pravý rum – surovina: třtinová melasa a další odpad při výrobě třtinového cukru; zraje minimálně 4 roky. Jemnější jsou pro přímou konzumaci, více aromatické součást receptur značkových lihovin

Produkce antibiotik

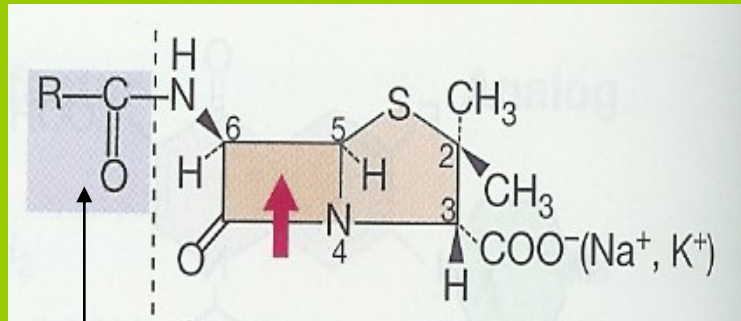
- Antibiotika jsou v přírodě se vyskytující látky produkované organismy, které inhibují aktivitu jiných organismů, nebo je usmrcují
- Je známo více než 10 000 antibiotik, ale komerčně se využívá asi 100
- Antibiotika jsou sice produkována organismy, ale patří sem i látky syntetické, odvozené na základě přirozených zdrojů
- Některá antibiotika mohou být semisyntetická

Některá antibiotika produkovaná mikroorganismy	
Penicilin	<i>Penicillium chrysogenum</i>
Bacitracin	<i>Bacillus licheniformis</i>
Chlortetracyklin	<i>Streptomyces aureofaciens</i>
Chloramfenikol	<i>Streptomyces venezuelae</i>
Neomycin	<i>Streptomyces fradiae</i>
Nystatin	<i>Streptomyces noursei</i>
Streptomycin	<i>Streptomyces griseus</i>
Polymyxin	<i>Bacillus polymyxa</i>

Fermentory pro výrobu antibiotik



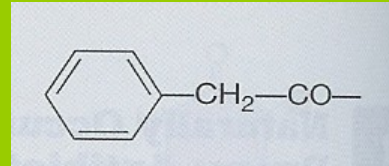
Peniciliny – β -laktámová antibiotika



β -laktamový kruh thiazolidinový kruh

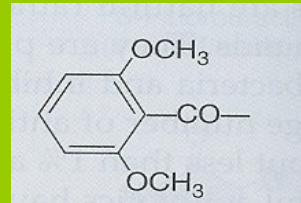
6-aminopenicilánová kyselina

N-acylová skupina

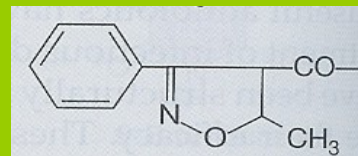


přírodní benzylpenicilin (G-penicilin, citlivý k β -laktamáze)

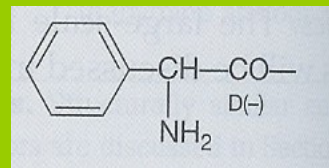
Semisyntetické peniciliny



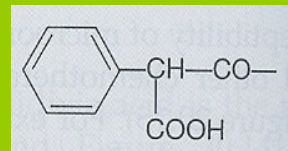
Methicilin (rezistentní k β -laktamáze)



Oxacilin (rezistentní k β -laktamáze)



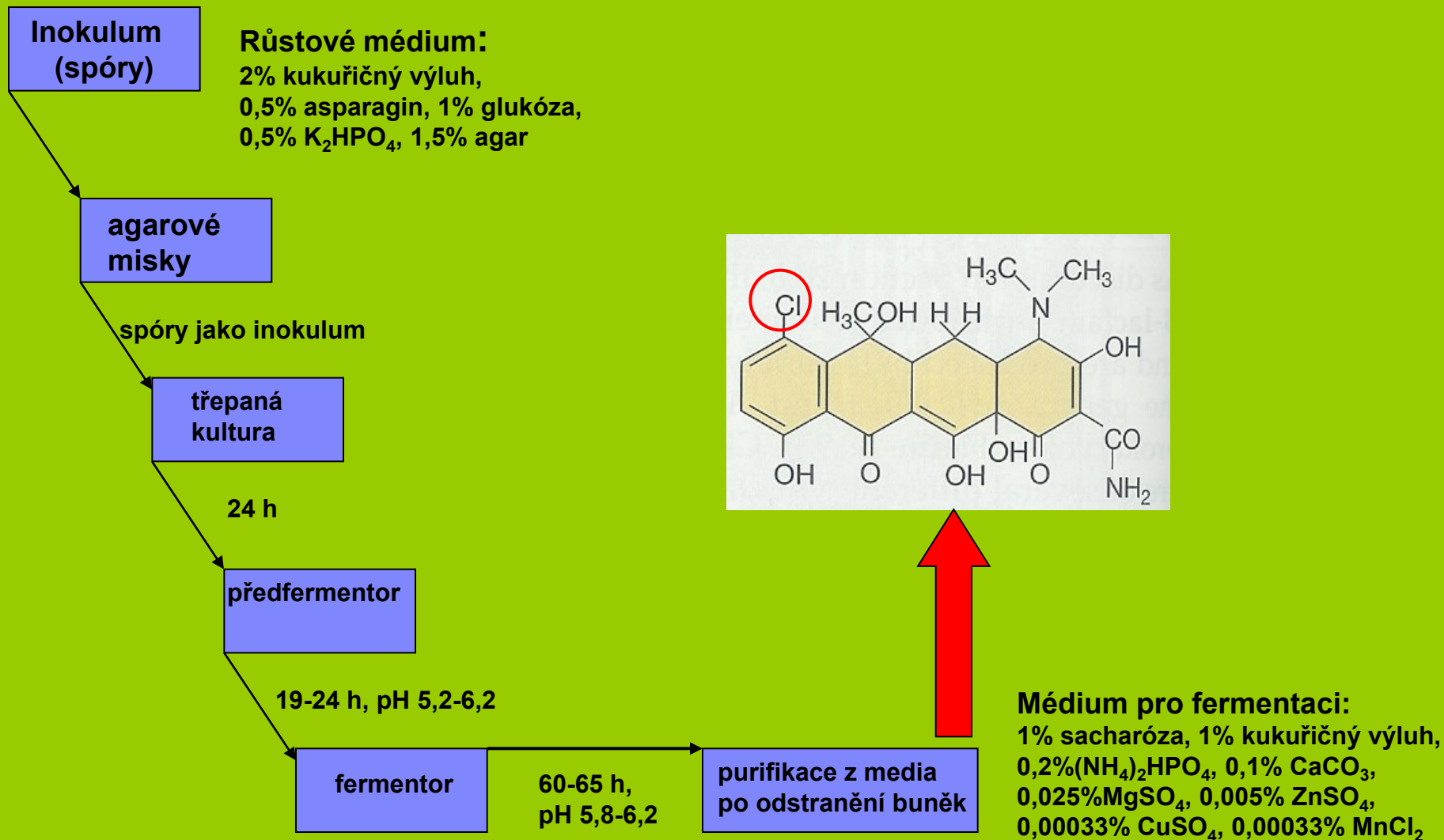
Ampicilin (široké spektrum účinnosti, i proti G- bakteriím, rezistentní k β -laktamáze)



Cabernicilin (široké spektrum účinnosti, i proti G- bakteriím – *Pseudomonas aeruginosa*, rezistentní k β -laktamáze)

N-acylová skupina

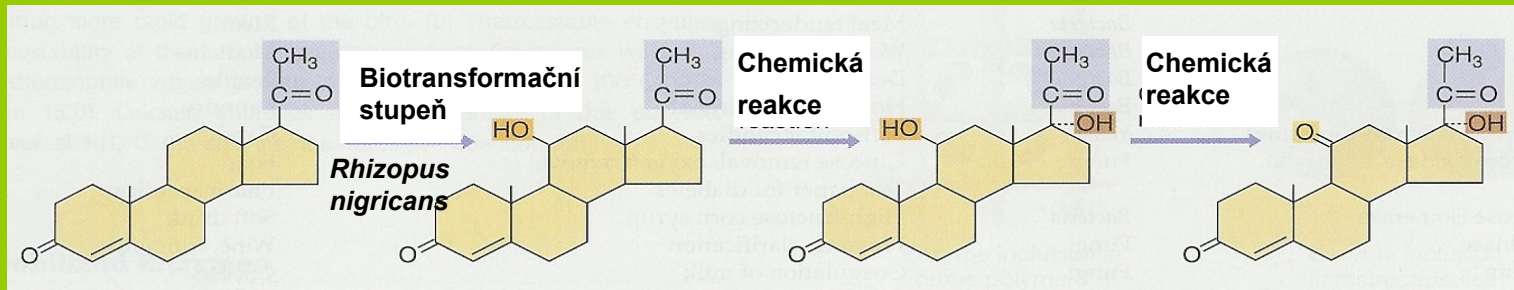
Produkční schéma na výrobu chlortetracyklinu



Steroidy a biotransformace

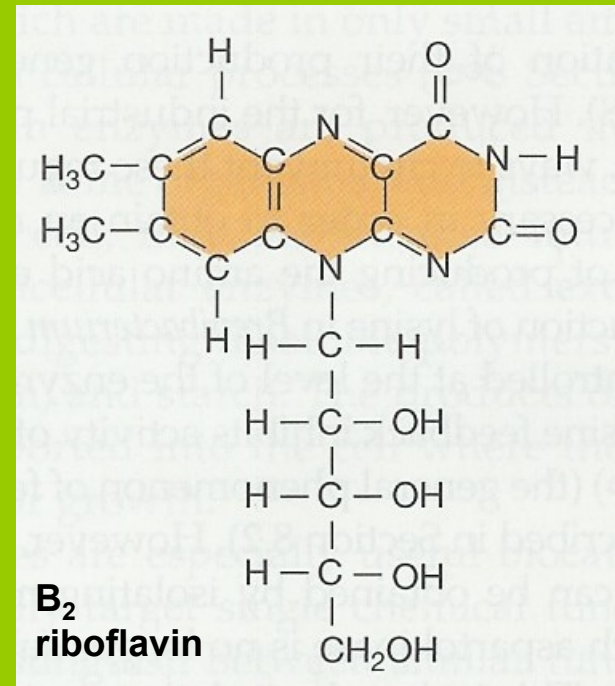
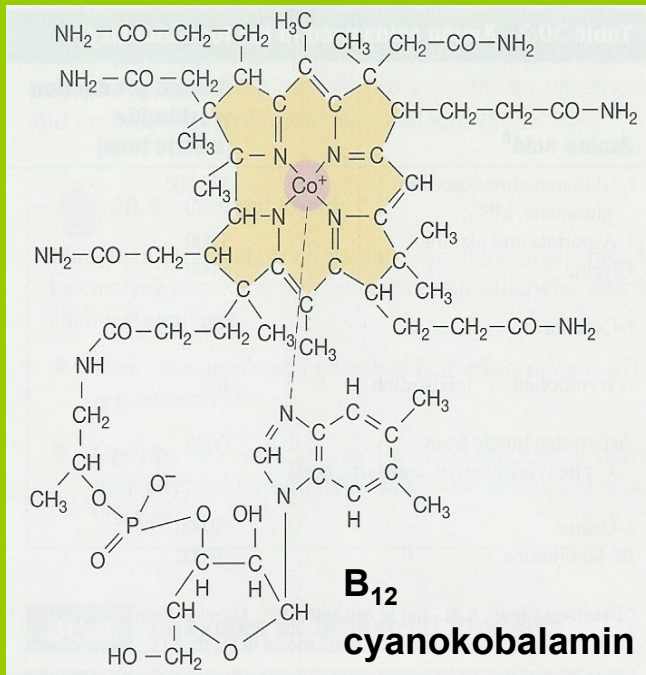
- Steroidy jsou deriváty sterolů, součástí řady hormonů regulujících některé metabolické dráhy. Některé steroidy jsou využívány přímo v terapii
- Steroidy mohou být získávány buď chemickou cestou (což je obvykle finančně nákladné) nebo kombinací chemické cesty a **biotransformace**

Produkce cortisonu biotransformací *Rhizopus nigricans*



Vitaminy

Komerčně je vyráběn ve velkém množství především vitamin B₁₂ a B₂

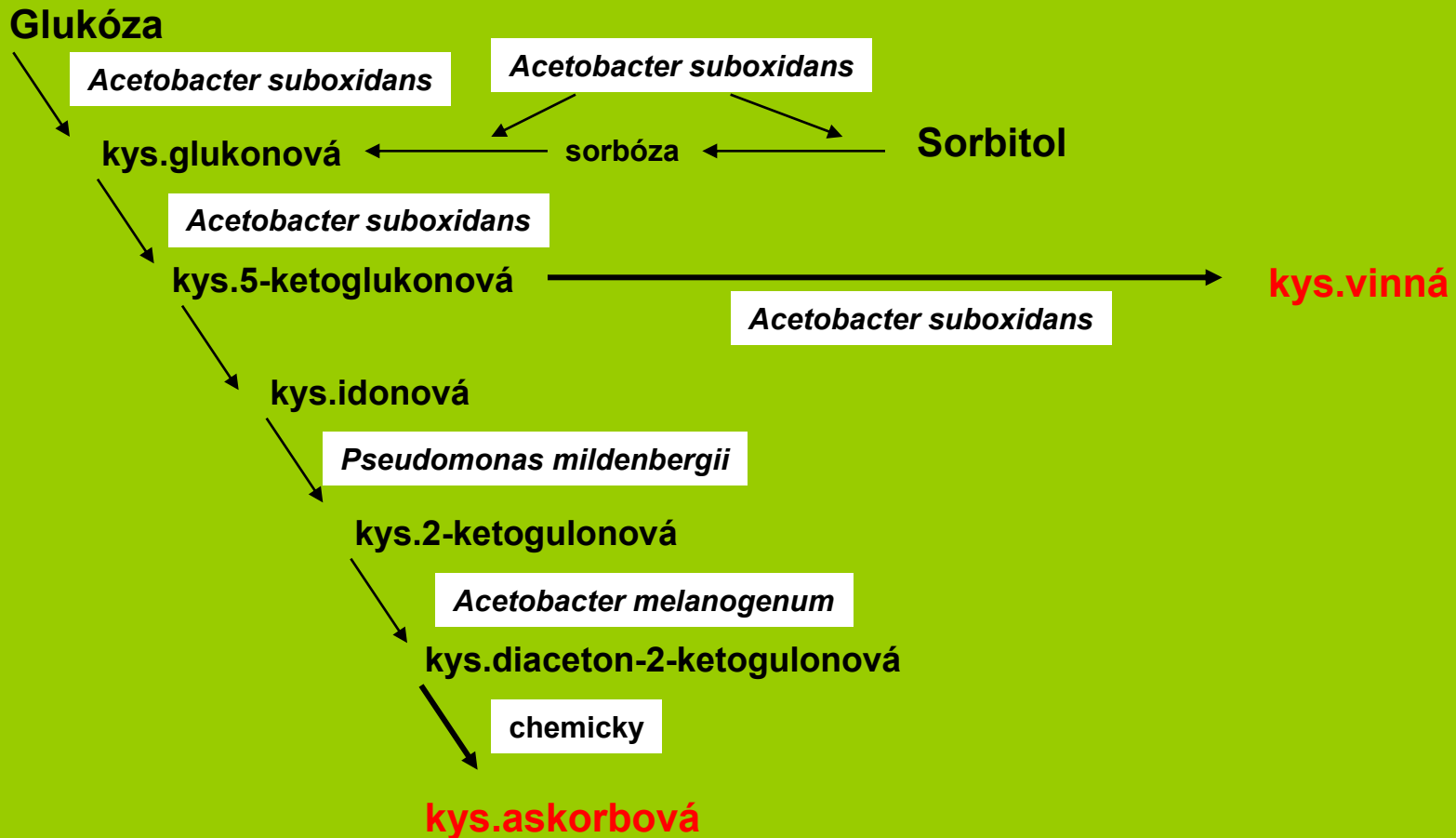


Propionibacterium freudenrichii, *Propionibacterium shermanii*, *Protoaminobacter ruber*, *Micromonospora purpurea*, *Streptomyces aureofaciens*, *Streptomyces griseus*

Saccharomyces cerevisiae, *Corynebacterium* sp., *Corynebacterium acetobutylicum*, *Candida famata*, *Candida flareri*, askomycety - *Ashbya gossypii*, *Eremothecium ashbyi*

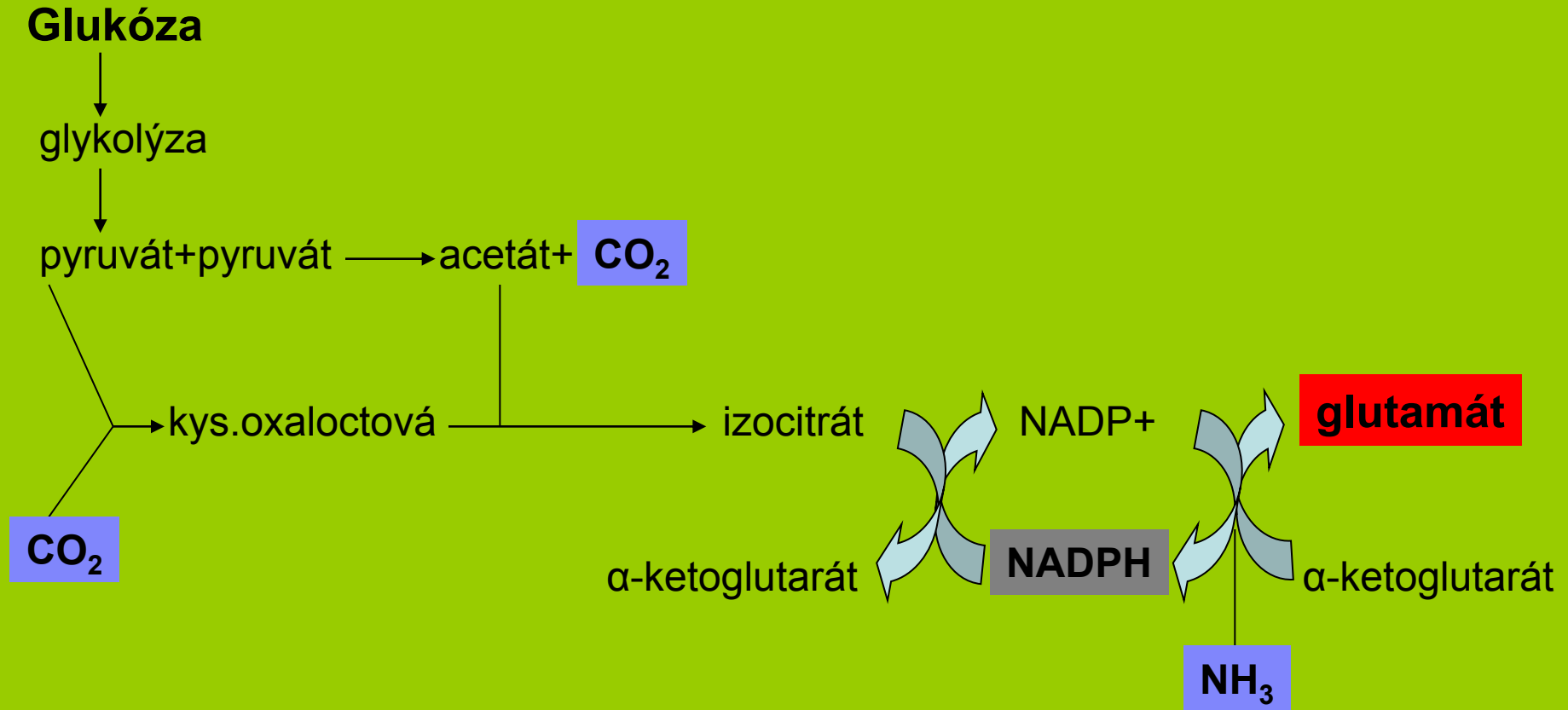
Vitaminy

Vitamin C (kyselina askorbová)



Aminokyseliny

Základní reakce při syntéze kyseliny glutamové



Organizmy:

Corynebacterium glutamicum, *Brevibacterium* sp., *Arthrobacter* sp., *Microbacterium*, sp.

Aminokyseliny

Komerčně produkované aminokyseliny a mikroorganizmy

Aminokyselina	Organizmus	Průměrný výtěžek g/l	Zdroj uhlíku
Glutamová kyselina	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	>100	glukóza
Lyzin	<i>Corynebacterium</i>	39	glukóza
Lyzin	<i>Brevibacterium flavum</i>	75	acetát
Threonin	<i>Escherichia coli</i> K ₁₂	55	sacharóza

Aminokyseliny

Využití aminokyselin v potravinářském průmyslu

Aminokyselina	Roční produkce t/svět	Použití	Účel
L-Glutamát (monosodium glutamát)	370.000	různé potraviny	zlepšení chutě
L-aspartát a alanin	5000	ovocný džus	“zakončení“ chutě
Glycin	6000	slazení potravin	zlepšení chutě a aroma; startovací bod pro organické syntézy
L-cystein	700	chléb	zlepšení chutě
L-tryptofan+L-Histidin	400	různé potraviny, sušené mléko	antioxidant, doplněk výživy
L-lyzin	70.000	chléb(Japonsko), přísada	doplněk výživy
DL-Methionin	70.000	výrobky ze sóji, přísada	doplněk výživy

Produkce organických kyselin

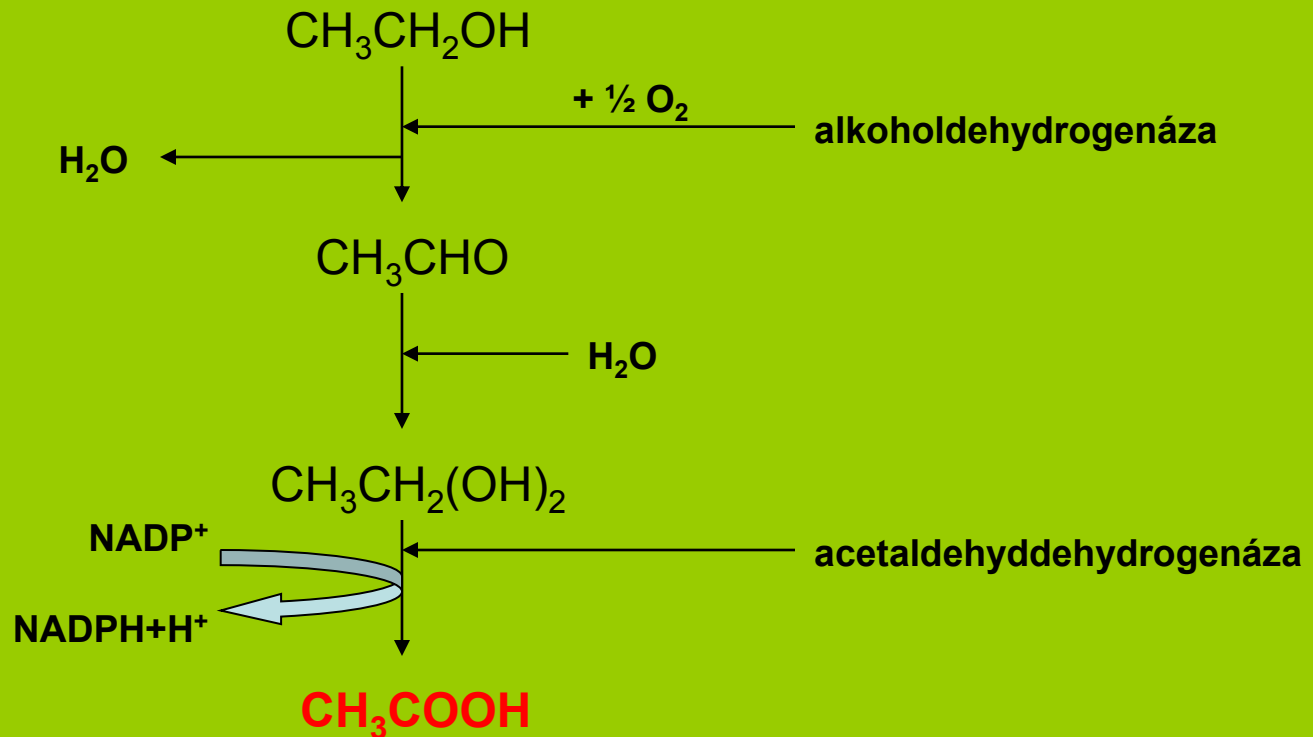
kyselina octová - ocet

- První zmínky o výrobě octa se objevují asi 10000 let př.n.l.
- O octu jsou zmínky ve Starém i Novém Zákonu
- Pro alchymisty byl ocet jedna z nejvýznamnějších surovin
- Po domácku byl ocet původně připravován “kvašením“ alkoholických nápojů a používal se hlavně jako rozpouštědlo, lék, nápoj,
- Mikrobiologickou podstatu přípravy octa popsal v r. 1868 L.Pasteur a potvrdil tak objev Kützinga z r. 1837 (popsal příčinu octového kvašení)
- Rychlý rozvoj výroby octa byl zaznamenán v 19. století, kdy se začal používat jako pochutina k okyselování, kořenění a konzervaci

Produkce organických kyselin

kyselina octová - ocet

Schéma oxidace etanolu octovými bakteriemi



Reakce je silně exergonická se silným uvolňování tepla



Produkce organických kyselin

kyselina octová - ocet

- Komerční ocet – zředěním kyseliny octové. Ve většině zemí technologický postup zakázán
- Kvasný ocet – oxidací substrátů s různým obsahem etanolu
- Základní technologické postupy
 - pomalé octaření – orleánská metoda
 - rychlé octaření – německá metoda
 - submerzní fermentace

Produkce organických kyselin

kyselina octová – ocet orleánská metoda



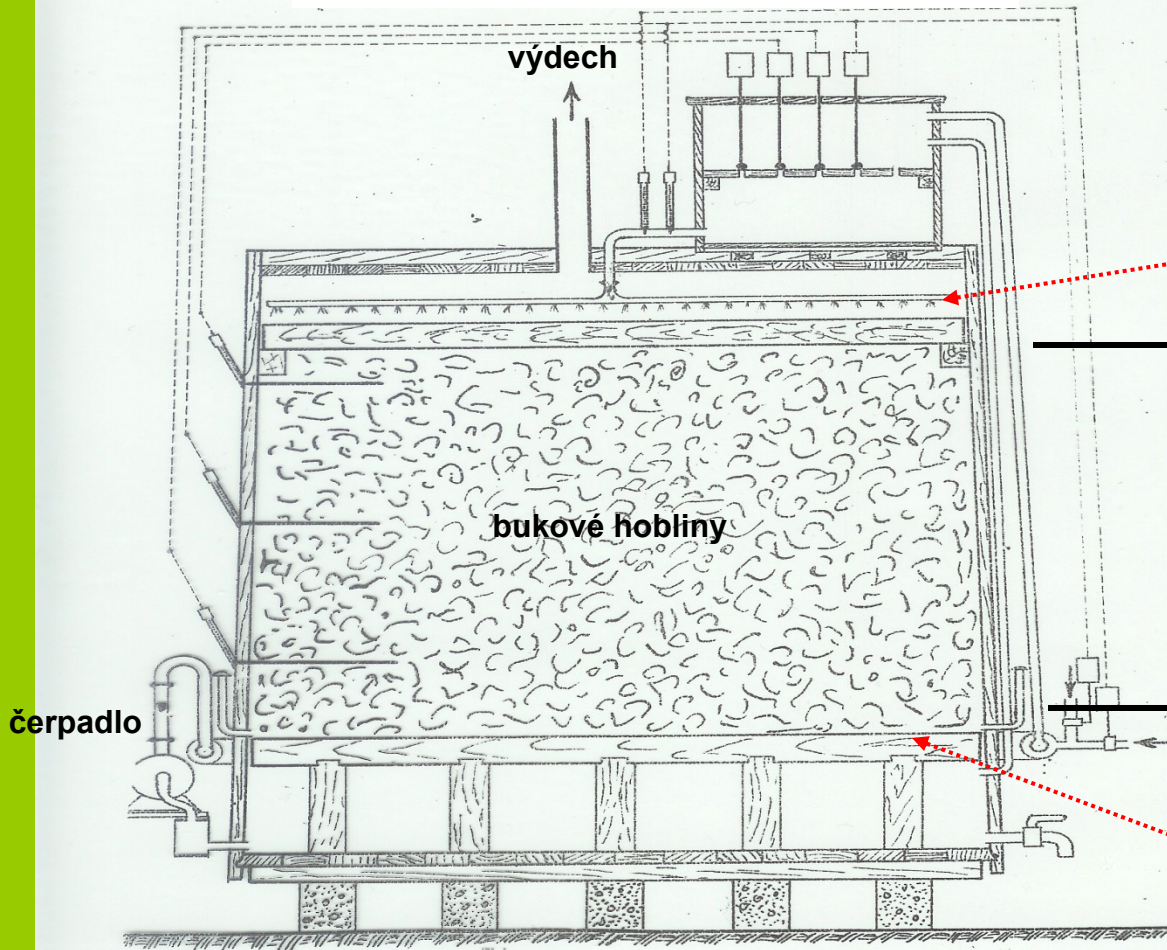
- Kádě nebo sudy z dubového dřeva o bjemu 2-3 hl (poměr šířka:výška = 3:1)
- Ředina – vinný ocet + víno (zpravidla 2:4)
- Doba fermentace cca 5 týdnů, ocet obsahuje asi 6% hm. kyseliny octové a 0,5% zbytkového etanolu. V průběhu fermentace je možné přidávat další etanol.
- Při fermentaci se vytváří mázdra – blanka na povrchu kapaliny, s obsahem octových bakterií
- Po skončení fermentace se většina tekutiny odpustí a přidá se nové víno
- Ocet má velmi příjemné a vyvážené aroma (značný obsah organoleptických látek, vznikajících při procesu)
- Z hlediska současného stavu je tento proces již neekonomický
- Organismus *Acetobacter aceti* subs. *orleansis*

Produkce organických kyselin

kyselina octová – ocet

německá metoda

Fringsova velkoocetnice



Objem dřevěné (dubové nebo modřínové dřevo) velkoocetnice je 500-600hl

rozdělovací prostor (nivelační vana – k regulaci průtoku substrátu oacetnicí; Segnerovo kolo – rozstřikování substrátu+buňky po povrchu nosiče)

oxidační prostor (hobliny nebo jiný nosič sloužící k fixaci produkčních buněk; zde probíhá vlastní proces oxidace etanolu)

O₂

sběrný prostor (shromažďuje substrát stékající po nosiči, vzduchování vzdušnicím roštem)

Produkce organických kyselin

kyselina octová – ocet německá metoda

- Základní surovina – kvasný etanol různé kvality (víno, pivo, zemědělský líh, ..)
- Ředina – 3% etanol + 8% kyseliny octové
- Ředina se napouští do sběrného prostoru a čerpadlem do nivelační vany a Segnerovým kolem ředina skrání náplň (bukové hobliny, může být i pemza, dřevěné uhlí koks nebo jiný silně porézní materiál. Regenerace se provádí asi po 5 letech, celková výměna náplně po 20 letech)
- oxidačního prostoru. Částečně zoxidovaný substrát se jímá ve sběrném prostoru a vrací se zpět do nivelační vany
- Proces se opakuje tak dlouho, až obsah etanolu klesne asi na 0,3%. Vyrobený ocet má cca 11% hm. kyseliny octové
- Proces trvá přibližně týden
- Výtěžnost je asi 90%
- Organismus – *Acetobacter aceti* subsp. *aceti* (důležitá je přítomnost sacharidů v ředině, protože by octové bakterie pokrývaly potřebu uhlíku využíváním etanolu nebo kyseliny octové)

Produkce organických kyselin

kyselina octová – ocet

submerzní metoda

- Ředina – víno, pivo, zemědělský etanol. Připravuje se stejně jako pro rychlé octaření (10%obj. etanolu a 1%hm kyseliny octové)
- Kvašení probíhá v acetátoru (fermentační tank dřevěný, kovový) o obsahu 50-500 hl. podmínkou je míchání (turbinové míchadlo) a intenzivní vzdušnění (acetátor o kapacitě 300hl vyžaduje $80 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ vzduchu)
- Vzdušnění se nesmí v průběhu fermentace přerušit. Po zastavení přívodu vzduchu na 1 min. se fermentace zastavuje (vznik acetaldehydu – důsledek odumření buněk)
- Fermentace je ukončena při poklesu koncentrace etanolu na 0,1-0,3%hm.
- Výkon acetátoru o kapacitě 300 hl je asi 60hl octa za 24 hodin (3x větší výkon než velkoocetnice stejného objemu)

Produkce organických kyselin

kyselina octová – ocet

- Úpravy octa

Čiření – odstraňování komplexů kovů s bílkovinami (bentonit)

Filtrace – odstranění mechanických nečistot (směs bavlna+celulóza, křemelina; ultrafiltrace – mikroporézní membrána, odstraňovány jsou látky o mol.hmotnosti od 100000)

Zrání – přefiltrovaný ocet se napouští do dubových kádí, kde zraje asi 3 měsíce (vytváření látek, které dodávají charakteristické aroma, především etylacetát a další)

Pasterace a plnění do lahví

Produkce organických kyselin

kyselina mléčná

- Z hlediska technologického mají význam především bakterie uskutečňující homofermentativní mléčné kvašení
- Podle vztahu k teplotě jsou využívány termofilní - *Lactobacillus delbreuckii* subsp. *delbreuckii*, *L. delbreuckii* subsp. *bulgaricus*, *L. thermophilus* nebo mezofilní *Streptococcus lactis* a *Pediococcus* sp.
- Bakterie mléčného kvašení vedle zdroje uhlíku vyžadují i dusíkaté látky, částečně jako aminokyseliny, některé vitaminy a minerální látky, především fosfor
- Na produkční kmeny působí inhibičně i nízké koncentrace volné kyseliny mléčné. Pokles pH na 4,5 fermentaci zastavuje úplně.

Produkce organických kyselin

kyselina mléčná

- **Technologický postup**
- * Fermentory o kapacitě 20-100m³, mechanicky míchané.
- * Substráty – škrobnaté nebo cukerné (melasa, sacharóza, glukóza, bramborový nebo rýžový škrob, rýže, syrovátka). Škrobnaté suroviny musí být nejprve hydrolyzovány (enzymaticky nebo chemicky)- mléčné bakterie nemají amylázy. Počáteční koncentrace sacharidů – 5-15%. Nejčistší médium 12-18%hm. sacharózy.
- * Vznikající kyselina mléčná je neutralizována přidavkem uhličitanu vápenatého nebo hydroxidu vápenatého
- * Doba fermentace 2-6 dnů. Výtěžek bývá 90-85%hm. Vztaženo na počáteční sacharid.

Produkce organických kyselin

kyselina mléčná

- Izolace
- Kyselina mléčná je ve ziskávána o čistotě: technická, potravinářská, farmaceutická
- Ve fermentoru je kyselina mléčná přítomna ve formě mléčnanu vápenatého. Ten se zahřátím převede do roztoku.
- Odfiltrování mechanických nečistot a bakterií
- Přidání kyseliny sírové = kyselina mléčná + sádra, která se od roztoku oddělí
- Odstranění barevných látek na aktivním uhlí. Další purifikační kroky (ionex, elektrodialýza, extrakce rozpouštědly,...)

Produkce organických kyselin

kyselina mléčná

- Komerční využití
- Potravinářská (60% roztok) – má velmi jemné příjemné aroma – při výrobě ovocných šťav, sirupů, cukrovinek (nahrazuje kyselinu citronovou), ke konzervaci (zeleniny, ovoce, ryby)
- V chemické výrobě – příprava kyseliny akrylové – výroba plexiskla a plexigumy
- V koželužství – dekalcinace kůží
- V barvířství – jako mořidlo
- Ve farmaceutickém průmyslu – Ca, Fe soli (vysoká čistota obsah více než 90%)

Produkce organických kyselin

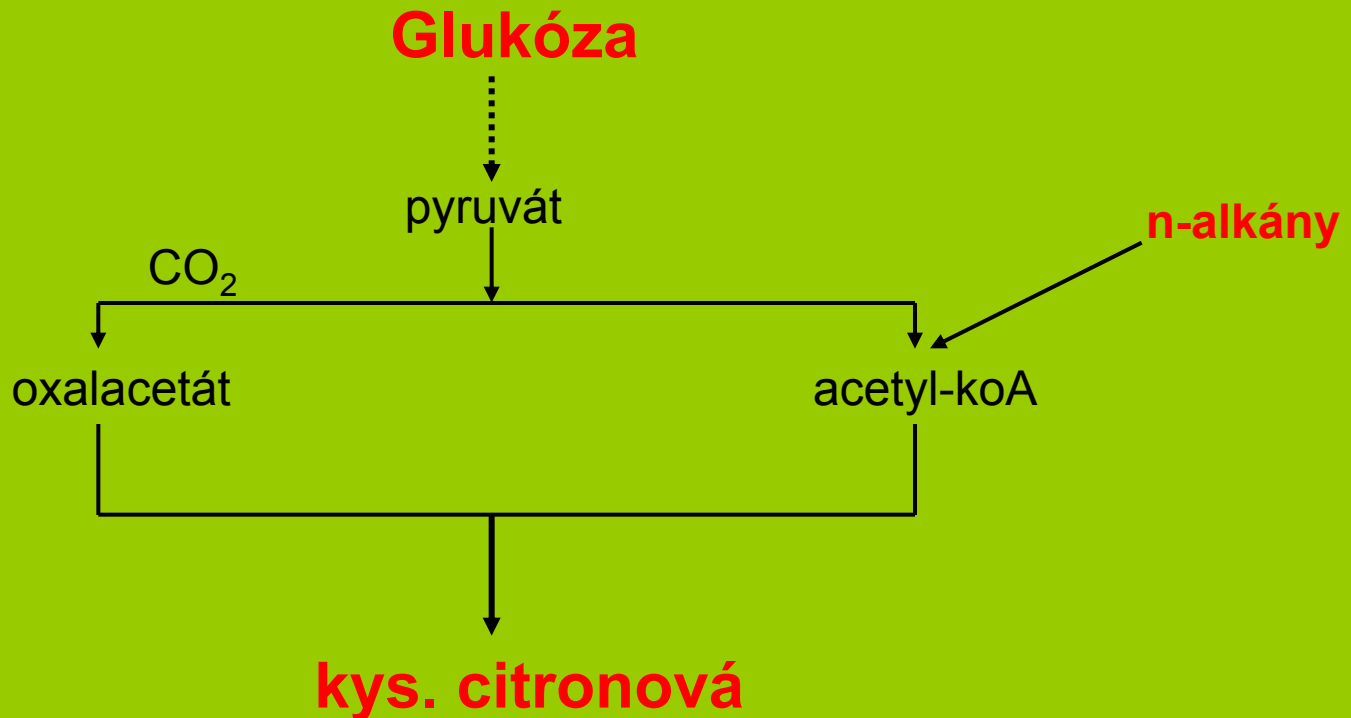
kyselina citronová

- Izolace kyseliny citronové z citronové šťávy r.1784 Scheel
- První komerční výroba kys. citronové z citronové šťávy v r.1826 Sturge (Anglie)
- V r. 1893 (Wehner) zjištěna při produkci kyseliny šťavelové *Penicilium glaucum*
- Záhorský v r. 1913 získal patent na produkci kys. citronové *Aspergillus niger*
- Podklady pro průmyslovou výrobu s produkčním kmenem *Aspergillus niger* – J. Currie v r. 1917
- První otevření výroby 1928 - Kaznějov u Plzně, Belgie, USA, Anglie

Produkce organických kyselin

kyselina citronová

Velmi zjednodušené schéma biosyntézy kys. citronové



U produkčních kmenů se dosáhlo nadprodukce kys. citronové cílenými mutacemi, které měnily aktivitu enzymů Krebsova cyklu (vysoká – u enzymů tvořících kys. citronovou, nízká – u enzymů odbourávajících)

Produkce organických kyselin

kyselina citronová

- Výroba probíhá za aerobních podmínek
- Důležitá je přítomnost stopových prvků – Fe, Zn, Cu, Mn
- produkce je těsně spojena s pH – při pH <2 silná produkce kys. citronové;
>3 nadprodukce kys. oxalové a glukonové
- Technologické postupy :
 - povrchový způsob
 - submerzní způsob

Produkce organických kyselin

kyselina citronová

povrchový způsob

- Proces probíhá v nerezových vanách umístěných v klimatizovaných komorách ve sterilním mediu (melasa, ..) + spóry *Aspergillus niger* + kys. fosforečná
- Kys. fosforečná by měla být vyčerpána po skončení tvorby mycelia. Teprve potom dochází k syntéze kys. citronové. Pokud je koncentrace fosforu vysoká, tvoří se mycelium, ale ne kys. citronová
- Doba fermentace 8-9 dní
- Medium obsahuje asi 10%hm. kys. citronové

Produkce organických kyselin

kyselina citronová

submerzní způsob

- Fermentace probíhá v uzavřených fermentorech za intenzivního míchání, aerace a regulace teploty
- Růst, povaha a produkce se reguluje vhodným nastavením složení média (zejména koncentrace P, Fe, Mn), hodnota pH, způsob aerace a míchání
- Maximální produkce je při $\text{pH} < 2$
- Organizmy: dříve - *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp.;
nyní - *Aspergillus niger*,
Aspergillus wentii, *Aspergillus clavatus*,
Botrytis cinerea, *Mucor piriformis*,
Trichoderma viridae, *Arthrobacter* sp.,
Candida tropicalis, *Yarrowia lipolytica*



Produkce organických kyselin

kyselina citronová

- **Izolace**

Filtrace – oddělení mycelia od kultivačního média

Promytí mycelia

Filtrát – srážení kyselin vápenným mlékem za horka
při pH 5,8

Odfiltrování vysráženého citranu vápenatého

Přidání kyseliny sírové – volná kyselina citronová +
sádra

Sorbce na aktivním uhlí – odstranění doprovodných
látek

Ionex + zahuštění + krystalizace

Produkce organických kyselin

kyselina citronová

- Využití
- V potravinářském průmyslu (výroba cukrovinek, nealkoholických nápojů, ovocných šťáv (podporuje účinek antioxidantů, zpomaluje degradaci vitaminů a aromatických látek), konzervační prostředek
- Farmaceutický průmysl – stabilizátor vitamínu C, součást efervescentních přípravků
- Technicky – výroba detergentů – nahrazuje fosfáty

Produkce biopolymérů

exopolysacharidy

- Mikrobiální polysacharidy se uplatňují nejen ve farmacii, a potravinářském průmyslu, ale i v geologickém průzkumu, průmyslu nátěrových hmot a textilním průmyslu
- Mikrobiální
 - homopolysacharidy** – jsou tvořené jedním typem sacharidové jednotky (glukany, manany, dextransy)
 - heteropolysacharidy** jsou tvořené komplexy vysokomolekulárních větvených struktur obsahujících tři a více typů monosacharidů (glukomanany, galaktomanany)
- Exopolysacharidy mimo sacharidové jednotky obsahují také uronové kyseliny (kys. glukoronová), acylové skupiny (acetát, mravenčan, pyruvát) nebo anorganický fosfát

Produkce biopolymérů

exopolysacharidy

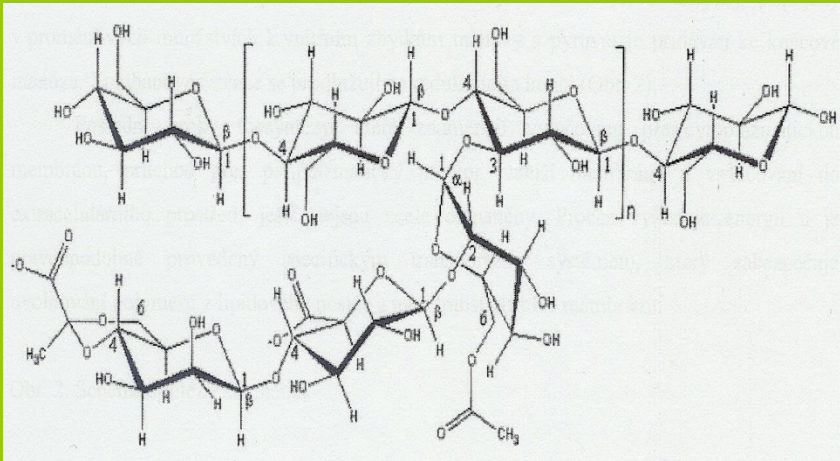
xantan

- Xantan je produkován zástupci rodu *Xantomonas* (*X.campestris*)
- Průmyslová výroba fa Merck 1963
- Patří mezi hydrokoloidy (látky vázající vodu) – používá se jako zahušťovadlo roztoků na vodní bázi a dále jako stabilizátor
- V potravinářském průmyslu se využívá v těchto oblastech (používá se pod názvem xantanová guma):
 - salátové tekoucí dressingy, masové šťávy a omáčky, masné produkty (šunka, drůbež), zmrzliny, nápoje – džusy, cukrovinky, pečivo, zejména litá těsta a některé speciální výrobky: palačinky a lívance, muffins, biskvity, nízkokalorické chleby a pečivo, bezlepkové výrobky, mražené a chlazené pečivo. Finální výrobky zůstávají déle čerstvé, křehké a mají zpomalené vysychání (tvrdnutí).

Produkce biopolymérů

exopolysacharidy

xantan

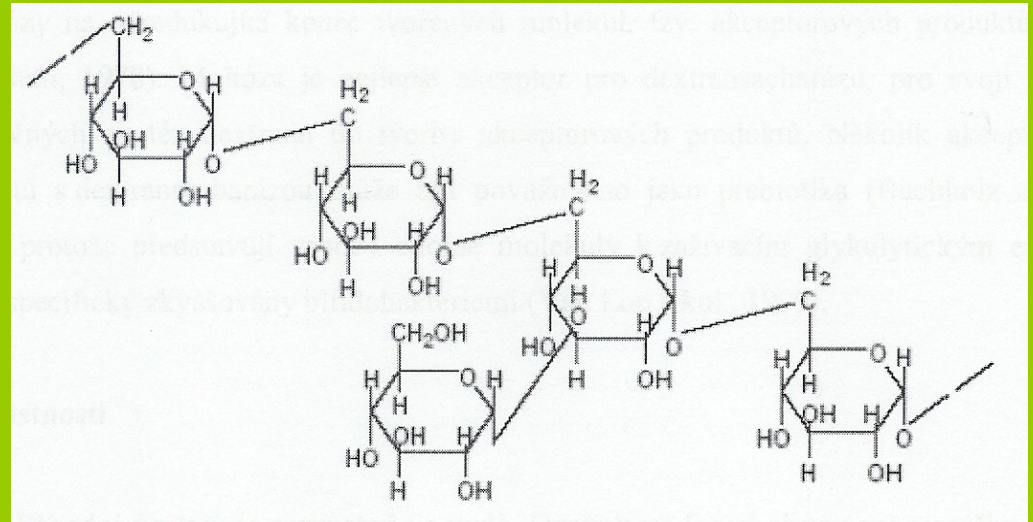


- Je ideální jako stabilizátor pro zubní pasty a gely nebo ve farmaceutických přípravcích
- V průmyslu xantan využívá jako stabilizátor rozstříkovaných látek, stabilizuje vodou ředitelné barvy, přísada do keramických glazur, ...
- Využívá se i mléčných náhražkách pro telata a selata nebo při výrobě šťavnatých krmiv pro domácí mazlíčky

Produkce biopolymérů

exopolysacharidy

dextran



- Producent – *Leuconostoc mesenteroides*
- Dextran je polymer α -D-glukózy. Řetězec může být větvený. Některé kmeny produkují dextran s heterogenními vlastnostmi
- Mechanismus syntézy dextranu je dosud nejasný

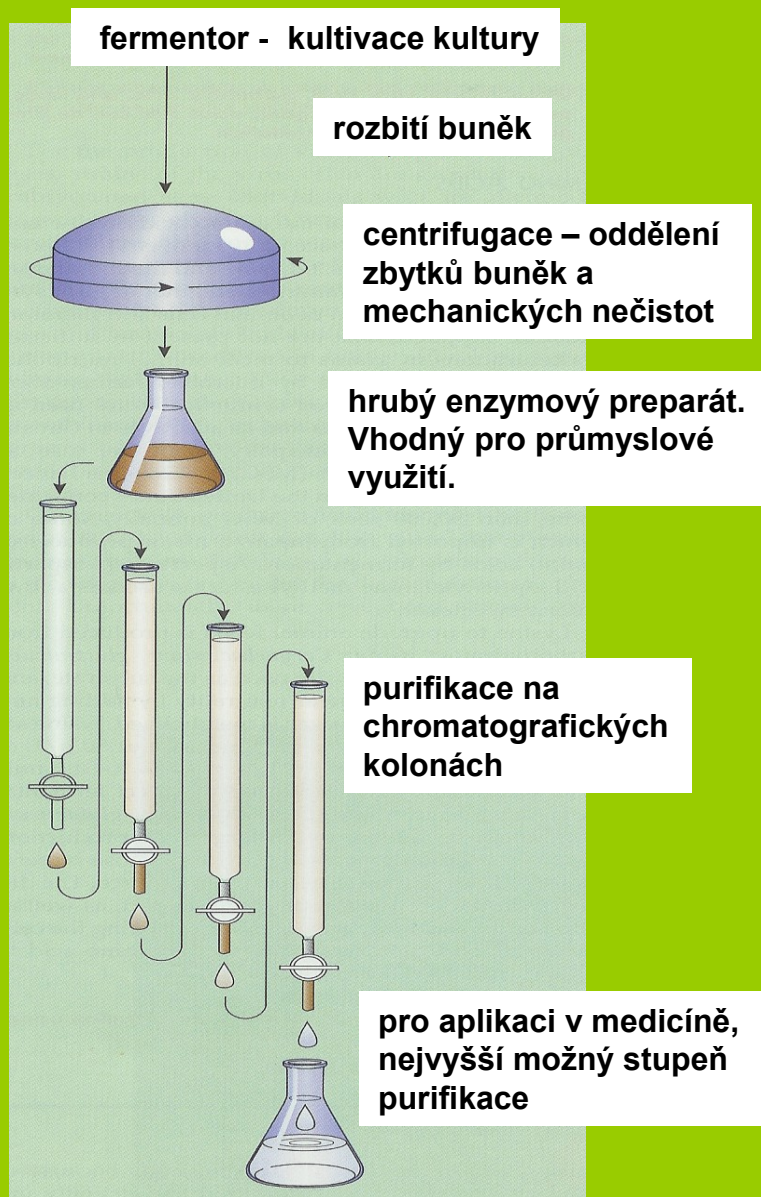
Produkce biopolymérů

exopolysacharidy

dextran

- Komerční využití
 - Výchozí materiál pro výrobu biologicky odbouratelných polykationtů a polyaniontů – využití ve fotografickém a kosmetickém průmyslu, při čištění vod, v zemědělství
 - Přísada pro stabilizaci mražených mléčných produktů
 - Použití jako stabilizátoru při výrobě hotových jídel (z masa, zeleniny, ryb)
 - V cukrovinkách zabraňuje krystalizaci, zvyšuje viskozitu, udržuje vůni
 - V poslední době se hodně používá při výrobě nealkoholických nápojů, aromatických výtažcích a polev

Produkce enzymů



Organizmy produkují širokou škálu enzymů, ale jen v malém množství – “pro potřebu buňky”. Některé organizmy jsou však schopné produkovat určité typy enzymů ve větším kvantu. Zásahem z vnějšku nebo mutací je možné dosáhnout u těchto organismů nadprodukce enzymů a to jak intracelulárních, tak i extracelulárních. V současné době jsou enzymy intenzivně využívány i komerčně. Nejčastěji se s nimi setkáme v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. Svoje místo mají i v kožedělném průmyslu a při výrobě detergentů. Výhodné je i jejich využití v analytice – enzymové elektrody.

Produkce enzymů

Enzym zdroj aplikace

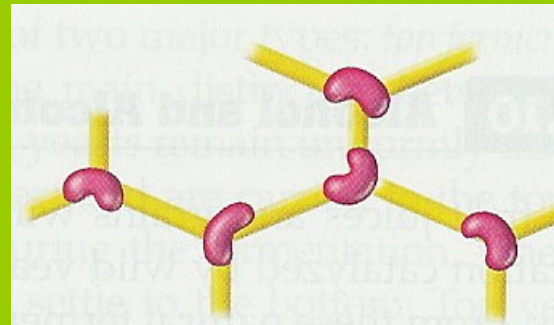
Amyláza	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus diastaticus</i> <i>Aspergillus niger</i>	v potravinářství (výroba piva, etanolu, pekárenský průmysl)
Proteáza	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Aspergillus flavus</i>	v potravinářství (pekařství- zkracují přípravu těsta, sýrařství – sýřidlo), krmivářství(zvýšení účinnosti výkrmu), kožedělném průmyslu (úprava usní), výroba pracích prášků, doplněk stravy
Glukózaoxidáza	<i>Penicillium notatum</i> <i>Aspergillus niger</i>	odstraňování glukózy, testovací proužky pro diabetiky
Lipáza	<i>Micrococcus</i>	výroba sýrů, potravinový doplněk

Produkce enzymů

V některých technologických postupech se mohou používat enzymy, nebo mikrobiální buňky, opakovaně. V těchto případech je ekonomicky výhodné navázat enzymy nebo buňky na nosič – **imobilizované enzymy, imobilizované buňky**. Vazba mimo jiné i enzym stabilizuje a omezuje negativní působení na reakci. Některé reakce mohou probíhat kontinuálně.

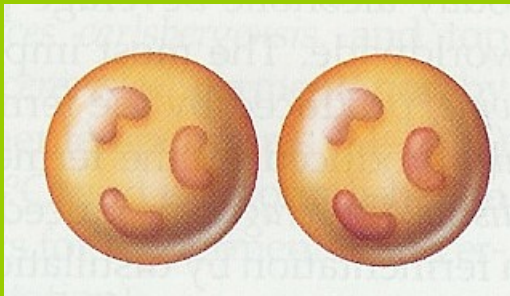


Vazba enzymu na nosič (adsorbce, iontová nebo kovalentní vazba; nosič – modifikovaná celulóza, aktivní uhlí, pemza, upravený polystyren, ..)



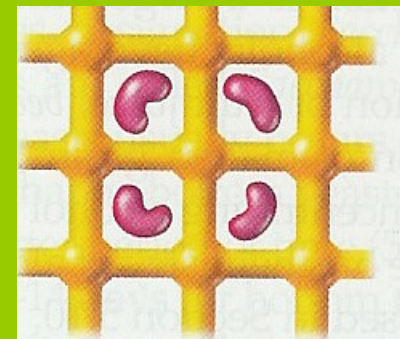
Polymerizace“ enzymu“ (enzym amino skupinou se chemicky váže na glutaraldehyd)

Mikroinkapsulace



uzavření enzymu do mikrokapsuly z polymerního materiálu

nebo fibrozních polymérů (např. acetátcelulóza)



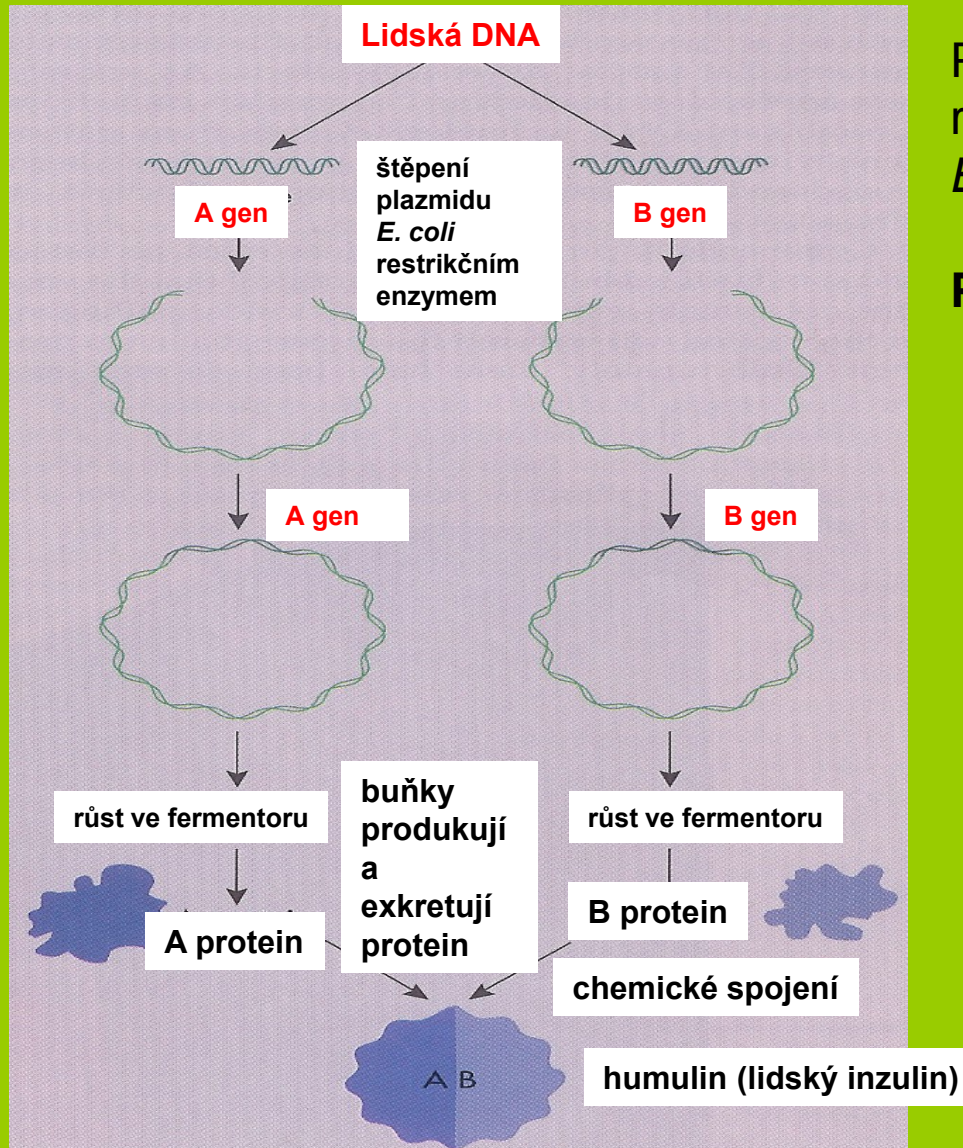
Příprava lidských proteinů

- Díky své schopnosti metabolizovat nejrůznější substráty jsou bakterie a kvasinky tradičně využívány k přípravě pokrmů a nápojů. Metody genového inženýrství umožňují nejen upravovat jejich metabolické dráhy, ale otevřely i cestu k jejich využívání pro přípravu **cizorodých produktů**, které jsou běžně vytvářeny rostlinami nebo živočichy včetně člověka.
- Při klonování genů z vyšších organismů (rostlin nebo živočichů) v bakteriích s cílem dosáhnout tvorby cizorodého produktu je obvykle nutné cizí gen nejdříve vhodně pozměnit. Bakterie mají odlišné regulační oblasti, které jsou nezbytné pro to, aby se jejich geny v buňce projeví. Geny přenesené do bakterií z vyšších organismů v nich proto nejsou obvykle aktivní a je nutné je nejdříve vhodně upravit.
- Řešením je připojení cizích genů ke genům bakterií, nebo začlenění cizího genu přímo do genu bakteriálního, což vede k vytvoření **chimérických produktů**, z nichž se dodatečně bakteriální část odštěpí.

Příprava lidských proteinů

- Pro docílení úspěšné exprese eukaryotických genů v bakteriích se musí nejdříve vytvořit v laboratoři **genový konstrukt (transgen)**, který bude v bakteriích fungovat stejně dobře jako v buňkách původního organismu - **optimalizace genové exprese**. Po vytvoření se genový konstrukt vnese do produkčního kmene.
- První produkty připravené metodami genového inženýrství v geneticky pozměněných bakteriích byly **lidský inzulin (1982) a růstový hormon**, které lze díky jejich jednoduché struktuře připravit v bakteriích v aktivní formě.

Příprava lidských proteinů

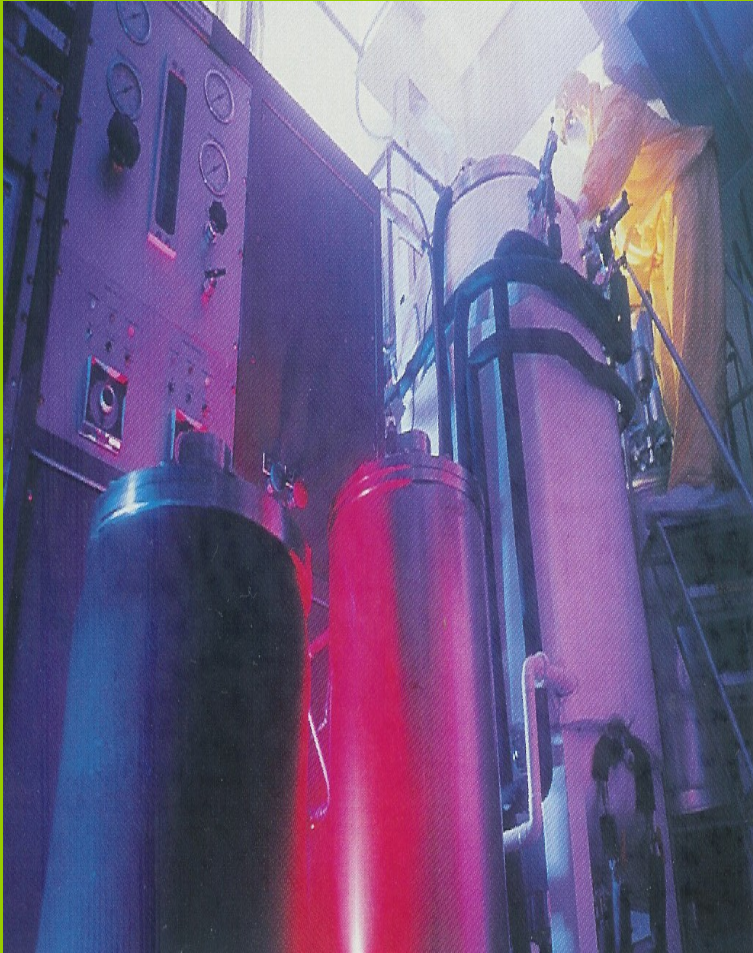


Produkce lidského inzulinu rekombinantními kmeny *Escherichia coli*

Příprava produkčního kmene

Za optimálních podmínek může inzulin představovat až 20% celkové hmotnosti buňky

Příprava lidských proteinů



Fermentory na "výrobu" inzulinu



Buňky *E.coli* obsahující lidský interleukin



Příprava lidských proteinů

- Bakteriální buňky jsou sice výbornými producenty cizorodých bílkovin, ale jejich posttranslační úpravy jsou jiné nežli u eukaryot. Proto se ve větší míře začíná využívat kvasinkovitých organizmů
- Mezi kvasinkami zaujímá přední místo *Pichia pastoris*, která je málo náročná na kultivační prostředí. Jako zdroj uhlíku a energie je možné používat metanol. Proto složení media je jednoduché a také izolace produktů vyžaduje malý počet purifikačních kroků
- Hlavní předností *P.pastoris* oproti bakteriálním expresním systémům je schopnost provádět posttranslační modifikace typické pro vyšší eukaryota, jako je vytváření signálních sekvencí (pre i prepro typ), ohýbání, tvorba disulfidických vazeb, určité typy adicí, glykozylace

Některé heterologní proteiny produkované mikroorganismy

Bakterie

Bacillus licheniformis α -amyláza
Clostridium botulinum neurotoxin
Escherichia coli β -galaktozidáza
Escherichia coli β -laktamáza
Staphylococcus aureus
stafylokináza, ...

Houby

Aspergillus fumigatus kataláza
Aspergillus niger fytáza
Candida rugosa lipáza
Geotrichum candidum lipáza
Rhizopus oryzae lipáza
Sacharomyces cerevisiae invertáza
Schizophyllum commune vitamin B2
Trametes versicolor lakáza,

Obratlovci

Bovinní enterokináza, boviní lysozym c2, boviní opsin,
boviní trypsin, boviní β -laktoglobulin, boviní β -
kasein, myší endostatin, krysí acetylcholinesteráza, ...

Člověk

endostatin, fibrinogen, inzulin, interleukin, sérový
albumin, throbomodulin, růstový faktor, ... do roku 2000
to bylo více než 80 heterologních proteinů

Výroba potravinářské a krmné biomasy – SCP (single cell proteins)

- Mikrobiální biomasa má sloužit především jako zdroj bílkovin, vitaminů, fosfolipidů atd.
- Cílem je získat produkt s vysokým obsahem požadované složky – především bílkoviny. Dříve se propagovala tam, kde nebyla dostupná jiná bílkovina. V takovém pojetí se jeví jako ekonomicky nezajímavá a nemůže konkurovat např. sojové bílkovině
- Ekonomicky schůdné je však komplexní využití vyprodukované biomasy. Produkty mohou potom nalézt uplatnění ve výživě, zdravotnictví zbytky pro přípravu krmiv atd.

Výroba potravinářské a krmné biomasy – SCP (single cell proteins)

- Klasickým organizmem je *Saccharomyces cerevisiae* (pekařské droždí)
- Pro potravinářské účely se kultivovala na melase a sušila se při vyšších teplotách (biomasa nebyla aktivní). Sušená biomasa se používá jako přísada do polévek, omáček, masných výrobků,...
- Pro krmivářské účely se využívá *Saccharomyces* ojedinele (většinou ke zkrmení nekvalitního droždí)

Výroba potravinářské a krmné biomasy – SCP (single cell proteins)

- Vedle *Saccharomyces* se v současné době využívají kmeny rodu *Candida*. Většina používaných kmenů produkuje minimálně 50% bílkovin v sušině. Tyto kmeny jsou výhodnější i svými menšími nároky na výživu a tolerují media s vyšším obsahem solí
- *Candida utilis*, *Candida tropicalis*, *Candida pseudotropicalis*, *Candida robusta*, *Candida scottii*, *Candida ingens*, *Candida crusei*, *Candida mogii*, *Candida boidinii* a další
- Ostatní kvasinkovité mikroorganismy jako *Yarrowia lipolytica*, *Hansenula anomala*, *Hansenula polymorfa*, *Hansenula capsulata*, *Pichia pastoris* a další
- V některých speciálních případech jsou využívány i bakterie *Methanomonas methanica*, *Pseudomonas methanica* (při výrobě biomasy ze zemního plynu)

Výroba potravinářské a krmné biomasy – SCP (single cell proteins)

Substráty pro přípravu SCP

- Melasa – v současné době jen ve výjimečných případech
- Lihovarské výpalky
- Sulfitové výluhy (po výrobě celulózy) nebo hydrolyzáty dřeva
- „Citrolouhy“ (po výrobě kyseliny citronové)
- Syrovátka a další “odpady“ z potravinářské výroby, případně zemědělství
- n-alkány
- Etanol, metanol – mohou být připraveny velmi čisté a získané SCP je nejvyšší kvality
- SCP (bakterie , kvasinky) obsahuje 70-80%hm. čistých bílkovin
- Mikrobiální biomasa se vyznačuje dost vysokým obsahem nukleových kyselin (především RNA). Jejich obsah je v korelaci s obsahem bílkovin a pohybuje se v rozmezí 8-15% sušiny. Maximální denní dávka pro člověka je 2g nukleových kyselin, což odpovídá asi 20g mikrobiální biomasy

Biologické čištění odpadních vod

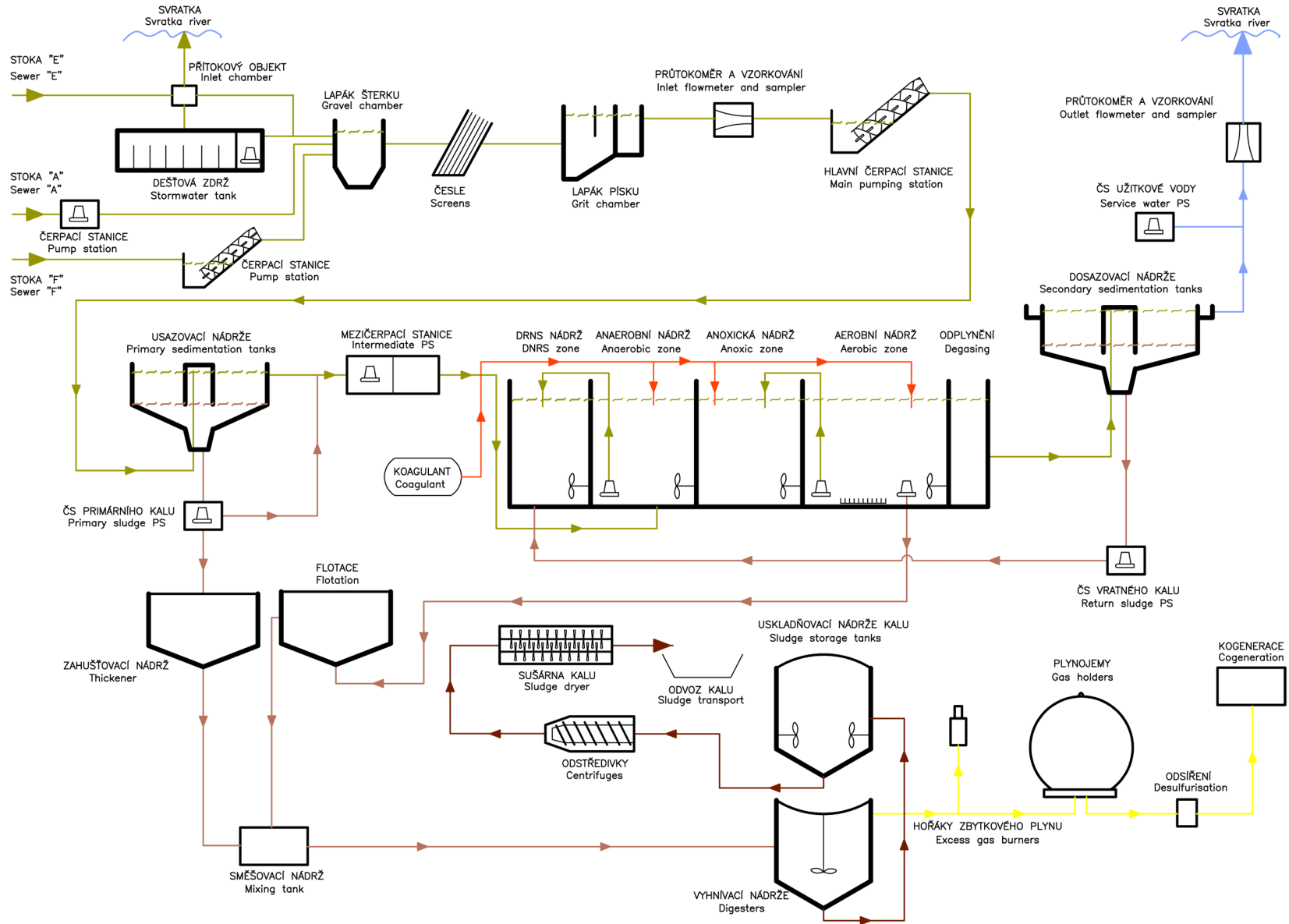


Na biologickém čištění v aerobní části se podílí 200 t a v anaerobní stabilizaci kalu části 45 t mikroorganismů

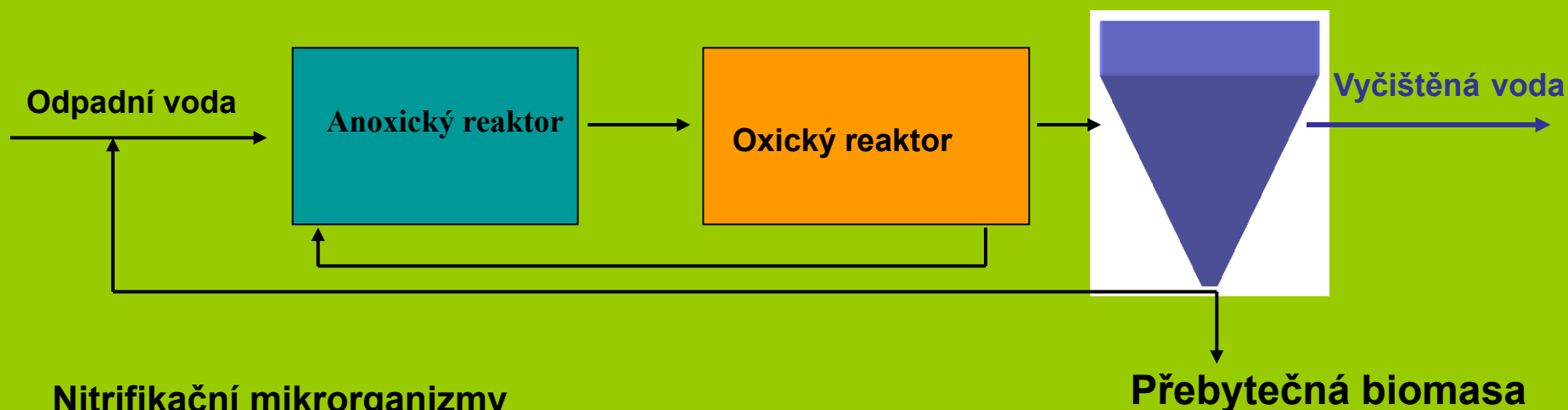
Biologické čištění odpadních vod



Schéma čistírny odpadních vod Modřice



Biologické odstraňování dusíku



Nitrifikační mikrorganizmy

Nitrospira, Nitrosoccus, Nitrosomonas, Nitrobakter sp.

$$\text{NH}_4 \longrightarrow \text{NO}_2^- \longrightarrow \text{NO}_3^-$$

Denitrifikační mikrorganizmy



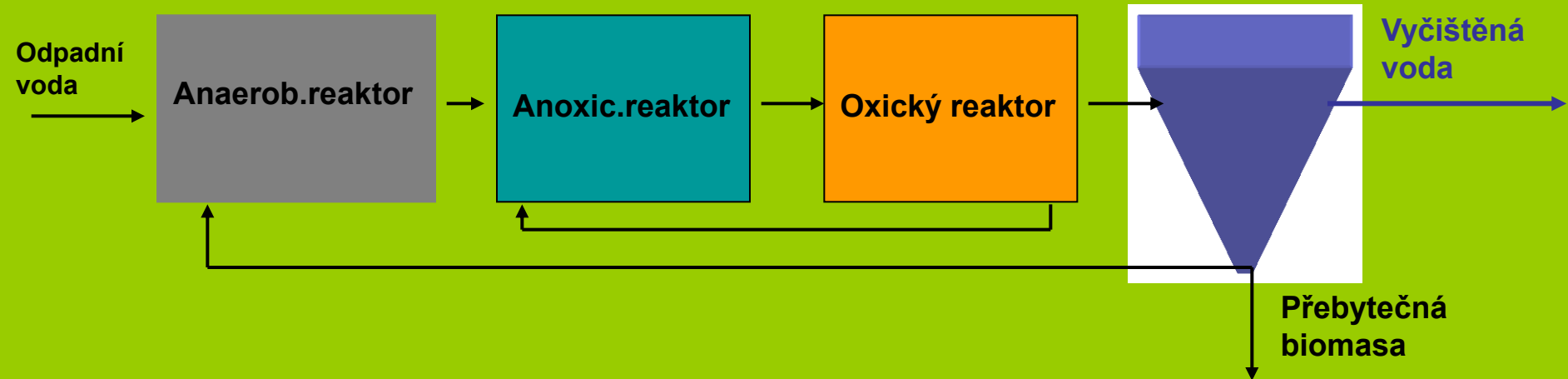
Heterotrofní:

Pseudomonas, Alcaligenes, Bacillus, Achromobakter, Hydrogenomonas aj.

Chemolitotrofní:

Thiobacillus, Nitrosomonas aj.

Schéma biologického odstraňování fosforu



Heterotrofní bakterie

s možností akumulovat fosfor (PO_4^{3-})

označované jako poly P bakterie

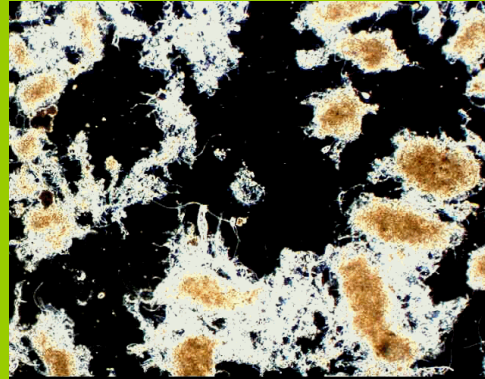
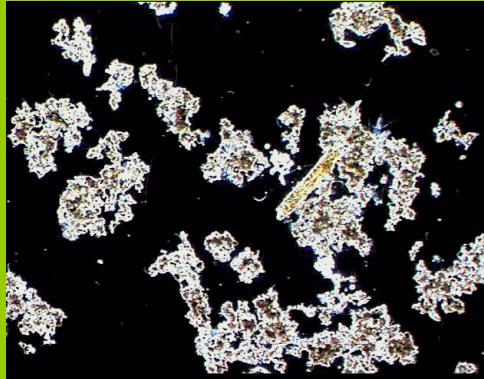
Acinetobacter junii, *Acinetobacter calcoaceticus*,

Lamproedia hyalina, *Moraxella* sp.,

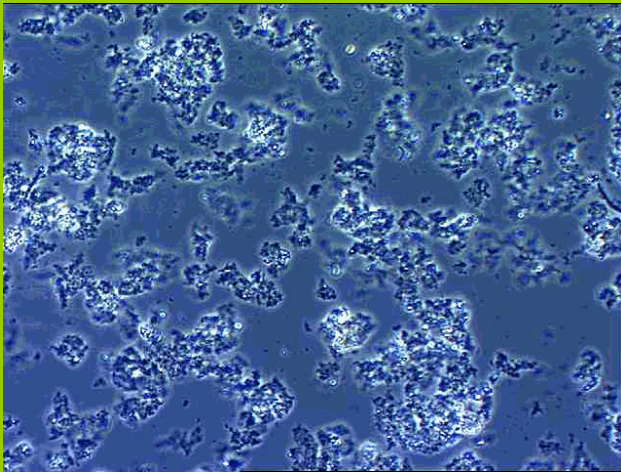
Pseudomonas sp. a řada dalších

Samostatně nebo v kombinaci s biologickým odstraňováním je možné použít rovněž *chemické srážení fosforu* dávkováním železnatých, železitých nebo hlinitých solí. Srážecí činidla jsou nejčastěji aplikována před usazovací nádrž

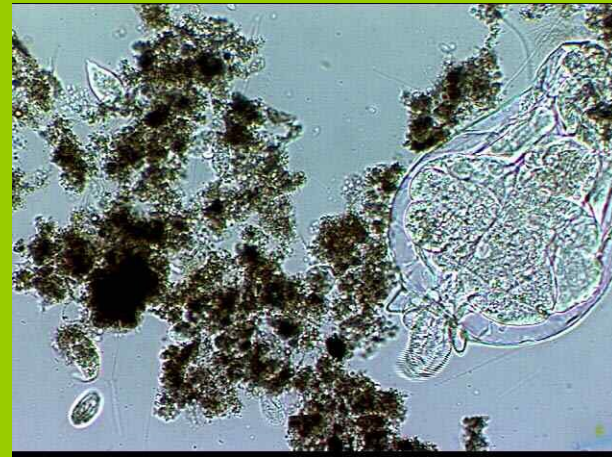
Tvorba floků v aktivním kalu



Floky představují spojení malých částic do velkých partikulí obsahující nejrůznější látky zbytky buněk, živé buňky a biopolyméry. Jedním z pozitivních aspektů bakterií tvořící floky je, že snadno sedimentují a snižují náklady na odvodňování. Negativním aspektem je vysoký podíl “obalových” polysacharidů. V těchto případech je sedimentace značně obtížná.



Tento floc je mladý a čistý



Tento floc je vytvořený ve starém kalu a začíná od středu “černat“

Kompostování

- **Kompostování je aerobní proces** přeměny organických materiálů vlivem mikrobiální aktivity na kompost
- Kompost je organický prostředek pro zlepšení půdy obsahující stabilizované organické látky a rostlinné živiny získané řízeným biologickým rozkladem směsi sestávající zejména z rostlinných zbytků a mající deklarované kvalitativní znaky



Kompostování

- Co se děje v kompostu

Pokud je vlhkost a teplota optimální, organická hmota se začne rychle rozkládat. Na rozkladu se podílí živé organismy - [houby](#), [aktinomycety](#), [řasy](#), [kvasinky](#), [bakterie](#), [roztoči](#), [červi](#), [chvostoskoci](#), a mnoho dalších drobných živočichů.

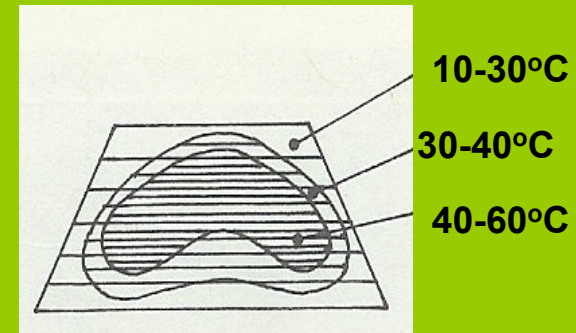
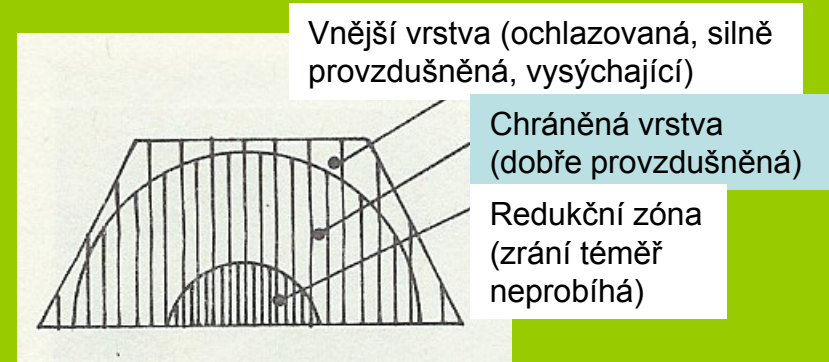
- Souběžně s rozkladem se zároveň vytvářejí nové sloučeniny. Organický odpad se přeměňuje na komplexní látky trvalého [humusu](#)
- Kompostování v
 - zakládkách (krechtové kompostování)
 - boxech
 - vacích
 - reaktorech

Kompostování

Krechtové kompostování



Krechtové kompostování znamená kompostování v podélných hromadách, které jsou pravidelně překopávány kvůli zvýšení poréznosti hromady a homogenity kompostovaných materiálů, zabezpečení dobrého provzdušňování a vhodné vlhkosti. Optimální vlhkost by měla být 50-60%. Při obsahu vody nad 60% se navozují anaerobní podmínky



Kompostování

Kompostování v boxech



Uzavřené kompostovací boxy s nuceným přívodem/odvodem vzduchu, bez koncovky pro čištění zápachů, umístěny v hale.

Kompostovací vaky



Kompostovací vak je vak určený ke [kompostování biologicky lehce rozložitelných odpadů](#), vybavený [aerací](#) a dalším příslušenstvím nezbytným pro kontrolu a řízení kompostovacího procesu.

Kompostování

- **Bioreaktorové kompostování** - kompostování v uzavřených bioreaktorech/fermentorech, v nichž je proces kompostování urychlován optimalizací aerace, vlhkosti a řízením teploty.
- Bioreaktory pro
 - diskontinuální provoz - tepelně izolované boxy, kontejnery nebo otáčivé bubny
 - Kontinuální provoz - tunelové nebo věžové bioreaktory, které jsou na vstupu průběžně plněny a na výstupu po 10-14 dnech vychází částečně zfermentovaný produkt.
- Během kompostování v reaktorech by měla teplota dosáhnout minimálně po dobu jedné hodiny 70 °C.