



BIOTECHNOLOGIE A PRAKTICKÉ VYUŽITÍ ŘAS A HUB

Úvod do biotechnologií • Kultivace sinic, řas a hub

- Sinice a řasy jako doplňky stravy • Výroba biopaliv pomocí sinic a řas
 - Genové a metabolické inženýrství sinic a řas
 - Jedlé houby a jejich pěstování • Jedovaté houby a otravy
- Léčivé látky hub a využití ve farmacii • **Houby v potravinářských technologiích**
 - Kvasinky jako expresní systém v molekulárních biotechnologiích
- Využití hub v zemědělství, biocontrol agents • Další způsoby využití hub
 - Hospodářské škody působené houbami

HOUBY V POTRAVINÁŘSTVÍ

Největší podíl v hospodářství má využití hub při výrobě pečiva a výrobě alkoholických látek (bráno souhrnně, potravinářství i průmyslová výroba lihu), dále výroba mléčných výrobků (sýrů, jogurtů), antibiotik a pěstování jedlých hub; podíl dalších možností hospodářského využití hub je relativně zanedbatelný.

Pro výrobu potravin, léčiv nebo průmyslových produktů jsou využívány nejen konkrétní druhy, ale i speciální kmeny – uplatňuje se uchovávání vysoce výkonných kmenů v čisté kultuře, ale i "šlechtění" za účelem ještě vyšší produkce nebo produkce dalších látek. Houby lze "šlechtit" v praxi trojím způsobem:

- mutageneze => selekce zmutovaných kmenů;
- hybridizace (genetická rekombinace);
- v poslední době genetické modifikace (kromě GM kmenů kvasinek jsou např. pro výrobu piva či vína využívány i GM vstupní suroviny).

Moderní výrobní postupy, založené na fermentačních procesech, využívají pro zvýšení výtěžnosti též imobilizované biokatalyzátory (buď enzymy nebo celé buňky kvasinek vázané na nějaké nosiče, např. algináty).

Nejvíce rozšířené i historicky nejstarší je **využití kvasinek *Saccharomyces cerevisiae***. Různé kmeny tohoto druhu (nebo příbuzné druhy) se využívají při výrobě:

- pečiva (kynutí těsta zásluhou CO₂ uvolňovaného při fermentaci);
- moštů a vína (fermentace ovocných šťáv bohatých na cukry);
- piva (látky bohaté na škrob, před vlastní fermentací rozložený na jednoduché cukry);
- likérů a lihovin (nutná destilace pro zvýšení obsahu alkoholu).

Chemická podstata **alkoholového kvašení** spočívá v tom, že enzymy kvasinek přeměňují v anaerobním prostředí jednoduché cukry na etanol a oxid uhličitý (zjednodušeně $C_6H_{12}O_6 \Rightarrow 2 CH_3CH_2OH + 2 CO_2$; rozepíšeme-li přeměny per partes, pak: sacharidy => kyselina pyrohroznová => CO₂ + acetaldehyd => etanol).

Produkce alkoholu není v tomto případě úplně čistá, zůstávají tam i cukry a kyseliny; navíc kromě etanolu mohou vznikat i jiné alkoholy (propylalkohol, ale i metylalkohol) – hovoří se o vzniku přiboudlin.

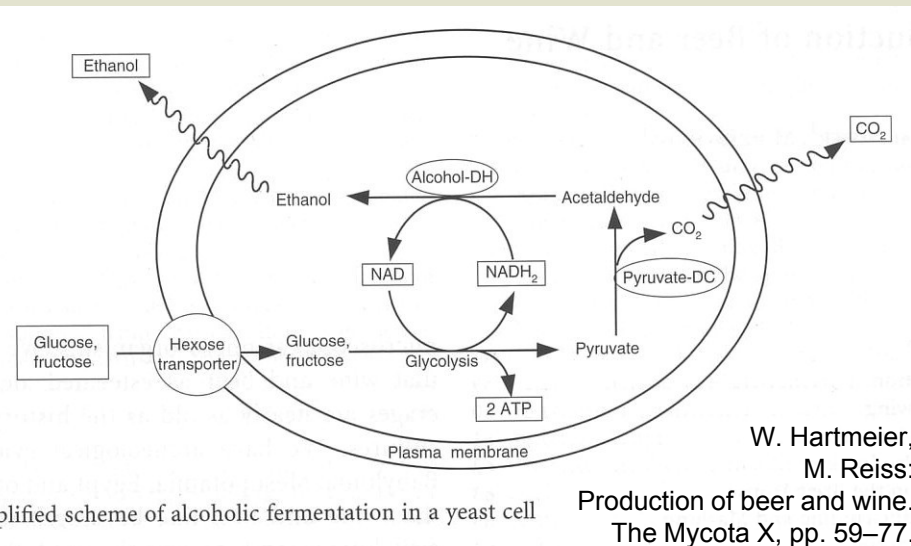
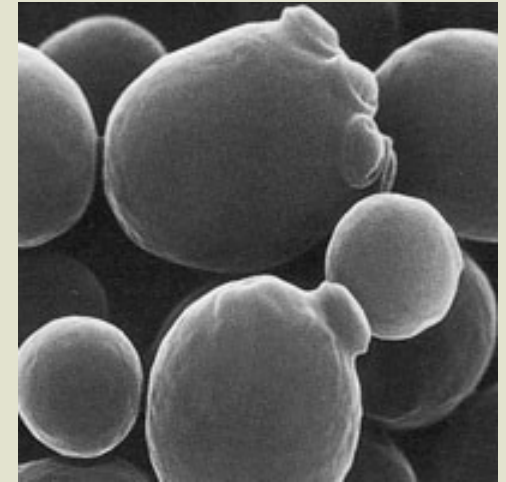


Fig. 3.1. Simplified scheme of alcoholic fermentation in a yeast cell

Fermentace nemusí být vázána striktně na anaerobní prostředí, ale v aerobním prostředí namísto kvašení (fermentace) probíhá spíše dýchání (respirace), které je pro houbu energeticky výhodnějším procesem ($C_6H_{12}O_6 + 6 O_2 \Rightarrow 6 H_2O + 6 CO_2 + \text{energie}$; při kvašení se také uvolňuje energie, ale asi 25x méně). V přítomnosti kyslíku tedy dochází k inhibici kvašení – tento jev je znám jako Pasteurův efekt.



Christina Agapakis,

http://scienceblogs.com/oscillator/index.php?utm_source=rssTextLink&page=4

Poznámka: V širším pojetí jsou výrazem "kvašení" nazývány i aerobní procesy – například v případě octového kvašení (provazovaného bakteriemi za vzniku kyseliny octové, používá se při výrobě octa) se nejedná o fermentaci, ale o oxidační proces.

VÝROBA PIVA

je známa od starověku; kvašené obilné nápoje se vyráběly již několik tisíciletí před naším letopočtem v různých částech světa – Mezopotámie (Sumerové, Akkadové), Indie (předárijská éra), Egypt (dle původní receptury z obilovin, datlí a máku, později přešli na ječný slad), záznamy jsou i z Peru (pivo z kukuřice).

V Evropě je pití piva neoddělitelně spojeno s kulturou germánských a slovanských národů – v raném středověku spolu s medovinou, od vrcholného středověku pivo dominuje a várečné právo je ceněnou výsadou, udělovanou zprvu klášterům, později i městům a šlechtických rodům.

Světová produkce v současné době se pohybuje v řádu miliard hektolitrů; aktuálně jsou největšími producenty piva ve světě USA a Čína. =>



Zdrojovými surovinami pro výrobu piva jsou **slad** (hmota bohatá na sacharidy, u nás typicky z ječmene, jinde i z jiných rostlin – další obiloviny, kasava, ale i agáve), **voda** (bez kvalitní vody není dobrého piva, v některých případech vlastnosti vody „dělají“ lokální pivo) a **chmelové produkty**.

Vlastnímu výrobnímu procesu v pivovaru předchází výroba sladu ve sladovnách.

Slad je produkt z obilok ječmene, případně jiných obilovin; kromě výroby piva se slad používá i pro přípravu lihu, limonád, pečiva nebo cukrárenských výrobků. Základem procesu jeho výroby je máčení v nádobách zvaných náduvníky (též máčecí štoky) při současném provzdušňování (na 42-47 % vody), vedoucí k naklíčení obilok. Opakovaným máčením obilok (mezi úseky máčení jsou zrna ponechána na vzduchu) dojde ke zvýšení obsahu vody v pletivu a stimulaci klíčení => obvykle pod náduvníky jsou

humna – velké haly, kam jsou zrna přesunuta k vlastnímu klíčení (probíhá několik dnů za pravidelného větrání, obracení a převrstvování zrn pro odvod CO_2 a tepla uvolňovaného při respiraci); v klíčícím zrně dochází k tomu, že amylázy (ty chybí kvasinkám, proto je naklíčení nutné) rozkládají zásobní škrob na jednodušší sacharidy (podobně proteolytické enzymy štěpí bílkoviny) => vznikne “zelený slad”, který je následně usušen (tzv. hvoždění, 24 hodin, 80-85 °C) pro zastavení klíčení; podle podílu barevných a aromatických látek (karamelu) může vznikat světlý, tmavý nebo nějaké speciální slady => na závěr je nutné oddělení klíčků (tzv. “sladový květ”), které jsou pak využívány jako krmivo bohaté na bílkoviny nebo v jiných fermentačních procesech.

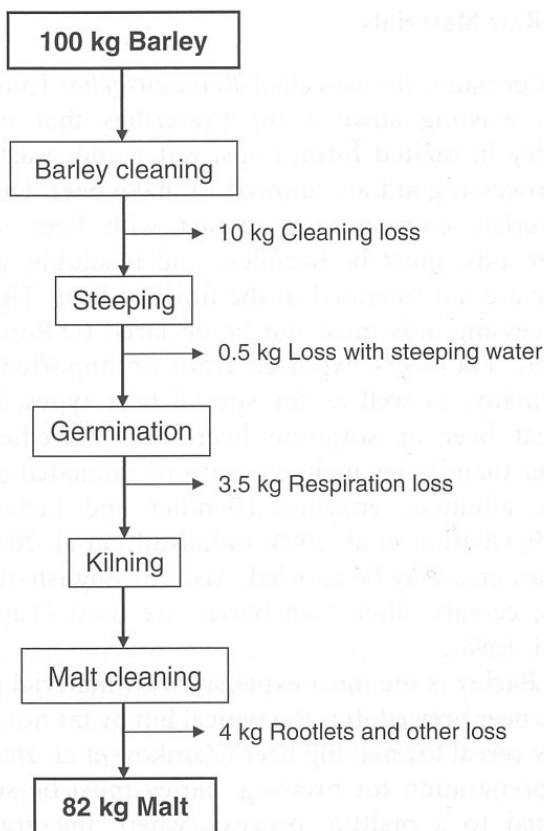


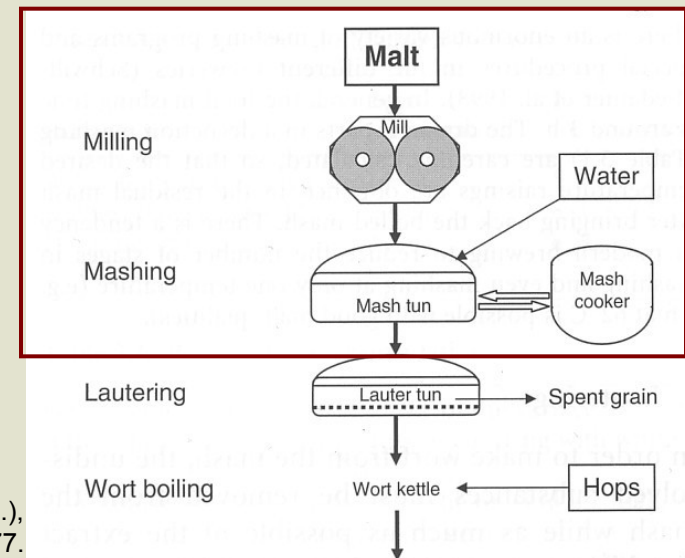
Fig. 3.2. Scheme of malt production

Winfried Hartmeier, Monika Reiss: Production of beer and wine. In: Martin Hofrichter (ed.), The Mycota X. Industrial applications (2nd ed., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 2010), pp. 59–77.

Vlastní výrobu piva lze rozdělit na tři výrobní úseky:

- příprava mladiny (horká fáze);
- kvašení mladiny a dokvašování mladého piva;
- závěrečné úpravy a stáčení zralého piva (dohromady studená fáze).

Příprava mladiny začíná **šrotováním** sladu - jde o mechanické drcení zrn, přičemž žádoucí je rozemletí endospermu a zároveň co nejmenší poškození pluch (obsahují polyfenoly aj. látky, které se poškozením uvolňují; kromě toho se pluchy posléze uplatňují při scezování) => následuje **vystírání** - promíchání sladu s vodou ve vystírací kádi (při teplotě 35-38 °C), kdy část látek přechází do "nálevu" (vyluhují se sacharidy + bílkoviny + minerální látky, které pak budou živnou půdou pro kvasinky) => obsah kádě (vystírka) pak prochází procesem **rmutování** - při různých teplotách (postupně zvyšovaných až na 75 °C) dochází k uvolňování kyselin, štěpení bílkovin a nakonec rozkladu škrobu (působením amyláz) => výsledkem je směs glukózy, maltózy a dextrinů – **sladina**. (Při výrobě českých ležáků je používán náročný proces dekokčního rmutování, využívající dvě nádoby a přečerpání vždy 1/3 obsahu do rmutovací pánve; provádí se 1-3 rmuty a nakonec dojde k povaření. Jednodušší infuzní způsob, pro který stačí jedna vystírací nádoba a zahřátí pro denaturaci enzymů jde max. na 78 °C, se uplatňuje při výrobě svrchně kvašených piv typu ale.)



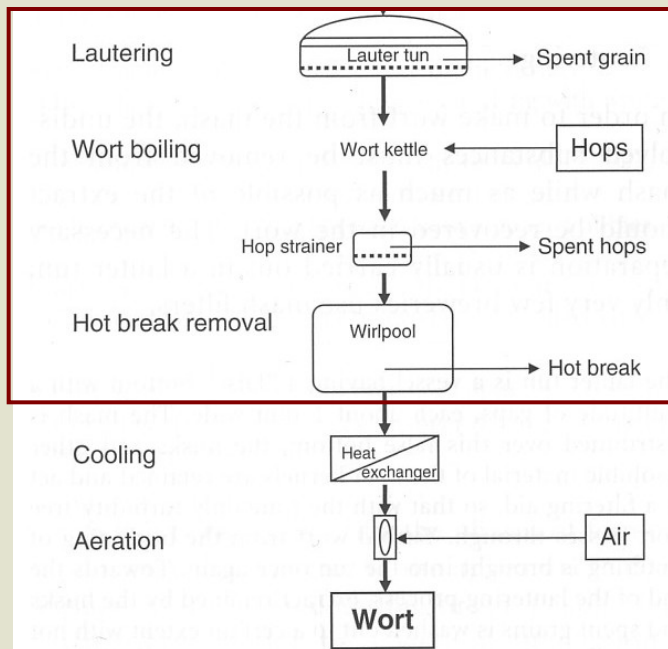


Fig. 3.3. Wort production line in the brew house

W. Hartmeier, M. Reiss: Production of beer and wine.

Sladina (roztok extraktu) je následně v procesu **scezování** oddělena od pevné složky, tzv. **mláta** - probíhá přes pluchy (proto je žádoucí, aby zůstaly co nejvíc neporušené) ve scezovací kádi s děrovaným dnem => napoprvé je sladina kalná a vrací se přes čerpadlo potrubím zpět nad mláto => až je sladina čirá, přečerpá se do mladinové pánve => poslední zbytky extraktu se pak z mláta získávají vyslazováním - vyluhováním vodou při 75 °C. Pivovarské mláto, tedy tuhé zbytky pluch a vysrážených látek (bílkovinný kal), je pak využíváno jako krmivo pro zvířata.

Předek (čirá zfiltrovaná sladina) a výstřelky (roztok z vyslazování) jsou shromážděny v mladinové pánvi, kde následuje **chmelovar** - chmelové látky nejen dodají pivu hořkou chuť (a jemný sedativní efekt),

ale též omezují růst kontaminujících mikroorganismů (zejména G- bakterií). Proces chmelovaru spočívá v postupném přidávání (ve 2-3 krocích během 90-120 minut) chmele nebo chmelových přípravků (dnes se spíše uplatňují granule nebo pasty než přírodní chmel) => převedení **hořkých látek do mladiny** (označení pro povařenou sladinu s chmelem), její sterilizace, inaktivace enzymů a vysrážení (koagulace) bílkovin s polyfenoly sladu a chmele. Zde se určuje **stupňovitost piva** = koncentrace extraktu původní mladiny: 8°-10° (= 8-10 % zkvasitelného extraktu v celkové hmotě mladiny, zbytek je voda) mají výčepní piva, 11°-12° ležáky, 13° a víc speciály (pod 8 % jde o tzv. lehká piva).

Následné chlazení mladiny (dříve bývalo v otevřených kádích s přístupem kyslíku ze vzduchu) se dnes provádí v uzavřených vířivých kádích s výměníky tepla; nakonec je za sterilních podmínek mladina dosycena kyslíkem (který pak napomůže rozvoji kvasinek).

Kvašení mladiny probíhá ve dvou fázích: hlavní kvašení a dokvašování. Kvašení probíhá v tzv. spilce (kvasírně) - zde je mladina v kádích (dříve dubové nebo modřínové, dnes nerezové), kam byla přidána kultura kvasinek; jsou-li použity čisté násadní kvasnice (ne recyklované - viz dále), prochází mladina nejprve sterilizátorem do kvasného válce, kde probíhá kvašení čistou kulturou z laboratoře. V kádích kvasinky maltázou rozkládají maltózu na glukózové jednotky - mladina přechází na tzv. **mladé pivo**.

Tradiční způsob, používaný od starověku a dnes v západní Evropě a Americe, spočívá v uplatnění **svrchních kvasinek** - *Saccharomyces cerevisiae*, které po vykvašení vyplavou na povrch (piva typu ale, porter, stout). U nás převládá od 19. století využití **spodních pivovarských kvasinek** - *S. cerevisiae* ssp. *uvarum* nebo ssp. *carlsbergensis*, které pracují při nižších teplotách 6-12 °C a usazují se na dně kádí.

Stěžejním procesem kvašení je **rozklad sacharidů** na **etanol a CO₂** (souběžně vznikají další látky, jejichž zastoupení pak určí chuť piva); růst kultury kvasinek začíná aerobně, se zvyšujícím se obsahem etanolu postupně přechází na anaerobní => zastaví se, až hladina alkoholu dosáhne hranice, kdy jim začne vadit => pak buňky klesnou ke dnu. Celý proces trvá zhruba týden, na jeho konci je možno sebrat usazené kvasinky, proprat studenou vodou (odstranění mrtvých buněk) a znovu nasadit (možno několikrát opakovat, ale zvyšuje se riziko kontaminace).

Dnes jsou zkoušeny bioreaktory na imobilizované kvasinky (upoutané na nosiče - pluchy, algináty aj.), které by měly zkrátit dobu kvašení (na desítky hodin) a vydržet několik měsíců “v provozu” ve sterilním stavu bez nutnosti recyklace.

POSTUP VÝROBY PIVA

1. VYSTÍRACÍ KÁDĚ: VE VYSTÍRACÍ KÁDĚ SE SMÍCHÁVÁ SÚCHÝ SLADOVÝ ŠROT S VYSTÍRACÍ VODOU. TEPLOTA VODY JE 37°C. VZNIKÁ SMĚS SE NAZÝVÁ VYSTÍRKA.

2. RMUTOVACÍ KOTEL: DÍLEM RMUTOVÁNÍ JE PŘEVĚDĚNÍ ŠKROBU A NEROZPUŠTĚNÝCH SLOŽEK EXTRAKTU SLADU DO ROZTOKU. A ROZŠTĚPENÍ DO FORMY JEDNODUCHÝCH ZKVASITELNÝCH CUKRŮ. 1/3 VYSTÍRKY SE PŘEPUSTÍ DO RMUTOVACÍ KÁDĚ, RMŮT JE POSTUPNĚ ZAHŘÍVÁN PŘI DOORŽENÍ ČASOVÝCH PRODLAV NA TECHNOLOGICKY DŮLEŽITÉ TEPLoty (52°C, 63°C, 74°C), POTÉ SE KRÁTCE VAŘÍ A DPĚT SE VRÁTÍ DO VYSTÍRACÍ KÁDĚ. PROCES SE OPAKUJE 2X.

3. SČEZOVACÍ KÁDĚ: SČEZOVÁNÍ ZBAVÍ DÍL NERAZPUŠTITELNÝCH LÁTEK SLADU – MLÁTO, KTERÉ SE USADÍ NA PERFOROVANÉM DNĚ KÁDĚ. PŘES TAKTO VZNIKLÝ PŘIROZENÝ FILTR JE PŘEFILTROVÁN CELÝ OBSAH DO MLADINOVÉHO KOTLE. VÝSLEDNÝ PRODUKT SE NAZÝVÁ SLADINA.

4. MLADINOVÝ KOTEL: DO MLADINOVÉHO KOTLE PŘÍCHÁZÍ JIŽ ČIRÁ SLADINA, KTERÁ SE ZDE PO PŘIDÁNÍ CHMELU VAŘÍ 90-120 MIN. BĚHEM VAŘENÍ PŘECHÁZÍ HOŘKÉ LÁTKY Z CHMELU DO SLADINY. VÝSLEDNÝM PRODUKTEM JE MLADINA, KTERÁ OBSAHUJE JEDNODUCHÉ ZKVASITELNÉ CUKRY, BARVICÍ LÁTKY, HOŘKÉ CHMELOVÉ LÁTKY, BÍLKOVINY A TŘÍSLOVINY (HRUBÝ A JEMNÝ KAL).

5. VÍŘIVÁ KÁDĚ: MLADINA SE NAPONUŠTÍ DO VÍŘIVÉ KÁDĚ TANGENCIÁLNÍM VTOKEM PŘÍSLUŠNÝ RYCHLOSTÍ A VZNIKLÝM VÍŘENÍM SE HRUBÉ KALY USADÍ UPROSTŘED MÍRNĚ KUŽELOVÉHO DNA DO KALOVÉHO KUŽELE.

6. CHLADIČ: MLADINA SE PO USAZENÍ KALŮ ZCHLAZUJE Z TEPLoty 95°C NA ZÁKVASNOU TEPLotu, KTERÁ SE POHYBUJE V ROZMEZÍ 7 - 9°C. DCHLAZENÍ MLADINY PROBÍHÁ V DESKOVÉM CHLADIČI.

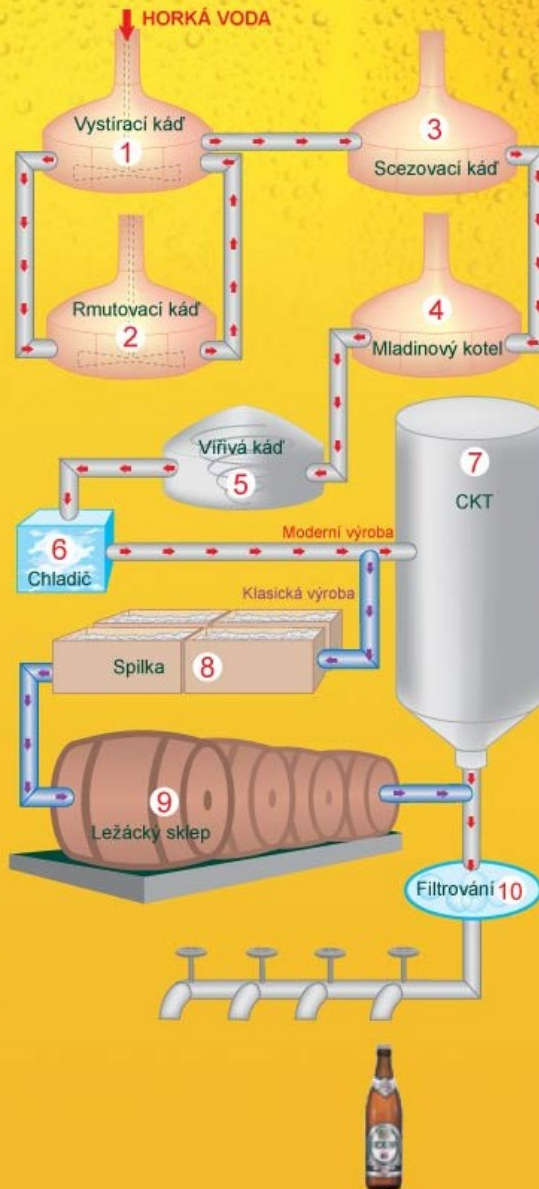
7. DK TANK: ZCHLAZENÁ, PROVZDUŠNĚNÁ A ZAKVASĚNÁ MLADINA SE NAPLNÍ DO DKT, KDE PROBĚHNE PROCES HLAVNÍHO KVAŠENÍ, KTERÝ TRVÁ 7 DNÍ. MAXIMÁLNÍ TEPLOTA HLAVNÍHO KVAŠENÍ JE 12°C. PO 7 DNECH SE ODPUŠTÍ (ODSTŘELÍ) KVASNICE A CELÝ OBJEM TANKU SE ZCHLADÍ AŽ NA 0°C. PŘI TĚTO TEPLotĚ PIVO DOKVAŠUJE A ZRAJE. CELKOVÁ VÝROBNÍ DOBA PIVA V DKT JE 15 - 30 DNŮ. PO TĚTO DOBĚ SE MŮŽE PIVO ZFILTROVAT.

8. SPILKA: VE SPILCE PROVZDUŠNĚNÁ MLADINA S KVASINKAMI KVASÍ A VZNIKÁ ZDE MLADÉ PIVO. KVASINKY V PRŮBĚHU KVAŠENÍ ZPRACOVÁVÁJÍ EXTRAKT A VYTVÁŘÍ ALKOHOL, CO₂.

9. LEŽÁCKÝ SKLEP: VE SKLEPĚ JE PIVO V LEŽÁCKÝCH TANCÍCH DOKVAŠOVÁNO. ZÍSKÁVÁ JEMNĚJŠÍ CHUŤ A VĚTŠÍ OBSAH CO₂. PIVO LEŽÁK JE VE SKLEPÍCH UCHOVÁNO 30DNÍ. VÝČERNÍ PIVA 15 - 20 DNÍ.

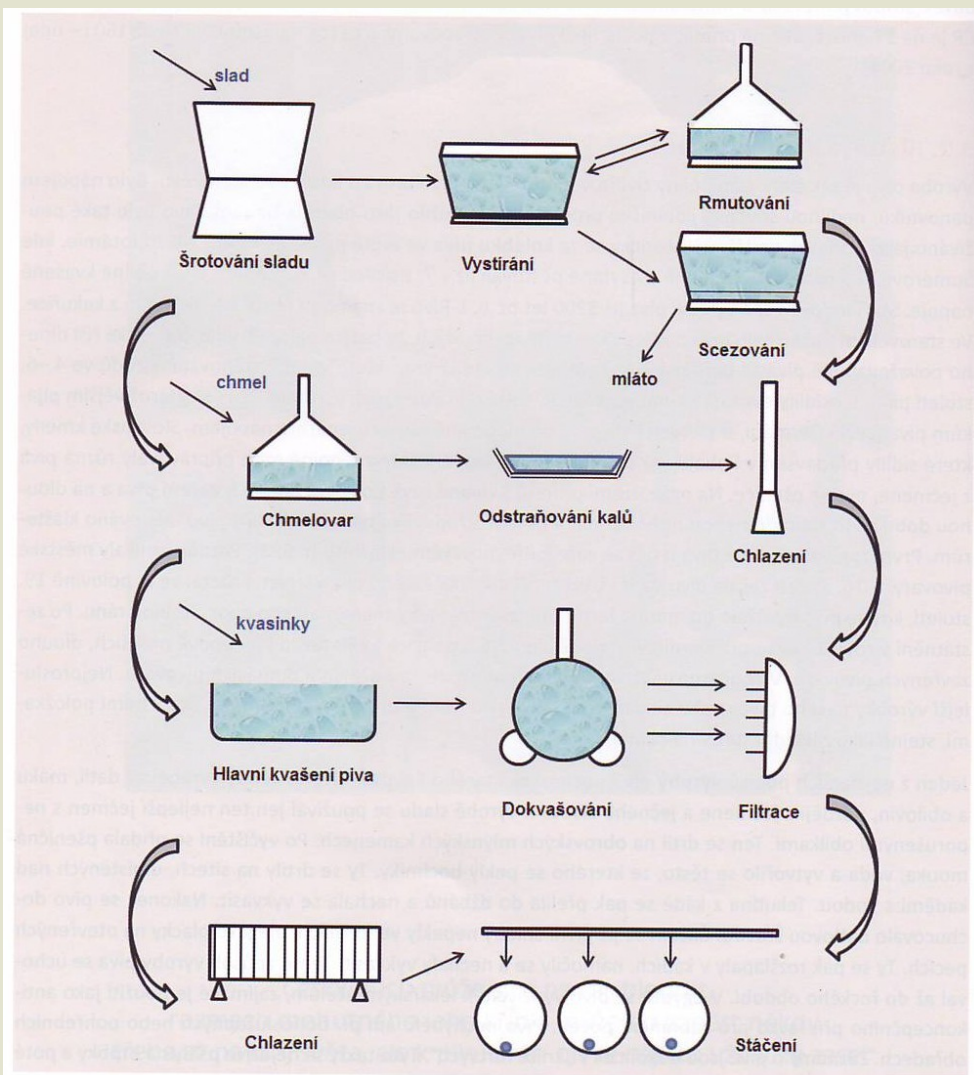
10. FILTROVÁNÍ: HOTOVÉ PIVO PROCHÁZÍ FILTREM. KŘEMELINOVÉ FILTRY SLDUŽÍ PRO ODSTRANĚNÍ ZÁKALOTVORNÝCH ČÁSTIC A ZBYLÝCH KVASNICNÝCH BUNĚK.

11. STÁČÍRNA: HOTOVÉ PIVO JE STÁČENO DO TRANSPORTNÍCH OBALŮ – BUDŮ, LAHVÍ, PLECHOVK A CISTERN. PIVO JE PŘED PLNĚNÍM PASTEROVÁNO.



Mladé pivo, které ještě obsahuje podíl kvasnic a zčásti nezkašeného extraktu, jde pak do ležáckých tanků (nejčastěji 250 hl; dříve se používaly dubové kádě do 100 hl), kde probíhá **dokvašování a zrání**.

Jde o proces za nízké teploty (1-3 °C) spojený se sycením CO₂; čím déle pivo “leží”, tím mívá větší říz (10° zraje obvykle 20 dní, 11° 35 dní, 12° 50 dní). Během zrání může být též redukován obsah látek, které by nepříznivě ovlivnily chuťové vlastnosti (např. máselná chuť diacetylu => redukce na acetoin).



Obrázek 3.1. Technologické schéma výroby piva. Překresleno: B. Mieslerová (upraveno podle www.soudom.cz).

B. Mieslerová, M. Sedlářová, A. Lebeda: Praktické využití hub a houbám podobných organismů v potravinářství, zemědělství, lékařství a průmyslu. UP Olomouc, 2015.

Trvanlivost piva (aby bylo možno je skladovat a transportovat) dosahují závěrečné úpravy, při kterých je zbavováno mikroorganismů a látek, které mohou tvořit zákal. Základem je **filtrace** na křemelinových (křemelina naplavená na filtrační přepážku) nebo jiných filtrech, zachycujících zbylé buňky i jemný kal; v této fázi je nežádoucí styk s kyslíkem (může ovlivnit chuť, barvu i stabilitu výsledného produktu), proto filtrace nejčastěji probíhá v ochranné vrstvě dusíku a CO₂. Trvanlivost je pak zvyšována stabilizací (snížení náchylnosti k tvorbě zákalu) - jako stabilizátory se používají adsorbenty dusíkatých látek a polyfenolů nebo enzymové přípravky, které tyto látky sráží či štěpí. Tradičně je prováděna pasterizace piva zahřátím (eliminace působení mikroorganismů); dnes tento proces některé pivovary nahrazují mikrofiltrací.

Konečnou fází procesu je **stáčení** do transportních obalů - lahví, sudů (ještě ve 20. století bylo pivo přepravováno v ležáckých sudech, ve kterých ještě dokvášelo) nebo tanků. Při stáčení je důležité zamezit ztrátám CO_2 a též styku s kyslíkem (dnes je pivo stáčeno pod tlakem dusíku nebo CO_2).

Tradičně jsou rozlišována piva světlá/tmavá (podle obsahu látek ve sladu), svrchně/spodně kvašená a s různou stupňovitostí (vše viz výše). Mimo tradičních **druhů piv** dnes získávají na popularitě piva **pšeničná** (min. 1/3 pšeničného sladu v extraktu), **kvasnicová** (do piva je v průběhu stáčení přidán drobný podíl rozkvašené mladiny, obsahuje tedy živé kvasinky) nebo s různými přídávky - **bylinná, ovocná, ochucená** (příp. mix s limonádou, známý jako radler).

Speciálními postupy jsou připravována piva **nealkoholická** (do 0,4 % hmotnosti) nebo **nízkoalkoholická** (do 1 % hmotnosti, to už není pro řidiče). Jednodušší je omezit množství vznikajícího etanolu při výrobě - toho je dosahováno zkvašením mladiny s nízkým obsahem sacharidů (získané ze sladu s malou aktivitou β -amylázy) nebo smícháním piva s nezkvašenou mladinou (tedy vlastně naředění alkoholu), případně imobilizace kvasinek nebo inhibice jejich metabolismu tlakem (zkrácení doby fermentace). Náročnější cestou je pak dodatečné odstraňování etanolu destilací nebo jinými procesy.

Dietní pivo s nízkým obsahem cukru se připravuje přidáním nepřevařené mladiny nebo přímo enzymů před koncem fermentace (k rozkladu sacharidů, které zůstaly v mladině a nemohly je již rozložit enzymy zničené během varu).

Kvasnými procesy je možno vyrábět i jiné nápoje. V různých částech světa se vyrábí například:

- **kvas** (oblíbený v Rusku, Ukrajině a Pobaltí) vzniká zkvašením tmavého chleba s přidáním kvasnic, cukru a vody; jde o lehký nápoj s obsahem maximálně 1,2 % alkoholu;
- **boza** (Egypt, Turecko, Bulharsko) je podobná pivu a vzniká z obilovin (proso, kukuřice, pšenice, čirok) působením kvasinek a bakterií mléčného kvašení;
- **pito** (Ghana, Nigérie) není nealko pivo :o), ale vzniká kvašením směsi čiroku a kukuřice; vedle kvasinek a mléčných bakterií se uplatňují i vláknité “plísně”;
- **pombe** (Afrika) je vyráběno z prosa s využitím *Schizosaccharomyces pombe*;
- dále je k výrobě piva využíván i čirok (též Afrika) nebo kasava (nápoj zvaný tape ub v Indonésii nebo Malajsii).

Schizosaccharomyces pombe

Nicholas Rhind, <http://www.umassmed.edu/bmp/faculty/rhind.cfm?start=0>



VÝROBA VÍNA

Nejstarší vykopávky svědčící o pěstování vinné révy pocházejí z oblasti kolem Kaspického moře (Arménie) kolem 4 tisíc let před n. l.; zřejmě odtud se rozšířilo do dalších oblastí Blízkého Východu, jižní a východní Asie, stejně jako kolem Středozemního moře - v Egyptě byly nalezeny džbány v hrobech z konce 4. tisíciletí př. n. l., vrcholného rozkvětu vinařství dosáhlo v antickém Řecku a Římské říši.

V Evropě se (po určitém útlumu na počátku středověku) rozvíjí zejména ve Francii a Mediteránu, v českých zemích je pěstováno od 14. století (za Rudolfa II. tu bylo asi 40 000 ha vinic, tedy asi dvojnásobek současné rozlohy).

Mimo Evropu jsou velkými producenty vína USA, Argentina a Chile, Austrálie a Nový Zéland.

Dnes je vyšlechtěna spousta odrůd nejen s ohledem na chuťové vlastnosti, ale třeba i na rezistenci k patogenům (včetně GMO, např. s geny pro produkci *Trichoderma* endochitinázy).

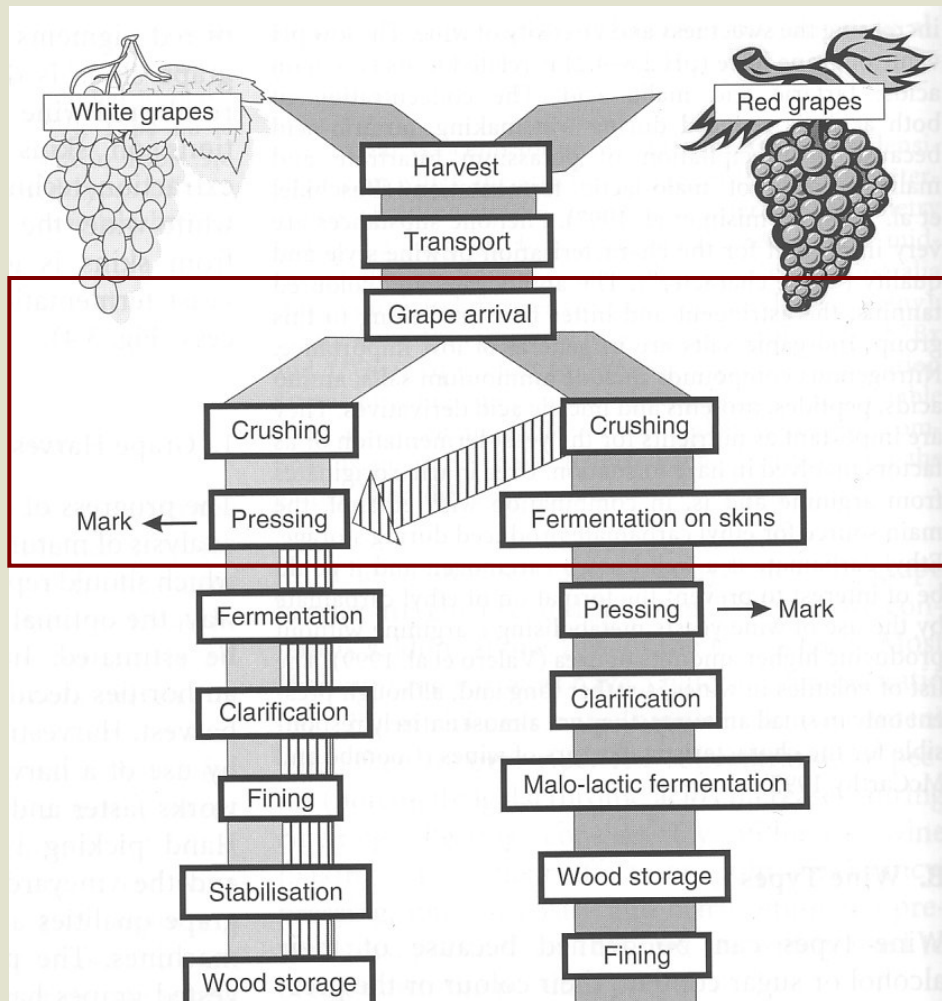
Světová produkce vína je zhruba ve stejné výši jako výroba piva, tedy miliardy hektolitrů ročně.

Výchozí surovinou jsou **bobule vinné révy** s vysokým obsahem cukrů (zejména glukóza a fruktóza; celkem 10-24 % v závislosti na odrůdě, klimatických podmínkách a zralosti plodů) a organických kyselin (k. vinná, jablečná, citronová aj., mají na svědomí i nízké pH v rozmezí 2,8-4,2). S dozráváním v hroznech klesá obsah kyselin, roste zastoupení cukrů (hlavně fruktózy) a pektinů (na ty jsou pak nasazovány pektinolytické enzymy).

Odrůdy jsou určeny zejména obsahem barviv a aromatických látek ve slupkách bobulí. Základní rozdělení lze provést na **odrůdy stolní**, jež chuť a obsah živin a vitamínů předurčuje k přímé konzumaci, a **odrůdy moštové**, určené pro výrobu révových vín.

Bobule (žluto)zelené, případně přecházející do červených odstínů, jsou surovinou pro výrobu bílých vín, bobule modrofialové pak pro vína červená.

Pro **sklizeň** je důležitá zralost hroznů (málo dozralé mají kyselou chuť, obsah kyselin se pak projeví i ve víně). Dovolí-li počasí, je vhodné nechat hrozny pro bílá vína zrát co nejdéle (pro co nejvyšší obsah cukrů); modré hrozny by se neměly nechat přezrát, dochází pak k rozkladu barviv. Optimální cukernatost je 17-22 % (záleží na odrůdě) a její stanovení z odebraných vzorků (bobule se rozmačkají a vylisují, obsah cukru v moštu se pak stanoví pomocí moštoměrů) je stěžejní pro správné načasování sklizně (nízký obsah cukrů => málo alkoholu => nízká kvalita vína; naopak z moc sladkého moštu může být víno s vysokým obsahem alkoholu a zbytkovým cukrem k tomu).

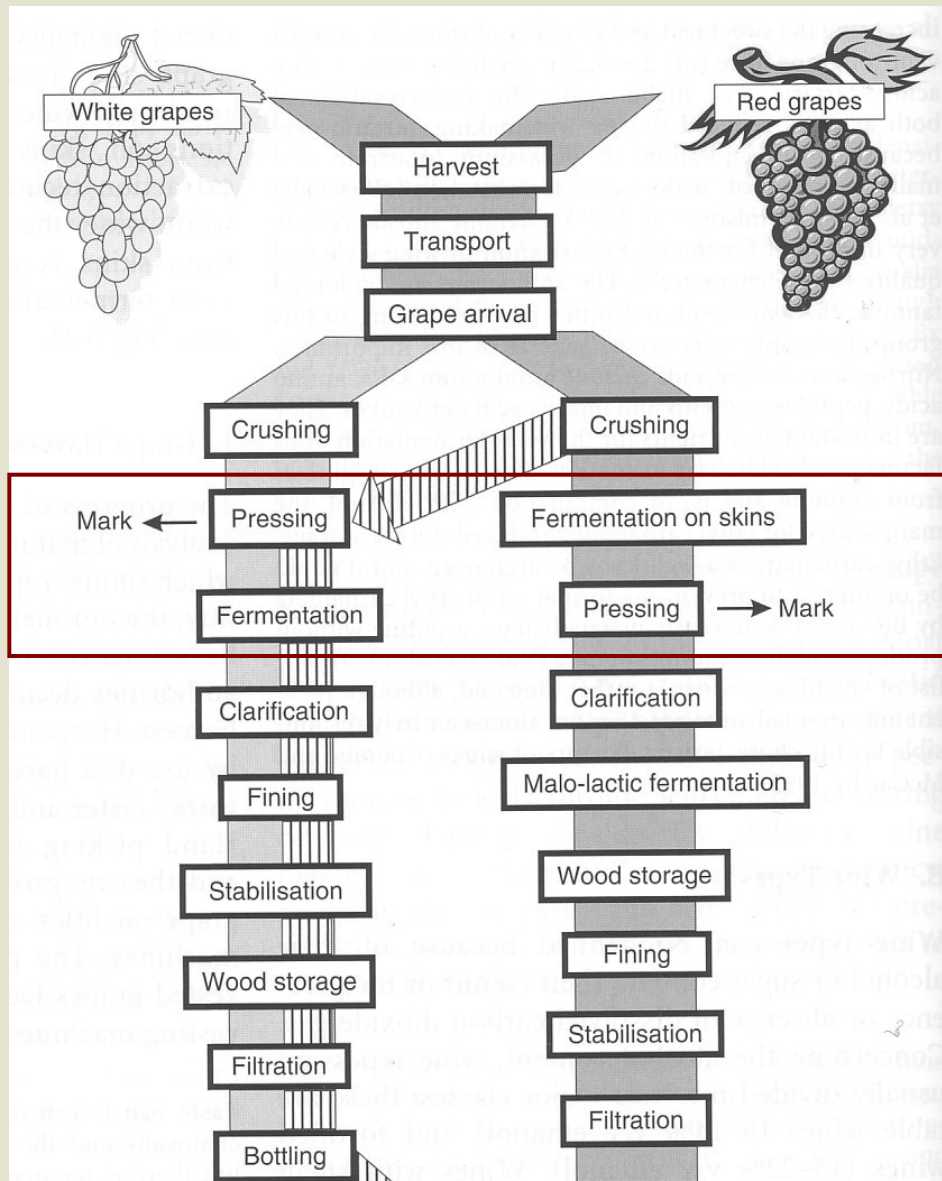


W. Hartmeier, M. Reiss: Production of beer and wine. The Mycota X, pp. 59–77.

10-14 dnů). Pro bílá vína se nakvášení provádí jen krátce u některých aromatických odrůd (v řádu hodin) a pro výrobu růžového vína se mohou nechat podobně krátce nakvasit modré hrozny, pak je oddělen mošt od slupek (ze kterých se stačilo uvolnit jen malé množství barviva) a dále jako při výrobě bílého vína.

Na sklizeň navazuje ještě týž den **třídění** (vyřazení napadených nebo poškozených bobulí), **odstopkování a odzrňování** - používají se různé typy mlýnků a odzrňovačů, které podrtí bobule a do sběrné nádrže protéká rmut (laicky: výraz pro rozemleté hrozny); přitom by nemělo docházet k poškození semen a stopek (vinařsky: třapin), ze kterých by do rmutu přešly chlorofyl a třísloviny, z nichž je pak trpká příchuť.

Než jde rmut na lisování, vyplatí se jej **scedit** v kádích nebo speciálních nádržích (může zmenšit objem až o 50 %) a v případě modrých odrůd je důležité **nakvášení** pro vyluhování barviv a tříslovin, které jsou jen ve slupkách (je důležité neustálé míchání pro urychlení procesu, který i tak trvá



K oddělení moštu (tekuté složky) od tuhých částí rmutu slouží **lisování**. Scezený mošt, který odteče před začátkem lisování, se označuje samotok (obsahuje nejvíc cukru a buketních látek); mošt z prvního lisování (tzv. střed, zejména z dužiny a slupek) má ještě dost cukru, ze druhého a třetího lisování (hlavně ze slupek a stopek) se zvyšuje podíl tříslovin a barviv. Pro další zpracování se dávají dohromady samotok + střední mošt a zvláště dotažky (z druhého a třetího lisování). Specifickým procesem se získává klaret - bílé víno z modrých hroznů, které se vylisují jen mírně, takže je získán jen mošt z dužiny (takto "předlisované" hrozny pak jdou do rmutu na červené víno). Odpad po lisování (tzv. matolin) ještě obsahuje trochu moštu, takže se pak může zalít vodou, nechat nakvasit a znovu vylisovat - tak se vyrábí "druháček" (povoleno jen pro vlastní spotřebu).

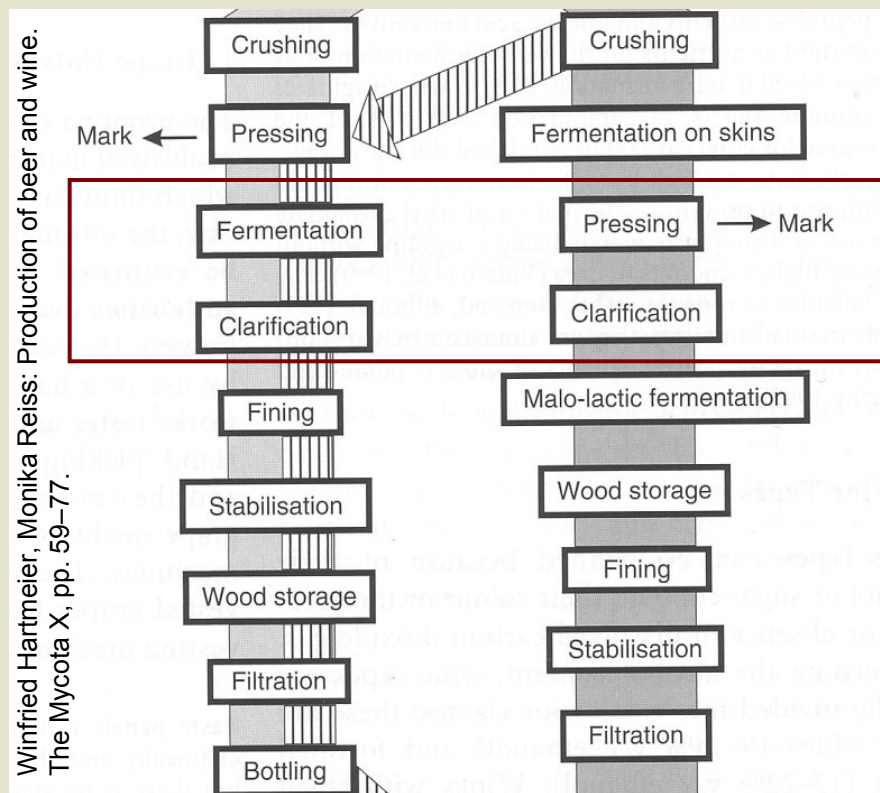
Dle potřeby může vylisovaný mošt projít dalšími úpravami:

- nemá-li předepsanou cukernatost, je třeba **přislazování** (rozmíchání cukru nebo zahuštěného moštu v menším množství moštu, v celé nádobě by se řádně nerozpustil);
- nadměrné množství kyseliny vinné je možno vyvázat uhličitánem vápenatým (naopak při malém obsahu je možno ji přidat); jinak je **odkyselování** možno dosáhnout mísením s méně kyselým moštem (tzv. scelování);
- **odkalování** mechanické (odstředění nebo filtrace) nebo chemické (plnění do zasířených sudů);
- **síření** jako ochrana před oxidací a bakteriální nebo houbovou kontaminací (čerstvé hrozny jsou substrátem pro řadu mikroorganismů, nežádoucí organismy mohou být tímto způsobem likvidovány); výhodou vinných kvasinek je, že snesou výrazně vyšší koncentraci SO₂ než jiné mikroorganismy (kromě redukčních a konzervačních účinků oxid siřičitý též zamezuje nežádoucím změnám barvy nebo tvoří sloučeniny mající příjemný buket), ale nesmí se to přehnat, aby mošt pak kvasil;
- **provzdušňování** moštů skladovaných v nepropustných nádržích (pro činnost kvasinek je třeba prosycení moštu kyslíkem).

Pro samovolný průběh **kvašení** (proces, při kterém rozkladem sacharidů vzniká etanol a CO₂ + nějaké vedlejší produkty) lze využít přirozené mikrobioty (různé druhy „divokých“ kvasinek), pochází-li mošt ze zdravých hroznů a nedošlo-li k nežádoucím zásahům, které by mohly mikrobiotu negativně ovlivnit (kontaminace). Do moštu z hroznů sklizených za vlhka nebo poškozených bývají přidány čisté kultury kvasinek; ve velkovýrobě se tak děje vždy. V malovýrobě lze napomoci kvašení zákvasem (z předem sklizených vyzrálých hroznů) nebo přidáním kvasícího moštu z jiné nádoby (tzv. řezání).

Čisté kultury vinných kvasinek (*Saccharomyces cerevisiae* /syn. *S. vini*, *S. ellipsoideus*/ nebo *S. bayanus*) se před přidáním namoží v malém množství moštu s přidavkem cukru (zákvas). V menším množství lze kvasit v demižonech, ve velkovýrobě probíhá kvašení v nerezových nádobách (plní se ze 3/4; mošty z modrých hroznů se plní až po vrch a uzavřou kvasnou zátkou, která umožňuje unikání CO₂).

Nebezpečí představují "killer yeasts" = "zabijácké kvasinky" (napadené virem => produkují látky toxické pro jiné druhy), schopné zlikvidovat původní kulturu kvasinek a buď zastavit fermentaci nebo převzít úlohu původní kultury; na druhou stranu je zde potenciál jejich využití pro sterilizaci moštu před kvašením (nebylo by potřeba provádět sterilizaci sířením).



V **počátku kvašení** se uplatňují "divoké" kvasinky (viz výše), které odumírají, když se zvýší koncentrace alkoholu; při obsahu alkoholu přes 5 % se množí ušlechtilé vinné kvasinky => po pár dnech fáze **bouřlivého kvašení**, při které se masivně uvolňuje CO₂ a zvyšuje teplota - tu je třeba regulovat (podle kmenů kvasinek na různé hodnoty v rozmezí 10-18 °C - vyšší teplota je lepší pro kvasinky, ale rychlé kvašení vede ke ztrátám alkoholu i buketu; chladnomilné kvasinky kvasí déle, ale víno pak je kvalitnější). Rozkvašený mošt v této fázi (obsahuje ještě více cukru než alkoholu) je **burčák**.

Po skončení fáze bouřlivého kvašení (dáno vyčerpáním zásob cukru a zvýšením obsahu alkoholu) se dolévá zbytek objemu nádoby (vínem stejné odrůdy) a nastává **dokvašování** (až několik měsíců) - ustane činnost kvasinek, postupně odumírají, klesají ke dnu a spolu s různými nečistotami tvoří kvasničné kaly (zprvu rozptýlený zákal se usazuje) => mladé víno se odděluje stáčením (pro dobré vyčištění opakovaným), ve velkovýrobě se používají filtrační zařízení. (I když je víno čiré a kaly u dna, ještě v nich probíhá biologické odbourávání kyselin - je třeba víno stáčet po dokončení dokvašení, když už není kyselé.)

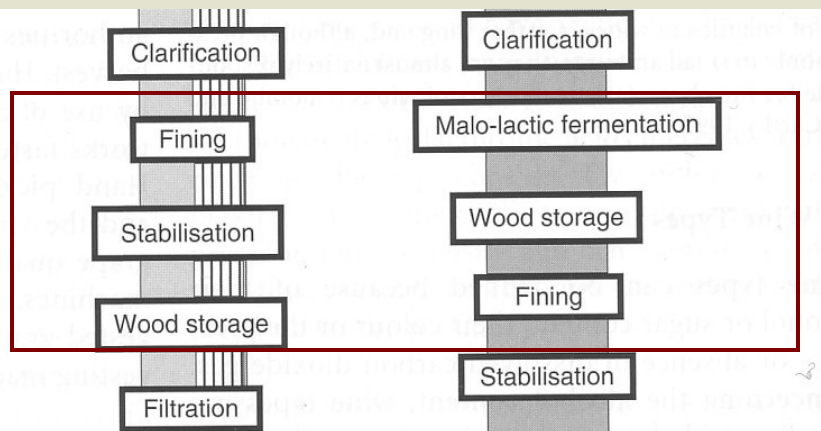
Ukončením kvašení vzniká **mladé víno**, které se ukládá do dřevěných sudů (tradiční způsob, malovýroba) nebo ležáckých tanků.

Zde pak dochází ke **zrání vína**, spojenému se samočisticími procesy - sráží se vinan draselný (vinný kámen) a další látky. Zásadní je štěpení kyselin vinné a jablečné (z původních 10-14 ‰ zhruba na polovinu) - odbourávají se cestou chemickou (přidání CaCO_3 => vysrážení vinanu vápenatého) nebo biologickou (kys. vinná => vinan draselný; kys. jablečná => kys. mléčná působením mléčných bakterií).

Čiření vína vede k zabezpečení čistoty a stabilní chuti (eliminace látek s hořkou nebo

svíravou chutí); provádí se rozptýlením látky s adsorpčními vlastnostmi pro odstranění kalových látek, případně odstředováním nebo střídavým zahřátím (až k 80 °C) / zchlazením (až pod bod mrazu), vedoucím ke koagulaci bílkovin; železité soli se vysrážejí "žlutou krevní solí" do komplexní sraženiny, která naváže i jiné koloidní látky.

Winfried Hartmeier, Monika Reiss:
Production of beer and wine.

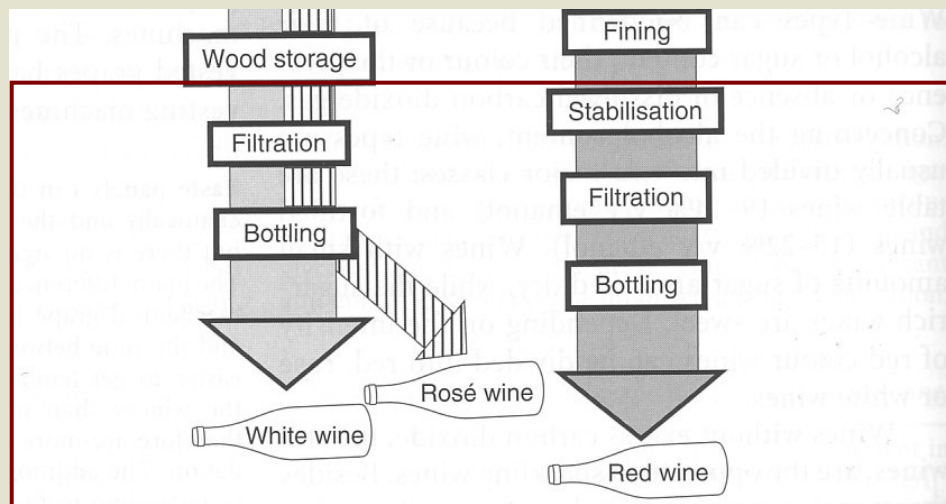


Po číření následuje **filtrace** (přes celulózní tkaniny nebo křemelinu) a **stabilizace** vína roztříštěného filtrací; přitom je důležité, aby nekvasil zbytkový cukr - k tomu je používán sorban draselný, který inhibuje dýchání hub a bakterií. Nakonec následuje **pasterace** krátkodobým ohřevem (60-70 °C).

Uvedený soubor procesů, které následují po kvašení, se souborně označuje jako **formování vína**.

Během **skladování** může víno měnit chuť i barvu; bílá vína se obvykle neskladují déle než rok, zatímco červená i mnoho let, během kterých nabírají tmavší odstíny a jemnější chuť. Jako **školení** je označován závěr procesu tvorby chuti a vůně vína, po kterém se víno stáčí do lahví (za omezeného přístupu vzduchu, případně s přívodem dusíku).

Před **stočením** mohou být ještě prováděny závěrečné úpravy, jako od-/dokyselování, scelování (s jinými víny => známková vína), osvěžování (sycením CO₂), nebo odbarvování /přibarvování (u dezertních vín, kde je dovoleno i dodatečné alkoholizování).



Použité vybavení by mělo projít tepelnou sterilizací pro zamezení kontaminace. Korkové zátky jsou dezinfikovány SO₂, ale i tak mohou v lenticelách zůstat bakterie nebo kvasinky, které pak ovlivní aroma vína.

Winfried Hartmeier, Monika Reiss: Production of beer and wine. In: Martin Hofrichter (ed.), The Mycota X. Industrial applications (2nd ed., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 2010), pp. 59–77.

Výsledné víno obsahuje obvykle 10-16 % alkoholu - v chladnějších oblastech a při nepříznivém průběhu počasí spíše méně (u nás bývá kolem 12 %; pod 10 % už jsou slabá vína), z klimaticky optimálních oblastí pocházejí “těžší”, opojná vína (nad 16 % už bývají s přídavkem vinného destilátu - dezertní, portské).

Podle obsahu zbytkového cukru je rozlišováno víno **suché**, **polosuché**, **polosladké** nebo **sladké** (přírodní suché víno má do 4 g/l, sladké od 45 g/l).

Barva **bílého vína** je dána obsahem zelených chlorofylů a žlutých xanthofylů, v **červeném vínu** jsou obsaženy antokyany (hlavní červené barvivo je oenin) a žluté taniny - k postupným změnám těchto barviv dochází během stárnutí vína při mnohaletém skladování.

Další látky obsažené ve víně:

- glycerol přidává vínu sladkou, “plnou” a “hladkou” chuť, vyšší obsah má pozdní sběr;
- kyseliny v přiměřeném množství (kolem 5 g/l; při nízkém obsahu kyselin chutná nasládle i víno s nízkým obsahem cukru); v červeném víně se kyselost více projevuje při nižší teplotě;
- třísloviny (taniny) pocházejí ze slupek, zrnek nebo stopek hroznů a dodávají vínu trpkou, svíravou chuť (hlavně v červeném víně, bohatém na taniny).

Speciální druhy vín:

Růžová vína se vyrábějí různými způsoby:

- společným zpracováním hroznů různých barev;
- z růžových či červených hroznů (případně slabě barevných modrých) nakvácením na slupkách;
- z modrých hroznů (mají-li vyšší obsah barviva) lisováním bez nakvácení.

Přírodně sladká vína se z některých odrůd získávají lisováním nebo vyluhováním přezrálých hroznů. Vyšší koncentrace extraktu v moštu lze dosáhnout i dalšími způsoby:

- náročná je výroba **ledového vína**: hrozny lze sklízet až po zimních mrazech ($-7\text{ }^{\circ}\text{C}$, což může být až po Novém roce; do té doby jsou hrozny vystaveny působení slunce i nočních mrazíků) a i v průběhu zpracování musí být stále zmrzlé; při lisování je oddělena zmrzlá voda se semeny a slupkami, cukernatost moštu obvykle přesahuje 30 %;
- **botrytická vína** (též vína z cibéb) jsou z hroznů napadených ušlechtilými kmeny *Botrytis cinerea*; působení houby hrozny vysušuje (\Rightarrow hrozinky zvané cibéby), čímž zvyšuje koncentraci cukrů a aromatických látek;
- **slámová vína** jsou z hroznů, které jsou po sklizni uloženy na několik měsíců na provzdušněné slaměné lože, kde vysychají (cukernatost moštu je pak 40-50 %) \Rightarrow pak se šetrně lisují (hrozny se scvrkly, takže výlisnost je jen 10-15 %); výsledné víno má velmi sladkou chuť danou vysokým obsahem zbytkového cukru.

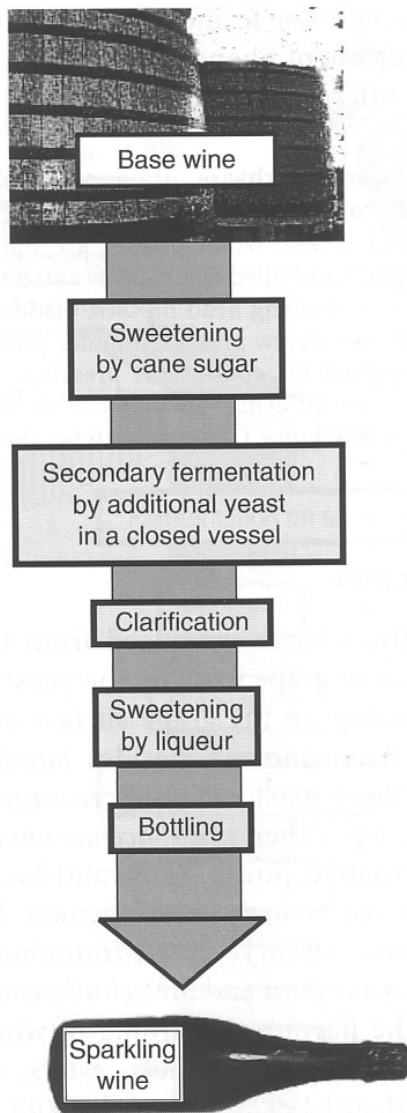


Fig. 3.5. Basic processes for the production of sparkling wine

Dezertní vína bývají pojmenována podle místa původu (portské, madeira) a mohou být přislazovaná, likérová nebo kořeněná.

Kořeněné víno je označováno jako **vermut**; vyrábí se přidáním cukru, alkoholu a k tomu buď namícháním směsi bylin (ponořených do vína na určitou dobu) nebo macerací kořeněných složek v lihu (příp. lihu s vínem) a přidáním získaného extraktu k vínu (Cinzano, Martini).

Šumivá vína se vyrábějí z přírodních vín druhotným kvašením, které probíhá pod tlakem => vznikající CO_2 neuniká a dochází tak k přirozenému sycení (šampanizaci vína).

Naproti tomu **perlivá vína** se vyrábějí umělým sycením vína oxidem uhličitým – ten v perlivých vínech není tak dobře vázán, takže po nalití prudce pění a rychle vyprchá.

V současnosti se vyrábí i **nealkoholické víno** - jde o klasické víno, které je následně dealkoholizováno; toho je možno dosáhnout dvěma způsoby:

- vakuová extrakce využívá toho, že se alkohol vypařuje při nižší teplotě než jiné složky (při nižším tlaku stačí teploty kolem 30 °C);
- v poslední době je zkoušena metoda založená na buněčné osmóze (v principu membránová filtrace), ale zatím tak vznikají poněkud “kompotová” vína.

Na obdobném principu je založena výroba dalších alkoholických nápojů s využitím jiných kmenů *Saccharomyces cerevisiae*, snášejících vyšší koncentraci etanolu v prostředí, nebo i jiných druhů kvasinek.

Na všech plodech obsahujících cukry žijí nějaké kvasinky => je tedy možno podomácku kvasit rozličné cukerné šťávy. Toho je využíváno při výrobě mnoha druhů **ovocných vín**.

V západní Evropě je populární **cider** - v podstatě jabčák, vyráběný kvašením moštu ze speciálních odrůd. Jablka se rozdrtí, vylisují a nechají kvasit (různě dlouho, od dvou týdnů po několik měsíců); před stáčením do lahví je produkt filtrován a pasterován. Při tradičním výrobním postupu ještě probíhá dozrávání i v lahvích a vzniklý cider může být jemně perlivý.

V Mexiku se vyrábí **pulque** s využitím bakterie *Zymomonas nobilis*; zdrojovou surovinou je šťáva z agáve.

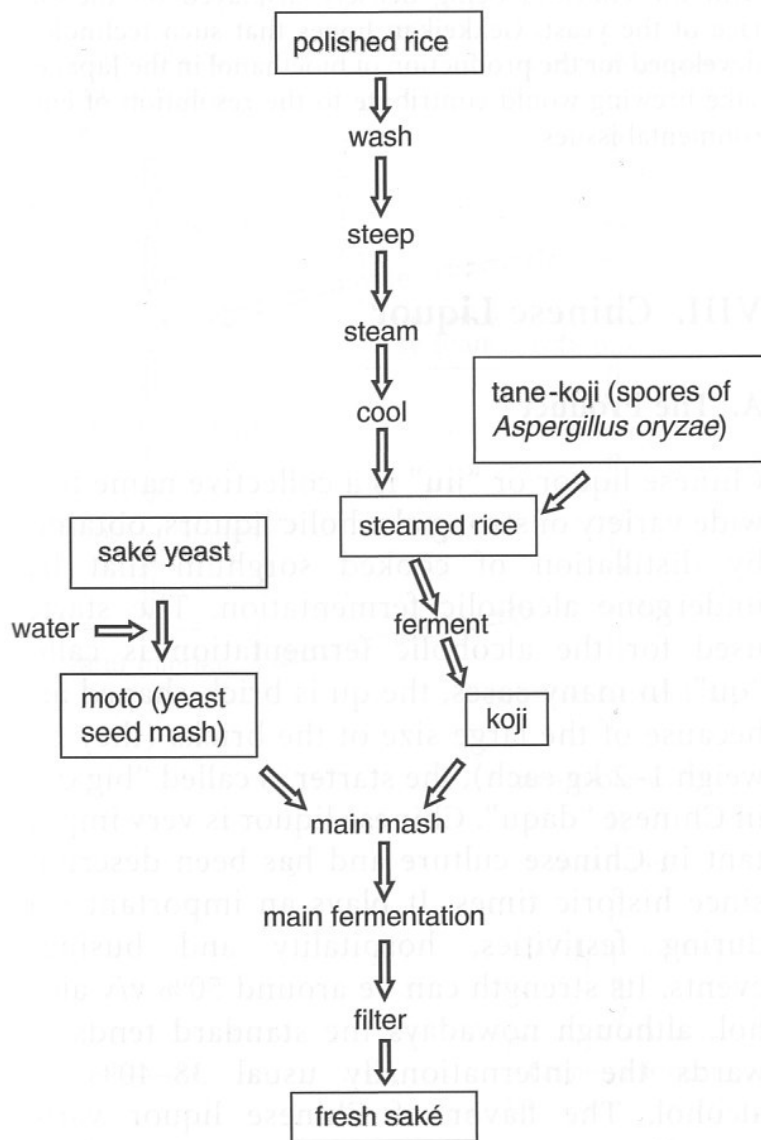


Fig. 2.16. Traditional manufacture of Saké

Tradičním nápojem v Asii je „rýžové víno“ neboli **saké** (v Číně již od 7. tisíciletí před n. l., prakticky národním nápojem je v Japonsku). Protože rýže obsahuje škrob, který kvasinky nejsou schopné kvasit na alkohol, je přidáván *Aspergillus oryzae* (“koji”), jehož amylázy zprvu rozloží škrob na jednodušší sacharidy - rýže se díky tomu nemusí nechat klíčit tak jako ječmen v případě piva (“koji” pak odumírá, když během následného kvašení dojde k vyčerpání kyslíku). Spařená rýže je fermentována v tancích o objemu 10-20 m³, z tuny rýže bývá kolem 3000 litrů saké.

Z rýže jsou v Asii vyráběny i další alkoholické nápoje, při jejichž výrobě se uplatní amylázy různých *Mucorales*, *Eurotiales* a kvasinek – rýžové víno v Thajsku, tapai se nazývá v Malajsii, tapuy je sladkokyselé víno na Filipínách. Yakju a takju (liší se výrobním postupem) jsou tradiční nápoje v Koreji, vyráběné z rýže (ale dnes už i z jiných obilnin) s přispěním *Aspergillus usamii*, *A. niger*, *Rhizopus* spp. a kvasinek, u nichž byly zjištěny protirakovinné účinky.

M. J. Robert Nout, Kofi E. Aidoo: Asian fungal fermented food. In: Martin Hofrichter (ed.), *The Mycota X. Industrial applications* (2nd ed., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 2010), pp. 29–58.

Table 2.8. Fungi used in the production of Asian rice wines

| Country | Wine | Yeasts and moulds |
|-------------|--|--|
| China | Shaoxing | <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Rhizopus</i> spp., <i>Saccharomyces cerevisiae</i> |
| Japan | Saké | <i>A. oryzae</i> , <i>S. saké</i> , <i>Hansenula anomola</i> |
| Korea | Yakju, Takju | <i>A. oryzae</i> , <i>A. sojae</i> , <i>Rhizopus</i> spp., <i>S. cerevisiae</i> , <i>H. anomala</i> , <i>H. subpelliculosa</i> , <i>Torulopsis saké</i> , <i>T. inconspicua</i> , <i>Pichia polymorpha</i> |
| Thailand | Sato, Ou | <i>Mucor</i> spp., <i>Rhizopus</i> spp., <i>Candida</i> spp., <i>Saccharomyces</i> spp. |
| Indonesia | Arak, Brem Bali (distilled liquors) | <i>Mucor</i> spp., <i>Rhizopus</i> spp., <i>Candida</i> spp., <i>Saccharomyces</i> spp. |
| Philippines | Tapuy | <i>Endomycopsis fibuliger</i> , <i>Rhodotorula glutinis</i> , <i>Debaromyces hansenii</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Trichosporon fennicum</i> |
| Malaysia | Tapai | <i>Amylomyces rouxii</i> , <i>Rhizopus</i> spp., <i>Endomycopsis</i> spp. |
| India | Ruhi, Madhu, Jnard | <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i> |

VÝROBA LIHU A LIHOVIN

Hovoříme-li o lihu, máme obvykle na mysli **etanol**. Základním procesem pro jeho získání je alkoholové kvašení působením kvasinek, případně jiných mikroorganismů. Zpočátku je vhodné, aby byl zajištěn přístup vzduchu (v aerobních podmínkách dojde k rychlému pomnožení kvasinek a nárůstu jejich aktivity), vlastní etanolové kvašení pak ale probíhá převážně anaerobně. I když kvasinky snesou relativně vysoký obsah etanolu v prostředí (viz zmínku u výroby vína), limitní hodnota pro jejich přežití je kolem 15 %.

Má-li být získán produkt s vyšším obsahem etanolu, musí na kvašení navázat další proces - **destilace**. Tento proces byl zřejmě znám již v 1.-2. tisíciletí př. n. l. (dle různých zdrojů Čína, Egypt); v Evropě je užíván od počátku 2. tisíciletí n. l. Nejstaší pálenky byly vyráběny z medoviny, v průběhu vrcholného středověku pak i z vína a jiných zdrojů.

Mikroorganismy, využívané pro kvasné procesy, jsou zejména kvasinky (*Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* a jiné druhy), v menší míře bakterie (*Zymomonas mobilis*); oproti kvasinkám mají rychlejší metabolismus, nižší nároky na výživu, snesou vyšší teploty - lze předpokládat jejich vyšší využití v budoucnosti.

Protože kvasinky jsou schopné kvasit jen mono- a disacharidy, základními surovinami pro výrobu lihu jsou rostlinné substráty, obsahující jednodušší cukry (řepná melasa nebo meziprodukty cukrovarnické výroby, ve světě bývá využívána šťáva z cukrové třtiny; cukernaté plody jsou vhodné pro ovocné destiláty, ne pro technický líh). Substráty obsahující škrob (brambory, obilniny) nebo inulin (topinambury, čekanka), případně lignocelulózní materiál (dřevo, sláma) je třeba nejprve podrobit hydrolýze.

Při průmyslové výrobě není potřeba substrát sterilizovat (ušetří se :o).

Běžnou **surovinou** pro **výrobu lihu** je **melasa** - vedlejší produkt při výrobě cukru, obsahující 50 % sacharózy. V začátku procesu je třeba připravit záparu - to je melasa naředěná vodou s přísadkou anorganických živin [$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$] a okyselená (podpora aktivity kvasinek, antiseptické účinky).

Vlastní **kvašení** může být různých typů (vsádkový proces, přítokový způsob, způsob s recyklací kvasinek, kontinuální kvašení). Nejrozšířenější je recyklace kvasinek - buňky z prokvašené zápary jsou použity jako inokulum v jiné fermentaci (od počátku vysoká koncentrace buněk, ušetří se cukr pro nárůst biomasy).

Meziprodukt vzešlý z kvašení obsahuje kromě vody a etanolu i různé těkavé látky (jiné alkoholy, aldehydy, estery aj.), které je třeba eliminovat. V procesu **destilace** je využívána různá těkavost různých sloučenin a různý tlak par destilujících složek. Destilační kolona je zdola zahřívána, páry stoupají vzhůru a dostávají se do dalších částí kolony - deflegmátoru (částečná kondenzace par, obohacení o těkavou složku), kondenzátoru (úplná kondenzace) a chladiče (zchlazení stékající kapaliny).

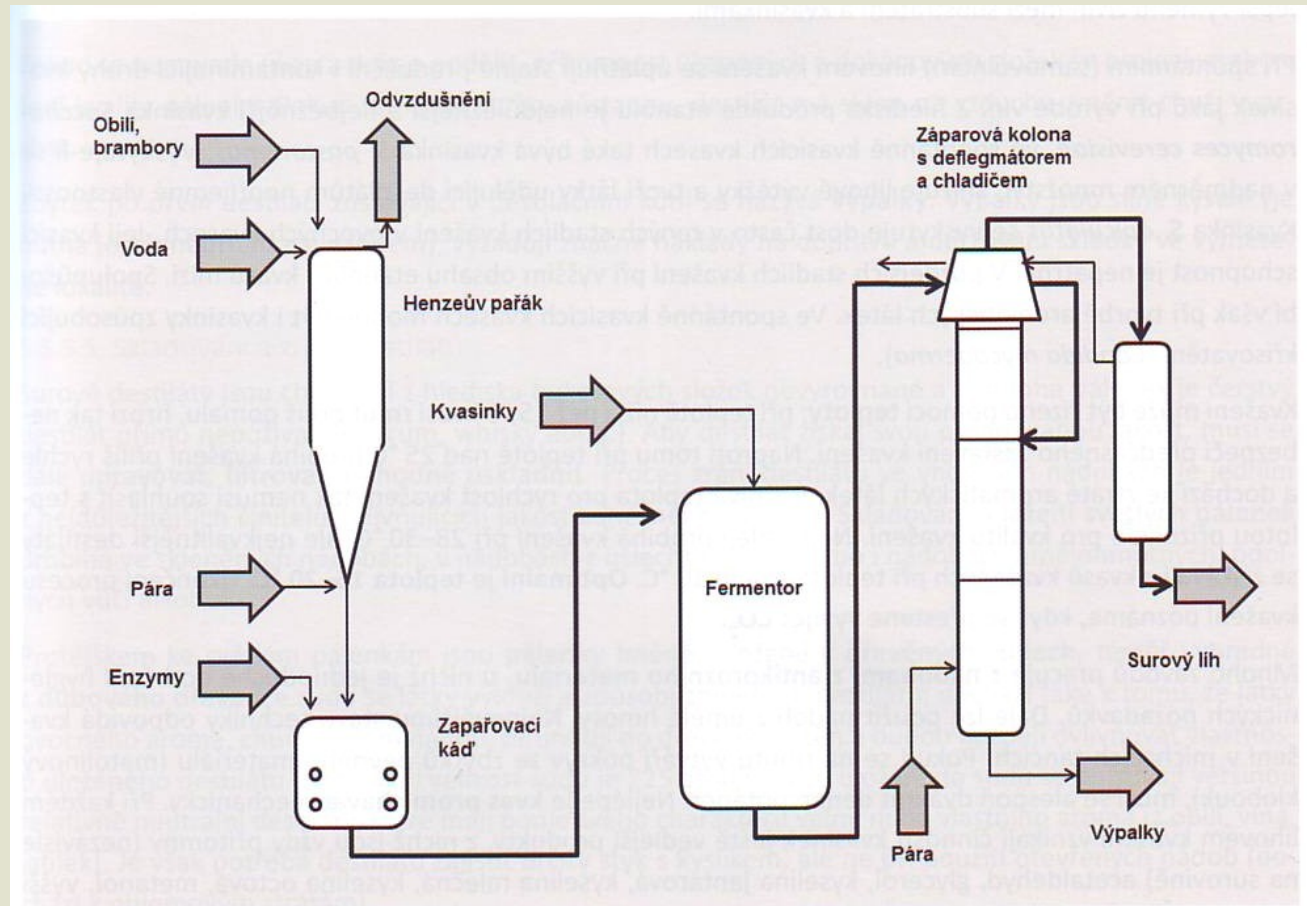
Pro koncentraci etanolu bývá aplikována **rektifikace** - opakovaná destilace. K odstranění zbytkových vyšších alkoholů (tzv. přiboudlin) navazuje proces **rafinace**.

Z něj pak vystupují tři frakce: separované přiboudliny, líh nižší kvality (tzv. úkap a dokap, které se jímají spolu a je z nich **technický líh**) a rafinovaný kvasný líh. Pouze ten je možno využít pro potravinářské účely a může mít dvě jakosti - **jemný** a **velejemný**. Má-li být využit jen pro technické účely, přidáním nepoživatelných látek (metanol, benzen, benzín) se z něj dělá líh **denaturovaný**.

Vedlejším produktem jsou melasové výpalky, obsahující množství minerálních i organických látek - proto jsou hodnotným hnojivem i krmivem pro zvířata.

Škrobnaté substráty zpracovávají hlavně zemědělské lihovary. Jak již bylo řečeno, tyto substráty (dříve hlavně z brambor, dnes zejména z obilí) je potřeba před kvašením převést na jednoduché sacharidy. Po mechanickém rozmělnění jsou aplikovány enzymové preparáty (dříve slad, dnes už se nepoužívá) - α -amyláza škrob ztekutí, β -amyláza jej zcukří. Zápara se připravuje v pařáku (teplota 120 °C a tlak 0,2-0,5 MPa substrát zároveň sterilizuje) nebo je používán beztlaký způsob (pomletí s využitím bakteriálních α -amyláz).

Zcukřená a zchlazená zápara kvasí ve fermentačním tanku 2-3 dny při teplotě do 32 °C - užívají se obvykle kvasinky z lihovarských kultur (adaptované na škrobnaté zápary). Prokvašené zápary (7-8 % alkoholu) se pak destilují na jednoduché koloně (někdy na první kolonu, separující etanol, navazuje ještě druhá k zesílení lihových par). Surový líh je následně předáván k rektifikaci a rafinaci v průmyslových lihovarech (někdy i tyto procesy zajišťuje lihovar zemědělský); výpalky (odpadní produkt) poslouží i zde jako krmivo pro zvířata.



Barbora Mieslerová, Michaela Sedlářová, Aleš Lebeda:
Praktické využití hub a houbám podobných organismů v potravinářství, zemědělství, lékařství a průmyslu. UP Olomouc, 2015.

Obrázek 5.2. Schéma výroby lihu ze škrobnatých surovin. Překresleno: B. Mieslerová (upraveno podle Kadlec et al., 2012).

Lihoviny jsou alkoholické nápoje, jejichž výroba je založena na fermentaci a následné destilaci, umožňující dosažení vysokého obsahu alkoholu. Zatímco předchozí řádky byly věnovány výrobě lihu jako průmyslové suroviny, nyní se dostáváme k přípravě potravinářských produktů.

“Teplou cestou” jsou vyráběny destiláty ze zkvašeného ovoce, obilovin nebo jiných surovin (jalovec). Jako “studená cesta” je označován výrobní proces, spočívající ve smíchání lihu s dalšími složkami bez předchozího kvašení; k lihu jsou přidávány silice a tresti, vína nebo ovocné sirupy a nakonec voda. Touto cestou jsou vyráběny ovocné, kořenité a bylinné likéry, ale také třeba “tuzemák” nebo sladké krémovité nápoje (vaječný likér).

Ve střední Evropě je rozšířená výroba **ovocných destilátů**.

Ovoce je na začátku pomleto (malvice), jemně podrceno (ostružiny, jahody), odstopkováno (vinné hrozny) nebo jen jemně namačkáno (peckovice - pecky se odstraňují obvykle po kvašení).

Získaný rmut (význam slova viz u výroby vína) **kvasí** v nádobách s kvasnou zátkou. Zde se výrazně uplatňují “divoké” kvasinky, jež tvoří přirozenou mykobiotu na povrchu plodů; jde zejména o *Saccharomyces cerevisiae*, při spontánním kvašení též “divoké” *S. apiculatus*, *S. pastorianus* nebo *Candida mycoderma* (poslední dvě mohou tvořit nežádoucí látky). Pro zrychlení kvašení je možno přidat kulturu vinných kvasinek, případně živné soli $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4, (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$ anebo enzymové preparáty k odbourání pektinů (zde hrozí vyšší obsah metanolu; ten se objevuje při destilaci vždy, avšak v mizivém množství).

Kvašení může probíhat v dřevěných sudech, plastových nebo nerezových nádobách, v současnosti se používají míchací tanky; i když unikající CO_2 zajišťuje určité “míchání” a výměnu živin mezi substrátem a kvasinkami, při větších objemech je vhodné i mechanické promíchávání kvasu.

Čím vyšší je teplota, tím rychleji kvašení probíhá. Optimální teplota je 16-20 °C; při vyšších teplotách je kvašení příliš rychlé (max. při 28-30 °C) a ztrácejí se aromatické látky, naproti tomu na nejkvalitnější destiláty lze zadělat kolem 10 °C, ale s hrozbou předčasného zastavení kvašení.

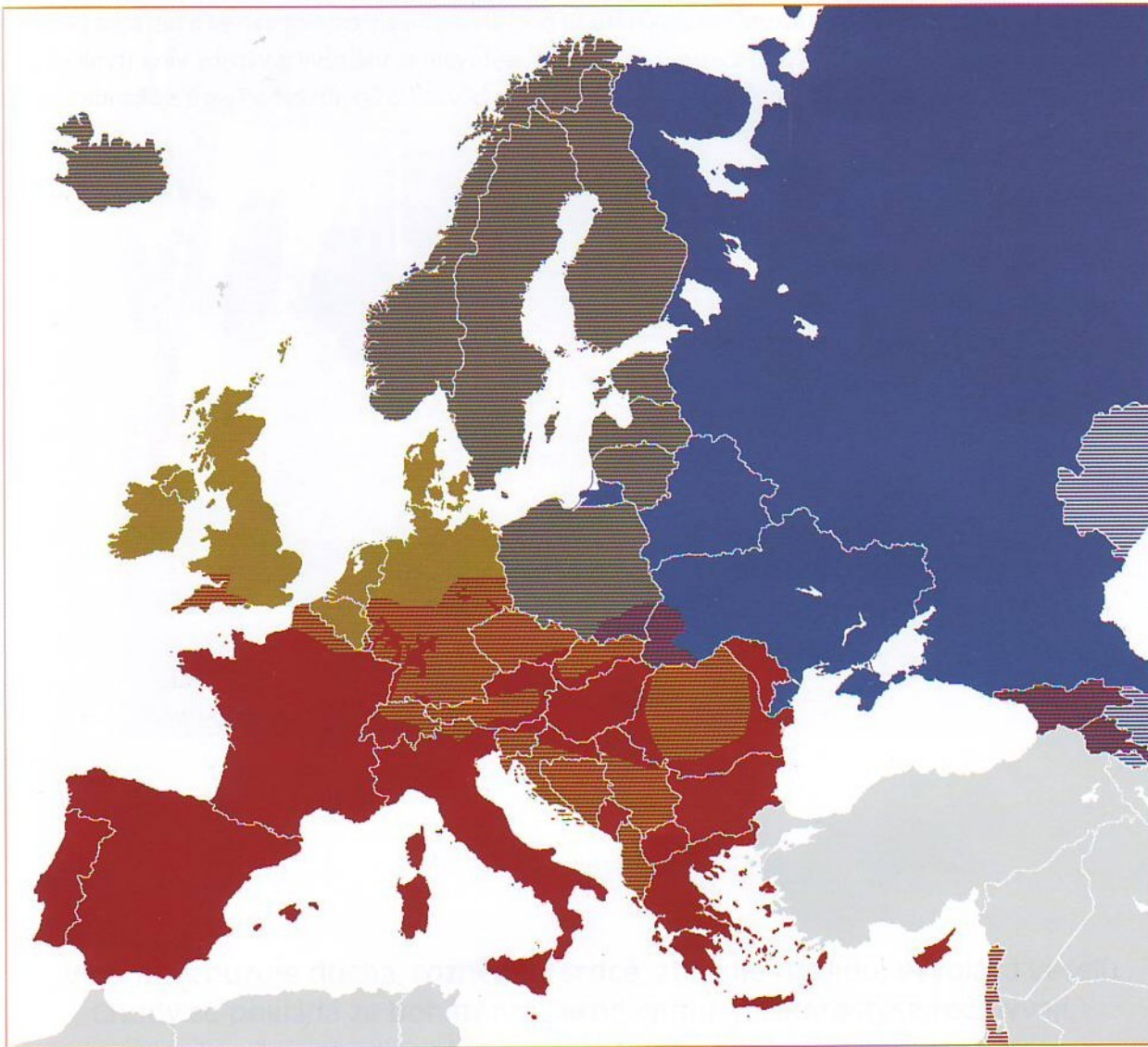
Hotový kvas (když ustane produkce CO_2 , např. u švestek to bývá 6-8 týdnů) je možno rovnou destilovat i nechat odležet; je ale nutno mít na zřeteli riziko kontaminace, při delším odležení hrozí pomnožení nežádoucích hub (“zplisnivění”).

Na rozdíl od průmyslového lihovarnictví (kde je účelem získat čistý líh) při **destilaci** ovocných pálenek je cílem ušlechtilý destilát, obsahující žádoucí látky, jež mu dávají chuť a vůni. Destilační aparatura je vcelku jednoduchá: z destilační nádoby jdou páry přes helmu do chladicího zařízení; čím nižší je teplota v destilačním kotli, tím pomalejší je proudění par a lépe se oddělí složky o různé teplotě varu. Vykvašené ovoce se pálí při teplotě do 100 °C, kdy se etanol odpaří, ale nežádoucí silice (jež by způsobily pachutě či pachy) zůstanou v kvasu.

Z první destilace vychází surový destilát (lutr); zbytkem jsou kyselé výpalky (nevyužitelné, vyžadují neutralizaci vápnem a uložení na vymezené skládky). Lutr ještě obsahuje těkavé příměsi, které jsou následně odstraněny rektifikací - v principu jde o frakční destilaci, při níž jsou odděleny frakce: úkap, prokap (jádro) a dokap (úkap a dokap jsou "odpad", jejich přítomnost v jádře => horší kvalita pálenky).

Získaný destilát je pořád "polotovar", který je třeba dále upravit, filtrovat a nakonec vhodně uskladnit a nechat zrát. **Zrání** světlých ovocných pálenek (z peckovic, malin aj.) probíhá několik let ve skleněných, ocelových nebo plastových nádobách. Pálenky hnědé vznikají zráním v dubových sudech, kde dochází k difuzní výměně látek mezi destilátem a stěnou sudu - odtud získá destilát nahnědlou barvu a určité aroma; tento způsob se hodí pro pálenky z málo aromatických surovin (obilí, vína). Dlouhodobé zrání v dubových sudech je možno uplatnit i pro normálně světlé pálenky - tak vzniká "zlatá slivovice" s chutí podobnou koňaku.

Nápoj získaný z druhé (frakční) destilace má ještě 60-80 % alkoholu - to je moc, při této "síle" by se naprojevila chuť a vůně z ovoce. Proto je záhodno produkt naředit - ideálně destilovanou vodou - na optimální obsah alkoholu kolem 50 %.



Obrázek 3.6. Alkoholové zóny v Evropě. Na jihu převládá spotřeba vína (červená), na severozápadě konzumace piva (žlutá) a severovýchod je známý oblibou destilátů (modrá). Ve střední Evropě se všechny tři zóny prolínají. Převzato z wikipedie.

V různých oblastech světa vzkvétá výroba dalších nápojů, založená na pálení rostlinných surovin.

Ve východní a severní Evropě je rozšířená **vodka** – destilát nejčastěji z obilí (hlavně žita), ale může být i z bramborového nebo řepného lihu. Výrobní postup je v principu podobný jako v případě ovocných destilátů.

B. Mieslerová, M. Sedlářová,
A. Lebeda: Praktické využití hub
a houbám podobných organismů
v potravinářství, zemědělství,
lékařství a průmyslu.

Lihový základ mají i **bylinné likéry**. Vybrané byliny jsou v lihu macerovány obvykle za studena; doba macerace se liší od pár dnů po několik měsíců (různé byliny snášejí různou koncentraci lihu; silnější líh = kratší doba máčení). Alternativním postupem je extrakce za vyšší teploty (30-40 °C, označovaná jako digesce); pro konkrétní likér je užíván jeden nebo druhý proces (mohou vést k různému vzhledu a chuti výsledného produktu).

Koňak je vyráběn z moštu bílého vína, který se nechá prokvasit a poté destiluje společně s kvasinkami (z vinných kvasinek pocházejí látky buketu). Po vypálení se destilát nechá krátce zrát v nových sudech a poté je přelit do použitých sudů, kde zraje dlouhodobě (min. 3 roky) za průběžného doplňování. V této fázi mohou být přidávány i další látky pro “vyladění” chuti.

Tequila je vyráběna v Mexiku z modré agave (*Agave tequilana*), přesněji z pražených stonků této rostliny (pražením v pecích je rozkládán škrob). Vychladlé jsou pak rozdrceny, scezená tekutina nalita do fermentačních kádí a po několikadenním kvašení zfiltrována do destilačních kotlů. (Během kvašení lze přidat i další cukry, ale musí být aspoň 51 % šťávy z agave, jinak to není tequila). Po dvojí destilaci je tekutina stočena do lahví nebo se ještě nechá zrát v sudech.

V jiných oblastech Mexika z jiného druhu agave je vyráběn **mezcal**; v tomto nápoji často mívají “červa” - jde o larvy hmyzu žijící v rostlinách agave.

Whisky (resp. whiskey v Irsku a USA) může být jednodruhová (single malt) nebo směsná (blend). Na Britských ostrovech je vstupní surovinou ječný slad. Skotská whisky bývá vyrobena dvojí destilací ze sladu, který některé palírny suší v kouři z rašeliny (konkrétní nápoj pak má typickou příchuť). Irská whisky prochází trojí destilací a zraje aspoň tři roky v dubových sudech.

V Kanadě je whisky vyráběna zejména z žita, v USA je převažující surovinou kukuřice - takový nápoj je označován jako **bourbon**.

Pravý **rum** se vyrábí ze sladkého sirobu - tato šťáva vzniká jako vedlejší produkt z lisování cukrové třtiny při výrobě cukru. Sirob se několikrát povaří, zchladí, zředí vodou a filtruje na požadovanou hustotu a kyselost. Pak je přidána kultura kvasinek a nastává fermentace - bílé rummy 1 den, tmavé rummy až 12 dní.

Vykvašený produkt se ihned destiluje a pak nechá zrát (zráním v sudech získává barvu a aroma) - lehké bílé rummy vůbec nebo do tří let, těžší rummy pak zrají tři až několik desítek let.

Vůní i složením podobný rumu je **arrack**, vyráběný v Indii, na Srí Lance a v Indonésii. Jde o nápoj ze zkvašených palmových šťáv nebo třtinové melasy, které jsou přidány k rýžovému zákvasu (nejde tedy jen o rýžovou pálenku) a po společném zkvašení destilovány.

Arak, vyráběný na Blízkém Východě, je destilát z vína (révového nebo datlového), ke kterému je při druhé destilaci přidán anýzový výtažek.

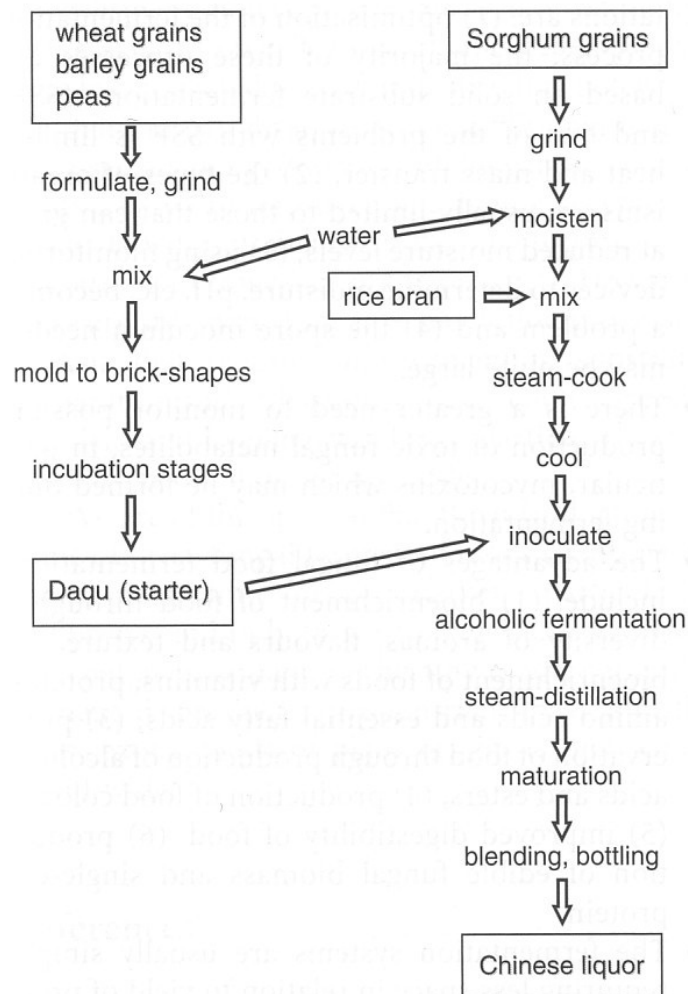


Fig. 2.17. Traditional manufacture of Chinese liquor. Outline of principle only.

V Číně je vyráběno více silných alkoholických nápojů (dnes obvykle 38-40 procent, ale klidně i 50 %) pod souhrnným názvem **jiu** (čínský likér).

Výrobní proces se liší druh od druhu, ale v principu sestává ze tří základních kroků:

- příprava startovací kultury „daqu“: z těsta (pšenice, ječmen a hrách s vodou) se vyrobí cihly, které se naskládají na sebe a nechají několik týdnů kolonizovat směsí různých hub (*Mucorales*, kvasinky, *Eurotiales*, *Trichoderma*) a bakterií; pak se mohou skladovat až 12 měsíců, aby byl „startér“ po ruce, když je potřeba;
- široková zrna jsou namočena, smíchána s rýžovými otrubami, spařena v páře, zchlazena a inokulována práškovým daqu => přenesou se do inkubační místnosti a nechají 2-3 týdny fermentovat (zde se uplatňují hlavně kvasinky rodů *Issatchenkia* a *Saccharomyces*, po týdnu může začít dominovat *Lactobacillus acetotolerans* a další bakterie);
- třetím krokem je destilace a následné zrání ve velkých kameninových nádobách (500-1000 litrů) po několik měsíců až let.

VÝROBA DROŽDÍ A PEČIVA

Historie využití "pekařských kvasinek" (tedy droždí) se táhne od starověku po dnešek. Při pečení původního "chleba" (z těsta = směsi drcených semen obilnin + vody) pravděpodobně došlo ke kontaminaci kvasinkami => následná fermentace způsobila nabytí objemu těsta. Zůstala-li tak původní placka před pečením ležet, nakynula na bochník - tato procedura je známa odhadem 6 tisíc let. Při pečení galského chleba (1. století) již byla do těsta cíleně přidávána pivní sedlina (zbytkové kvasinky z výroby piva); tento proces je dodnes využíván v některých částech světa.

Moderní výroba pečiva se datuje od 19. století, kdy začaly být využívány čisté kultury *Saccharomyces cerevisiae*; od roku 1920 je využíván „fed-batch“ proces k obohacení kvasinek cukrem a vyšší produkci biomasy. V tradiční i moderní výrobě pečiva se kvasinky často uplatňují spolu s bakteriemi mléčného kvašení.

Pekařské droždí je nejrozšířenější produkt tvořený biomasou mikromycet; jeho roční produkce převyšuje 2 miliony tun. Kvasnicová biomasa obsahuje 40-60 % bílkovin, dále vysoký obsah aminokyselin a vitamínů (zejména B komplex). Nevýhodou je vysoký obsah nestravitelných sacharidů (v buněčných stěnách) a nukleových kyselin.

Surovinou pro výrobu pekařského droždí je **řepná melasa**, která má podobu hustého sirupu se 75-80 % sušiny. Z melasníků (zásobníků) je čerpána do nádrží, kde se připravuje melasová zápara. Melasa je smíchána s vodou, dále je třeba navýšit obsah dusíku (ve formě amonných solí), fosforu (H_3PO_4) a hmotu vyčeřit (vysrážet nežádoucí koloidní látky).

První krok přípravy kvasinek probíhá v laboratoři (několikastupňová **laboratorní propagace**) => poté jsou asepticky převedeny do **provozní propagace** - i ta probíhá v několika cyklech, odpovídajících násadním generacím kvasinek (jeden cyklus množení trvá zhruba týden). Jednotlivé násadní generace jsou odstředovány a propírány vodou, pak se musí adaptovat na nové podmínky v dalším cyklu a vždy je třeba připravit větší množství zákvasu. Do jednotlivých stupňů propagace se z přítokových nádrží dávkuje melasové médium a výsledkem je **kvasničné mléko** (15-19 % sušiny).

Následná **kultivace kvasinek** probíhá při teplotě 30-34 °C, pH 4,5-6,5 a důležité je dobré provzdušnění (produkce biomasy kvasinek je cca 10x vyšší při oxidativním metabolismu než při fermentativním - proto je důležitý přístup kyslíku, pokud nám jde o jejich nárůst, jinak by nepučely a jen tvořily etanol).

Po skončení kultivace jsou kvasinky rychle **odstředěny** (oddělení od zápary), kvasničné mléko je **propráno vodou** (vymytí melasy) a následnou **filtrací** získaná masa (26-30 % sušiny) je pak vtlačena do ochlazených kovových nádob, tvarována a balena (lisované droždí = klasické „kostky“) nebo je připraveno sušené „aktivní droždí“.

Výrobu pečiva lze stručně popsat na příkladu chleba ("bílé" pečivo se peče podobně); v Evropě a Severní Americe se peče hlavně z pšeničné nebo žitné mouky, v jiných částech světa i z dalších obilnin (v Africe např. z čiroku, prosa, kukuřice).

Výrobní proces: mouka (obsahuje 1-2 % sacharidů, zejména oligosacharidů) je smíchána s vodou, solí a kvasnicemi => těsto => hnětení => pár hodin kynutí – při fermentaci vzniká CO_2 , jenž způsobí "nadmutí", a etanol, který se následně vypaří při pečení => nakonec pečení zabije kvasinky a dobrou chuť!

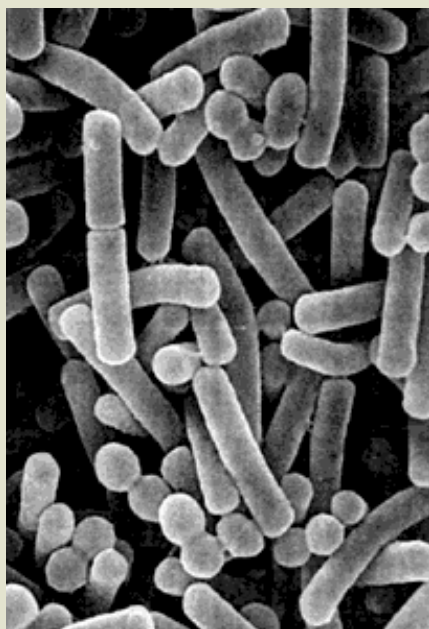
Kvasinky nevyužívají škrob; ten je v těstě nejprve rozložen α - a β -amylázami na glukózu, maltózu a maltotriózu. Není-li v těstě dostatek amyláz, lze buď přidat tyto enzymy nebo přidat užitečné oligosacharidy (glukóza, fruktóza, sacharóza, maltóza).

Dobu kynutí lze zkrátit zvýšením teploty z běžných cca 25 °C na optimální hodnotu (pro působení kvasinek) kolem 40 °C; při zvýšení nad 50 °C už jsou kvasinky (resp. příslušné enzymy) inaktivovány. Na strukturu těsta má vliv i množství uvolňovaného CO_2 .

MLÉČNÉ VÝROBKY

Nejdůležitějším procesem při výrobě sýrů, jogurtů a podobných výrobků je **mléčné kvašení** (přeměna laktózy na kyselinu mléčnou) – na tomto procesu se podílejí zejména bakterie.

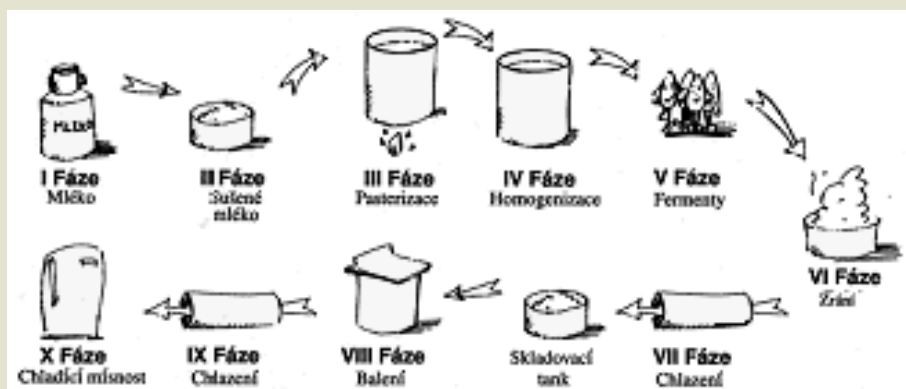
Dále se v přeměně mléka uplatňují mikroorganismy, produkující renniny (proteolytické enzymy – produkují je též druhy rodů *Mucor*, *Aspergillus*, kvasinky aj.) => srážejí mléčné bílkoviny => tvaroh => další procesy vedou k výrobě různých sýrů. V současnosti se vyrábí okolo 500 druhů sýrů (ale jen do určité míry se v nich uplatňují houby, ve výrobních procesech dominují bakterie).



Při výrobě jogurtů, kefiru atd. je fermentace završena činností bakterií mléčného kvašení z rodů *Streptococcus* a *Lactobacillus* (spolu na obr. vlevo).

Na výrobě různých typů těchto produktů se pak podílejí různé druhy kvasinek a jiných mikromycetů.

Obr. vpravo:
Schéma
výroby jogurtu.



Sýry vznikají z mléka, smetany nebo podmáslí, sraženého přidáním kyseliny mléčné (vzniklé zkvašením laktózy) nebo syřidla.

Historicky je možno přičíst objev tvorby sýrů právě kyselině mléčné, která “pracovala” v nádobách se skladovaným mlékem => to zkyslo a zhoustlo.

Výroba sýrů byla rozvíjena ve starověkých společnostech nejpozději od 4. tisíciletí před n. l. (Sumerové, Egypťané); zmínky o sýru jsou i v řecké a biblické mytologii a vrcholného rozkvětu dosáhla jejich příprava v Římské říši.

Další způsob vzniku sýrové hmoty objevili kočovníci z jižní a střední Asie, když si na cesty brali mléko do vaků ze zvířecích žaludků - v těchto žaludcích zřejmě ještě byly zbytky renninů (enzymy, viz výše), jejichž působení spolu s teplotou a natřásáním na koních vedlo k vysrážení sýřeniny, zatímco z mléka zbyla světlá nakyslá syrovátka.

Během středověku byla výroba sýrů rozvíjena zejména v klášterech, posléze i mezi prostým lidem.

Podle různých aspektů můžeme rozlišovat různé **typy sýrů**:

- podle zdroje: z kravského, ovčího, kozího, buvolího mléka;
- podle obsahu tuku v sušině
- podle “tvrdosti” = obsahu sušiny (nemusí odpovídat skutečné tvrdosti, konzistenci ovlivňuje i obsah tuku):
 - **čerstvé sýry** (vysoký obsah vody, k rychlé spotřebě, na 1 kg se spotřebuje 4-5 litrů mléka): tvarohové sýry, Gervais, Cottage, Lučina;
 - **polotvrdé sýry** (hutné, ale pružné): Eidam, Gouda, Moravský bochník;
 - **tvrdé sýry** (s tvrdou sýřeninou, drobí se při krájení, 1 kg z 11-13 l mléka): Čedar, Gran Moravia, Parmazán, Ementál (dutiny má na svědomí *Propionibacterium freudenreichii*, rozkládající kyselinu mléčnou za vzniku CO₂);
 - přechod od měkkých k tvrdým sýrům představují **sýry pařené** (Mozzarella, Korbáčik, Parenica): sýřenina je spařena horkou vodou, vzniklá hmota se tvaruje ve formách pod tlakem;
- další typy:
 - **tavené sýry** se vyrábějí zahřátím a roztavením přírodních sýrů (120 °C, vysoký tlak), ke kterým je přidáno máslo a tavicí soli (doma lze taveňák připravit smícháním tvarohu a másla s přídavkem jedlé sody);
 - **syrovátkové sýry** z vyvařené a zahuštěné syrovátky, obsahující ještě bílkoviny, které poslouží jako sýřenina;
 - **sýry s plísní** (na povrchu nebo uvnitř, viz dále).

Mlékařské kultury tvoří hlavně bakterie. Bakterie mléčného kvašení jsou homofermentativní, které tvoří jen kyselinu mléčnou, nebo heterofermentativní, které tvoří též kys. octovou, etanol a CO₂; bakterie propionového kvašení tvoří kyselinu propionovou.

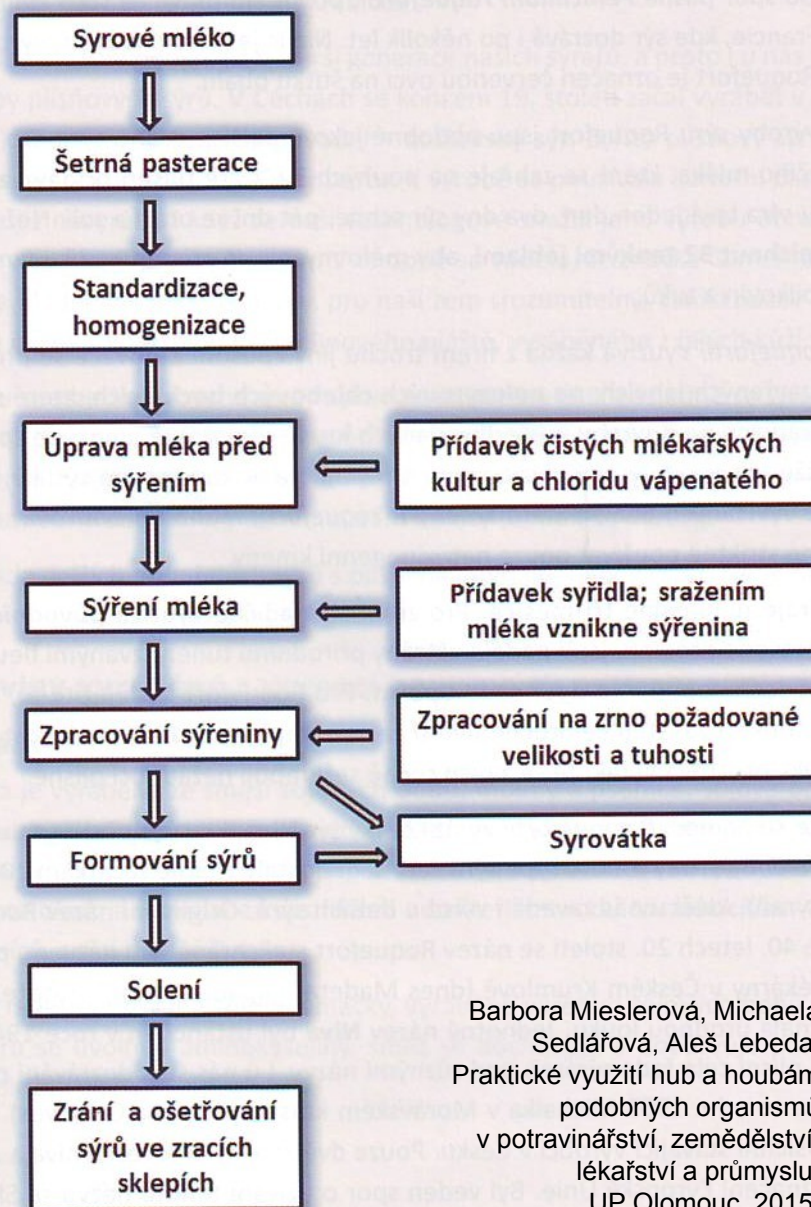
Během zrání se uplatňují interakce mezi kulturami různých mikroorganismů spojené s tvorbou různých enzymů a produktů metabolismu. Vedle startovacích kultur bakterií se v různé míře uplatňují hlavně kvasinky, které mohou postupně inhibovat startovací kulturu i další organismy (při výrobě nežádoucích, např. *Debaryomyces hansenii* může potlačovat bakterie rodu *Clostridium*), ale vedle toho i pozitivně přispívat k fermentaci v procesu zrání.

Podle typu využití jsou rozlišovány primární a sekundární kultury:

- **primární kultury** zajišťují prokysání mléka i sýrů a uvolňují enzymy, které mohou dotvářet aroma (podle teploty, při které pracují, se rozlišují mezofilní kultury, tvořící smetanový zákys, a kultury termofilní, využívané pro sýry s dohřívanou sýřeninou);
- **sekundární kultury** jsou specifické pro různé druhy sýrů a zajišťují například rozklad bílkovin, vznik dutin v sýrech ementálského typu; doplňkovými kulturami jsou i mazová kultura (bakterie + kvasinky *Mycoderma*) pro sýry zrající pod mazem nebo druhy rodu *Penicillium* pro plísňové sýry.

Zjednodušeně lze popsat výrobu **domácího sýra**: povrch tvarohu osídlí bakterie a houby => jejich proteázy štěpí bílkoviny na povrchu (jde o aerobní organismy) => rozklad pokračuje => tvaroh se roztéká ("zraje" a vydává patřičnou sýrovou vůni) => rozklad až na aminokyseliny – v chladu pak dojde k zastavení rozkladu (aby nepokračoval až na amoniak).

Průmyslová výroba sýrů je trochu složitější. Mléko pro výrobu sýrů může být zpracováno syrové nebo upravené zahřátím (termizace anebo pasterace k eliminaci nežádoucích bakterií). Dalším krokem bývá standardizace (přidání tuku nebo naopak odtučnění) a homogenizace (zmenšení kapek tuku v mléce => snadnější rozklad během zrání). Před sýřením jsou do mléka přidány bakterie mléčného kvašení, některá další aditiva a směs je zahřáta na 18-32 °C.



Barbora Mieslerová, Michaela Sedlářová, Aleš Lebeda: Praktické využití hub a houbám podobných organismů v potravinářství, zemědělství, lékařství a průmyslu. UP Olomouc, 2015.

Obrázek 6.2. Technologie výroby sýrů. Překresleno: B. Mieslerová (upraveno podle Kadlec et al., 2012).

Pokud je mléko sráženo pouze působením bakterií **mléčného kvašení** (přemění laktózu na kyselinu mléčnou, která vysráží bílkoviny), vzniká tzv. sýr z kyselého mléka (selské sýry, tvaroh). Je-li použito **syřidlo** (enzym chymozin z žaludků telat, koz nebo ovcí; dnes je získáván i z GMO - bakterií nebo hub, mimochodem šlo o první GMO enzym schválený pro potravinářské využití v r. 1988), dochází k proteolýze kaseinu a vysrážení pevné složky (tvaroh, **sýřenina**) z tekuté (**syrovátka**). Sýřenina je dále řezána na zrno o určité velikosti a tuhosti (používá se tzv. syrařská harfa); jemnější nařezání => usadí se více syrovátky => pevnější sýr. Pro zvýšení hutnosti bývají sýry přehřívány.

Sýřenina se pak nechá okapat od zbytků syrovátky a pěchuje do forem, případně vylisuje pod tlakem. Kromě čerstvých tvarohových sýrů se pak sýry solí (naložením do slané lázně, vmícháním do těsta nebo na povrch, dle typu) - **sůl** nejen dochucuje, ale též omezuje vysychání a působí jako konzervační činidlo bránící rozvoji mikroorganismů.

Následuje **zrání**, během kterého dochází k enzymatickým změnám mléčného cukru a bílkovin, díky kterým sýr získává finální konzistenci, chuť a vůni. U sýrů tvrdých nebo s plísní uvnitř se uplatňuje zrání anaerobní (= primární, pomalé prozrávání v celé hmotě), u sýrů kyselých a měkkých zrání aerobní (= sekundární, od povrchu dovnitř). Zrání probíhá několik dnů až několik let, důležitá je optimální teplota a relativní vlhkost; tvrdé sýry bývají průběžně obraceny, sýry s plísní uvnitř provzdušňovány vpichy.

Plísňové sýry jsou specifickým typem, k jehož výrobě jsou používány kultury mikroskopických hub. Lze je rozdělit do dvou skupin: s plísní uvnitř a na povrchu. Záznamy o jejich výrobě pocházejí již z raného středověku (Gorgonzola 879, Roquefort 1070).



Sýry s **plísní uvnitř (typ roquefort)** jsou získávány s využitím kultur *Penicillium roqueforti* (případně známé jako *P. gorgonzola*, *P. stilton* aj.); je nutno používat pouze netoxinogenní kmeny, neprodukující roquefortin. Tato houba bývá kultivována na šiškách chleba, polosyrových bochnících nebo sterilizovaných kroupách, odkud jsou spory splachovány do sýrové hmoty.

Penicillium roqueforti vyhovuje pH 4-5 (ale snese 3-10) a vodní aktivita 0,96 – uvnitř sýrové hmoty má víceméně optimální podmínky. Při zrání sýra se uplatňuje proteolytická aktivita extracelulárních enzymů (proteinázy i peptidázy, zejména rozklad kaseinu); velmi intenzivní je i lipolýza (ve spolupráci s kvasinkami, viz níže) vedoucí k uvolňování mastných kyselin => ty pak dávají sýrům charakteristickou chuť a vůni.

Pravý **Roquefort** pochází pouze ze stejnojmenného území na jihu Francie a vyrábí se z nepasterovaného plnotučného ovčího mléka. Plíseň je přidána spolu se syřidlem, pak bochníky sýra 2 dny schnou, 5 dní se otáčí a solí, nakonec jsou napíchnuty jehlami (pro přístup kyslíku a možnost unikání CO₂ ze sýrové hmoty) a uloženy ke zrání do zdejších jeskyní, kde přírodní tunely zajišťují stálé větrání, stabilní teplotu 8-12 °C a vlhkost až 95 %. Zrání probíhá tři měsíce až několik let; během této doby jsou ručně seškrabávány nežádoucí plísně.

Český sýr **Niva** je vyráběn podobným postupem z kravského mléka od počátku 20. století.



Sýry s **plísní na povrchu (typ camembert)** jsou získávány s využitím kultur *Penicillium camemberti* (*P. caseicolum*, *P. candidum* – dnes bráno za synonymum *P. camemberti*); je nutno používat pouze netoxinogenní kmeny, neprodukující kys. cyklopiazonovou.

Vyrábí se z nepasterovaného kravského mléka (případně ve Francii ze směsi s kozím mlékem); povrch sýra je postříkán vodní suspenzí spor a nechá se aspoň 3 týdny zrát. Mycelium porůstá vnější stranu sýra a produkuje proteázy, které pronikají dovnitř, rozkládají mléčné bílkoviny a dávají sýru typickou konzistenci.

Optimální teplota pro *P. camemberti* je 20-25 °C (lépe snáší chlad, roste i při 5 °C, ale už ne při 37 °C), pH a vlhkost podobná jako u *P. roqueforti*. Během zrání se pH zvyšuje na zhruba 5,5 uvnitř a kolem 7 na povrchu sýra (po vyčerpání laktózy je rozkládán kasein => uvolňuje se amoniak => zvýšení pH); zvýšení pH aktivuje proteinázy na povrchu (nepronikají moc pod povrch sýra, max. několik milimetrů). Působení proteináz, peptidáz (podobné jako u *P. roqueforti*) a lipázy (jen rozklad mastných kyselin s krátkými řetězci) vede k tvorbě alkoholů a jejich esterů, které dávají sýru aroma; mohou se uplatnit i hořké peptidy, vznikající ve spolupráci s *Dipodascus geotrichum* (viz níže).

V Čechách byl od konce 19. století vyráběn **nalžovský sýr** s růžovou plísní *Penicillium nalgiovense* (dnes se již nevyrábí), od 20. století je sýr typu camembert u nás vyráběn pod názvem **Hermelín**. Vyrábí se ze směsi, jejíž pH je upraveno až na 8,5-9; dále se hmota sýří a přidá suspenze plísně. Po oddělení syrovátky je ztužená hmota (“zrno”) vytvarována a v další fázi se obrací pro rovnoměrný nárůst mycelia.

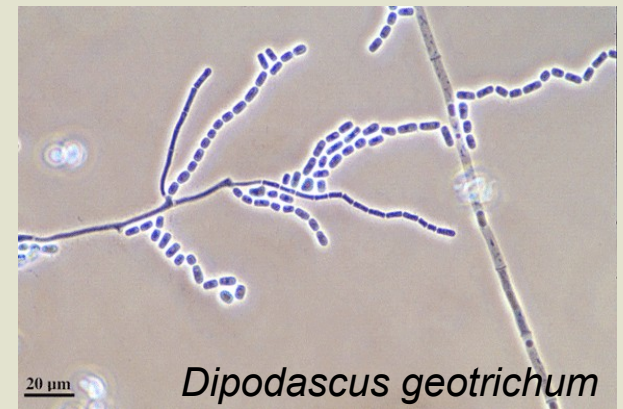
Výroba různých druhů plísňových sýrů probíhá za využití různých hub, kromě druhů rodu *Penicillium* (viz výše) se uplatňují **kvasinky**:

- *Debaryomyces hansenii* má mezi houbami jednu z nejvyšších tolerancí k obsahu soli; tento druh a *Yarrowia lipolytica* jsou využívány zejména jako startovací kultury pro sýry s povrchovým zráním, jejich lipolytická a proteolytická aktivita je využívána při výrobě nízkotučných sýrů (mohou být využívány současně s kulturami dalších hub a bakterií mléčného kvašení, navíc mají schopnost eliminovat kontaminaci nežádoucími houbami);

- na povrchu sýrů se podobně uplatňuje „vláknitá kvasinka“ *Dipodascus geotrichum* (= *Geotrichum candidum*, anamorfa *Galactomyces candidus*); v menší míře zřejmě může působit i uvnitř sýra;

- v menší míře se při zrání sýrů uplatňuje i *Saccharomyces cerevisiae* (podílí se na příchuti a vůni sýrů jako Gorgonzola či Mozzarella).

U různých kmenů kvasinek bylo pozorováno i antagonistické působení vůči vláknitým houbám – inhibici *Penicillium roqueforti* způsobuje *Kluyveromyces lactis* (stačí i extrakt s jeho metabolity), ale může tak působit i *Yarrowia lipolytica* (u ní pouze živé buňky, zřejmě jde o kompetici konkrétních kmenů).



Dipodascus geotrichum

http://www.mycology.adelaide.edu.au/gallery/hyaline_moulds/geotrichum1.gif

VYUŽITÍ HUB PŘI VÝROBĚ DALŠÍCH POTRAVIN

Stejné houby jako při výrobě sýrů se uplatňují (vedle bakterií) i při **fermentaci masných výrobků**.

Z kvasinek se díky své toleranci ke koncentraci soli (viz výše) uplatňuje hlavně *Debaryomyces hansenii* jako startovací kultura pro salámy a klobásy, v menší míře *Candida utilis* (anamorfa od *Cyberlindnera jadinii*) pro fermentaci masa; z vláknitých hub se uplatňují druhy rodu *Penicillium* (třeba *P. nalgiovense* na povrchu salámů). Startovací kultury degradují hlavně kyselinu mléčnou, následnou lipolýzou a proteolýzou vznikají látky dávající salámům a šunkám charakteristické aroma.

V některých oblastech je využívána spontánní fermentace (v Evropě je to v Mediteránu, např. parmská šunka); pro zamezení tvorby mykotoxinů jsou využívány startovací a protektivní kultury, které by měly zamezit růstu nežádoucích hub (recentně jsou vyvinuty i metody detekce ochratoxinu A založené na expresi genů).

Zejména v **Asii a Africe** je fermentace základem výroby velkého množství různých pokrmů za účasti různých druhů spájkivých, vřeckatých (včetně kvasinek), imperfektních hub i bakterií. Výhodou je obvykle jednoduché fermentační zařízení (substrát bývá koncentrovaný, takže pro žádoucí výtěžek postačí malý objem vody a úměrně tomu malý prostor), dobře stravitelné produkty bohaté na proteiny, vitamíny a mastné kyseliny s širokou škálou barev, chutí a aromat.

Nevýhodou je v řadě případů nutnost výstupní kontroly na obsah mykotoxinů, které se při působení některých hub mohou objevit.

M. J. Robert Nout,
Kofi E. Aidoo:
Asian fungal fermented food.
In: Martin Hofrichter (ed.),
The Mycota X.
Industrial applications
(2nd ed., Springer Verlag,
Berlin, Heidelberg, 2010),
pp. 29–58.

Table 2.1. Major functional fungal species in Asian fermented foods; adapted and enlarged from Samson (1993a)

| | |
|--------------------------|---|
| Zygomycetes | |
| <i>Actinomucor</i> | <i>A. elegans</i> , <i>A. taiwanensis</i> (sufu, tou-fu-ru) |
| <i>Amylomyces</i> | <i>A. rouxii</i> (ragi) |
| <i>Mucor</i> | <i>M. circinelloides</i> , <i>M. rouxii</i> , <i>M. indicus</i> (ragi, murcha, tempe, pehtze) |
| <i>Rhizopus</i> | <i>R. microsporus</i> (tempe), <i>R. oligosporus</i> (tempe), <i>R. oryzae</i> (koji, nuruk, chu, murcha, tempe) |
| Ascomycetes | |
| <i>Monascus</i> | <i>M. purpureus</i> , <i>M. ruber</i> (angkak) |
| <i>Neurospora</i> | <i>N. sitophila</i> , <i>N. intermedia</i> (oncom) |
| Deuteromycetes | |
| <i>Aspergillus</i> | <i>A. oryzae</i> (koji), <i>A. sojae</i> (koji), <i>A. glaucus</i> , <i>A. melleus</i> , <i>A. repens</i> , <i>A. candidus</i> (katsuobushi), <i>A. niger</i> (koji) |
| <i>Penicillium</i> | <i>P. glaucum</i> (katsuobushi) |
| Yeasts | |
| <i>Brettanomyces</i> | <i>B. anomalus</i> (kumiss) |
| <i>Candida</i> | <i>C. javanica</i> (idli, kombucha, murcha) |
| <i>Endomyces</i> | <i>E. fibuliger</i> (murcha, ragi) |
| <i>Hansenula</i> | <i>H. anomala</i> (saké, koji) |
| <i>Hyphopichia</i> | <i>H. burtonii</i> (ragi) |
| <i>Saccharomyces</i> | <i>S. cerevisiae</i> (nan, toddy, murcha, kombucha), <i>S. dairensis</i> (tempe), <i>S. globosus</i> (kumiss), <i>S. kluyveri</i> (nan), <i>S. saké</i> (saké) |
| <i>Torulopsis</i> | <i>T. versatilis</i> (idli, kombucha, soy sauces, pastes) |
| <i>Trichosporon</i> | <i>T. pullulans</i> (idli), <i>T. beigelii</i> (tempe) |
| <i>Zygosaccharomyces</i> | <i>Z. rouxii</i> , <i>Z. sojae</i> (soy sauces, soy pastes) |

Pokrmu a nápoje vyráběné s využitím fermentace (včetně těch, které již byly zmíněny v předchozím textu) lze rozdělit do tří kategorií:

- přirozená spontánní fermentace (uplatňují se organismy, které jsou přirozeně přítomny v okolním prostředí, spontánně kolonizují substrát), produkty pak často

bývají považeny;

- „single-stage fermentation“ s využitím startovací kultury (spory nebo mycelium), ze které se pomnoží účinný organismus, i tyto produkty bývají před konzumací považeny;

Table 2.2. Selected Asian fungal fermented foods

| Product | Main ingredients | | Functional microflora | References |
|--|-------------------------|---------------------------------------|---|--------------------------------|
| Natural fermentation | | | | |
| Idli (India): breakfast steamed cakes | Rice and black gram dal | | <i>Torulopsis</i> , <i>Candida</i> , <i>Trichosporon pullulans</i> , lactic acid bacteria | Batra (1986) |
| Nan (India): leavened bread | Wheat flour | | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>S. kluyveri</i> , <i>Lactobacillus</i> | Batra (1986) |
| Tou-shi, hamanatto (China): condiment | Soy beans | | <i>Asp. oryzae</i> , <i>Mucor</i> | Wang and Fang (1986) |
| Red kojic rice, angkak (China): colourant | Rice | | <i>Monascus purpureus</i> | Lim (1991) |
| Toddy (Malaysia): palm wine | Palm sap | | <i>Saccharomyces</i> spp. | Lim (1991) |
| Starter-mediated, single-stage fermentation | | | | |
| Tapé ketan (Indonesia): sweet snack | Glutinous rice | Ragi tapé (rice) | <i>Amylomyces rouxii</i> , <i>Endomyces fibuliger</i> , <i>Hyphopichia burtonii</i> | Ko (1986), Nout (1995) |
| Oncom (Indonesia): side dish | Groundnut press cake | Mycelium grown on cassava fibre | <i>Neurospora sitophila</i> | Ko (1986) |
| Tempe bongkreng (Indonesia): side dish | Coconut press cake | Usar | <i>Rhizopus</i> spp. | Ko (1986) |
| Katsuobushi (Japan): fish | Bonito fish | Fermentation vessel, or pure cultures | <i>Asp. glaucus</i> , <i>Pen. glaucum</i> , <i>Asp. melleus</i> , <i>Asp. repens</i> , <i>Asp. candidus</i> | Cook and Campbell-Platt (1994) |
| Airag (kumiss) | Milk | Starter cultures pre-grown in milk | <i>Saccharomyces globosus</i> , <i>Brettanomyces anomalus</i> , lactic acid bacteria | Naersong et al. (1996) |
| Kombucha (tea) | Tea, sugar | Cellulosic microbial film | <i>Saccharomyces</i> spp., <i>Candida</i> spp., <i>Torulopsis</i> spp., acetic acid bacteria | Nout (1992) |

M. J. R. Nout, K. E. Aidoo: Asian fungal fermented food. In: Martin Hofrichter (ed.), The Mycota X. Industrial applications, pp. 29–58.

Multiple-stage fermentation

| | | | | |
|--|---|--------------------------|--|--|
| Tempe kedele (Indonesia): side dish | Soya | Usar | <i>Rhizopus oligosporus</i> , <i>R. oryzae</i> , <i>Mucor indicus</i> , various yeasts and bacteria | Ko (1986), Nout et al. (1992), Nout (1995), data in this chapter |
| Yakju and takju (Korea): wines | Rice | Nuruk (wheat) | <i>Asp.oryzae</i> , <i>Asp. sojae</i> , <i>Rhizopus</i> | Mheen et al. (1986), data in this chapter |
| Huan-jiu (China): wine | Rice | Chu (wheat) | <i>Asp. oryzae</i> , <i>Asp. sojae</i> , <i>Rhizopus</i> | Mheen et al. (1986), Fukushima (1998), data in this chapter |
| Sake (Japan): wine | Rice | Koji (rice) | <i>Asp. oryzae</i> , <i>Hansenula</i> <i>anomala</i> , <i>Sacch. sake</i> | Nout (1995), Fukushima (1998) |
| Schochu (Japan): spirit | Barley, rice or sweet potato | Koji (barley or rice) | Black Aspergilli | Fukushima (1998) |
| Bai-jiu (China): spirit | Kaoliang, wheat, rice or other cereals | Chu (wheat) | <i>Rhizopus</i> spp. | Fukushima (1998) |
| Chiang, jnard (India, Nepal): beer | Barley, millet | Murcha (rice) | <i>Mucor circinelloides</i> , <i>Mucor</i> <i>rouxii</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> , <i>Candida javanica</i> , <i>Endomyces fibuliger</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Batra (1986), Nout (1992) |
| Kochujang (Korea): spicy catsup | Rice, wheat flour and meiu | Meju (soy beans) | <i>Asp. oryzae</i> , <i>Asp. sojae</i> , <i>Bacillus subtilis</i> | Mheen et al. (1986) |

| Product | Main ingredients | | Functional microflora | References |
|--|--------------------------------------|--|--|--|
| Chiang-yu, shi-tche (China), kecap (Indonesia), shoyu (Japan): soy sauces | Soy beans, wheat | Koji (soy beans and wheat) | <i>Asp. oryzae</i> , <i>Asp. sojae</i> , <i>Rhiz.</i> <i>oryzae</i> , <i>Zygosaccharomyces</i> <i>rouxii</i> , <i>Z. sojae</i> , <i>Hansenula</i> spp., <i>Torulopsis</i> spp., lactic acid bacteria | Ko (1986), Wang and Fang (1986), Nout (1995), Fukushima (1998), data in this chapter |
| Chiang (China), taoco (Indonesia), miso (Japan): soy paste | Soy beans, wheat, rice, barley | Koji (rice, barley or soy beans) | <i>Asp. oryzae</i> , <i>Asp. sojae</i> , <i>Rhiz.</i> <i>oryzae</i> , <i>Z. rouxii</i> , <i>Torulopsis versatilis</i> , lactic acid bacteria | Ko (1986), Wang and Fang (1986), Nout (1995), Fukushima (1998) |
| Tou-fu-ru (= sufu, furu) (China): soy paste | Soy bean curd (tofu) | Pehtze (tofu) | <i>Actinomucor</i> , <i>Mucor</i> | Wang and Fang (1986), data in this chapter |
| Tsu (China): vinegar | Millet, rice, sorghum | | Mycelial fungi, yeasts, acetic acid bacteria | Wang and Fang (1986) |
| Jiu (China): Chinese liquor | Sorghum | Daqu (wheat, barley, peas) | <i>Aspergillus</i> , <i>Mucor</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Monascus</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Absidia</i> , <i>Rhizomucor</i> , <i>Emericella</i> ; <i>Saccharomyces</i> , <i>Candida</i> , <i>Pichia</i> , <i>Issatchenkia</i> | Xie et al. (2007), Zhang et al. (2007), Wang et al. (2008a) |

- „multiple-stage fermentation“
ve dvou či více
etapách:
obvykle
výstupem první
etapy je vysoká
koncentrace
houbových
enzymů, které
v další etapě
rozkládají
polymery jako
škrob nebo
proteiny.

M. J. Robert Nout,
Kofi E. Aidoo:
Asian fungal fermented food.
In: Martin Hofrichter (ed.),
The Mycota X.
Industrial applications
(2nd ed., Springer Verlag,
Berlin, Heidelberg, 2010),
pp. 29–58.

Fermentace sójových bobů je využívána při výrobě **sójevé omáčky** (původně ve východní Asii, dnes celosvětově od domácí produkce po průmyslovou velkovýrobu).

Při výrobě se uplatňují dva zásadní postupy – aerobní „**koji**“ fermentace (zejména *Aspergillus oryzae*, *A. sojae* a *A. tamarii*) a anaerobní „**moromi**“ = „salt-marsh“ fermentace (kvasinky + bakterie mléčného kvašení).

Sklizené boby jsou máčeny, uvařeny a smíchány s pšeničnou moukou => následuje inokulace *Aspergillus* => růst mycelia (až 18 dní) a činnost hydrolytických enzymů (proteázy, amylázy, celulázy, invertázy). V této fázi je důležité v bioreaktorech maximalizovat působení enzymů a zamezit jejich denaturaci (při současné minimalizaci spotřeby živin, aby houby dlouho vydržely) a eliminovat vniknutí nežádoucích organismů.

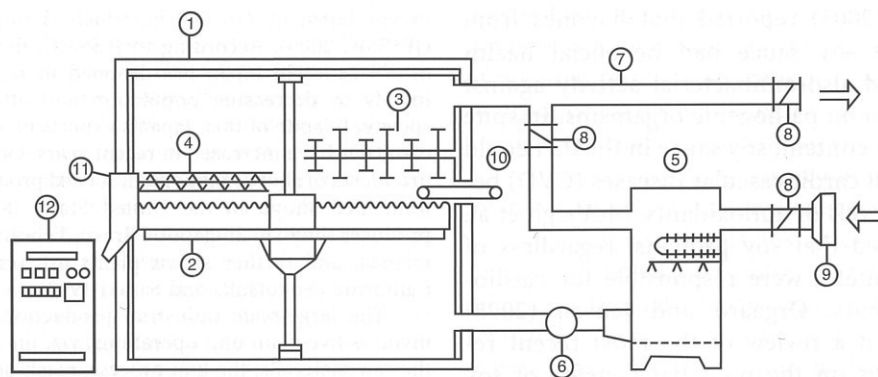


Fig. 2.14. Cross section, rotary type automatic koji making equipment. Reproduced with permission from Fujiwara Techno-Art Co. Ltd., Japan. 1. Koji room, 2. Culture bed, 3. Turning machine, 4. Heaping and discharging machine, 5. Air conditioner, 6. Blower, 7. Air duct, 8. Air damper, 9. Plate fin heater, 10. Koji material inlet, 11. Koji product outlet, 12. Control panel

M. J. R. Nout, K. E. Aidoo: Asian fungal fermented food. In: M. Hofrichter (ed.), *The Mycota X. Industrial applications*, pp. 29–58.

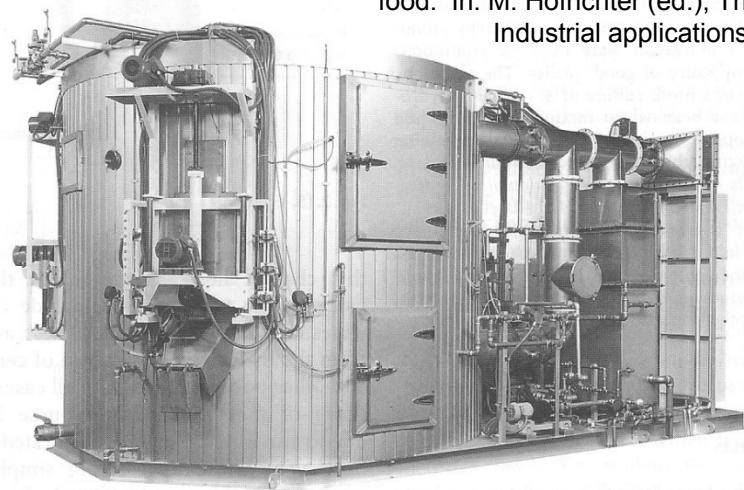
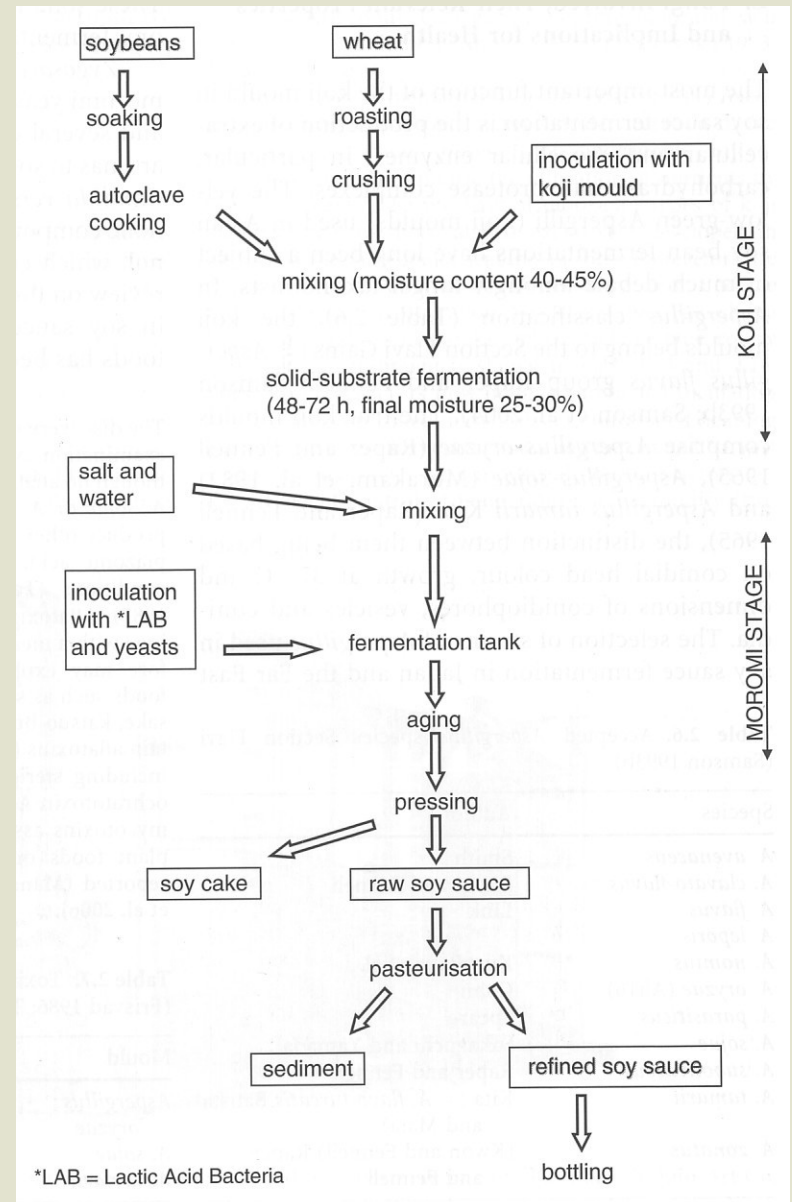


Fig. 2.13. Rotary type automatic koji making equipment. Reproduced with permission from Fujiwara Techno-Art Co. Ltd., Japan

Následuje promíchání a po 2 dnech smíchání se solným roztokem a inokulace bakterií a kvasinek (které dodají omáčce aroma) => během fermentace dojde ke snížení pH => omezení růstu dosavadních mikroorganismů, zato se uplatní acidofilní *Zygosaccharomyces rouxii* a halofilní bakterie *Tetragenococcus halophila*. Zrání trvá 3 měsíce až 3 roky, následně je tekutina filtrována (prolisována přes filtry), pasterizována (70-80 °C nejen kvůli kontaminaci, ale i inaktivaci zbytkových enzymů) a stáčena.

Z Japonska je udáváno, že obsah flavonů v sójové omáčce může mít příznivý vliv na lidské zdraví a antibakteriální působení. Jen v této zemi je udávána roční spotřeba 920 milionů litrů.

V Japonsku je ze sójových bobů (samotných nebo s ječmenem nebo s rýží) vyráběna i pomazánka zvaná **miso**. Na fermentaci se též podílí *Aspergillus oryzae* s následnou inokulací *Zygosaccharomyces rouxii*.



Starobyklým čínským pokrmem ze sóji, snadno stravitelným a bohatým na proteiny, je **sufu** (též **furu** nebo **tou-fu-ru**), krémovitá hmota různého zbarvení a vůně (dle přísad).

Základem pro jeho výrobu je tofu (vyrábí se rozmixováním sójových bobů s vodou => povaření vzniklé kaše => propasírováním vznikne sójové mléko => vysrážení se solemi vápníku do kompaktní hmoty) => ve druhé etapě je tofu zahřáto na 100 °C (pasterizace před přidáním inokula) => přidání startovací kultury nebo slámy s myceliem (zejména *Mucoraceae*, případně *Rhizopus*) => po několika dnech mycelium poroste bloky tofu => pehtze => ve třetí etapě je naloženo na několik měsíců do slaného nálevu (zde se účastní též halofilní bakterie; pro zamezení kontaminace jinými bakteriemi je vhodná koncentrace soli kolem 20 %) => ve slaném prostředí se z buněk hub uvolňují proteolytické enzymy, produkt měkne a získává vůni => výsledkem je tekutina, která se ještě zahřeje (sterilizace) a plní se do lahví.

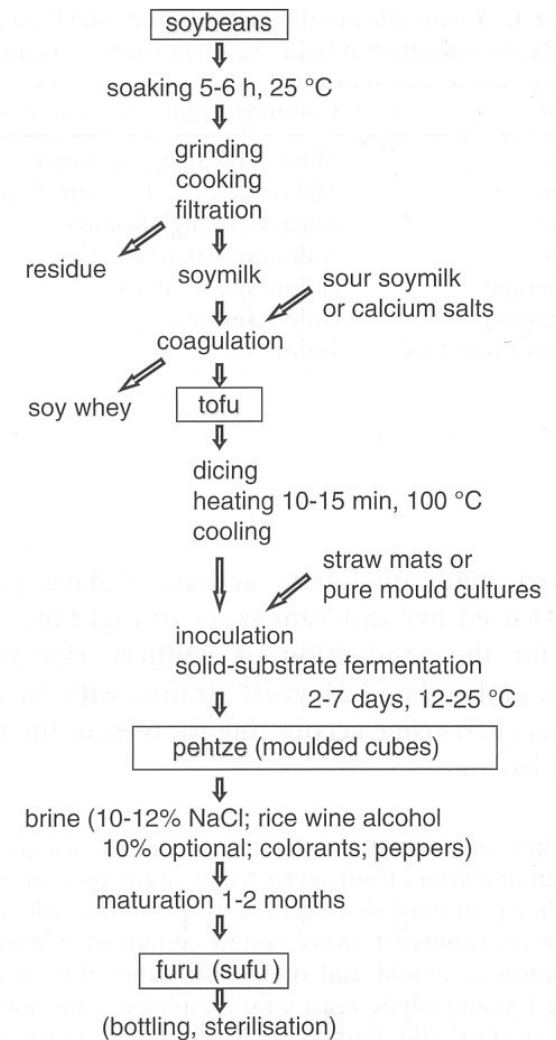


Fig. 2.10. Traditional manufacture of Furu (Sufu)

Oblíbenou vegetariánskou potravinou (jako jedna z mála obsahuje vitamín B₁₂) je **tempeh**. Je to souhrnný název pro různé typy pokrmů vyráběných fermentací luštěnin, obilnin aj., ale zejména je vžitý pro pokrmy, kde základní surovinou je též sója.

Vyloupané a uvařené sójové boby jsou ponořeny do kultury *Rhizopus microsporus* (zejména se používá var. *oligosporus*). Rezervoárem spor pro startovací kulturu bývaly v Indonésii (odkud tempeh pochází) listy *Hibiscus tiliaceus* (Waru tree). Mycelium boby proroste a vytvoří tuhou šedobílou hmotu, již enzymy houby dodají chuť. Dříve byla směs v Indonésii balena do listů banánovníku (na kterém *Rhizopus* též přirozeně roste), dnes jsou používány polyetylenové sáčky. Fermentace může být limitována, pokud v jejím průběhu dochází k přehřívání, ale na druhou stranu míchání představuje mechanický stres, který *Rhizopus* také nesnáší dobře.

Kultura *Rhizopus* s bakteriemi a kvasinkami uplatňuje hlavně proteázy, ale disponuje i enzymy degradujícími lipidy a sacharidy.

Roční produkce je stále nejvyšší v Indonésii (80 tisíc tun ročně), ale v Evropě je v současnosti prodáván tempeh s nejrůznějšími příchutěmi.

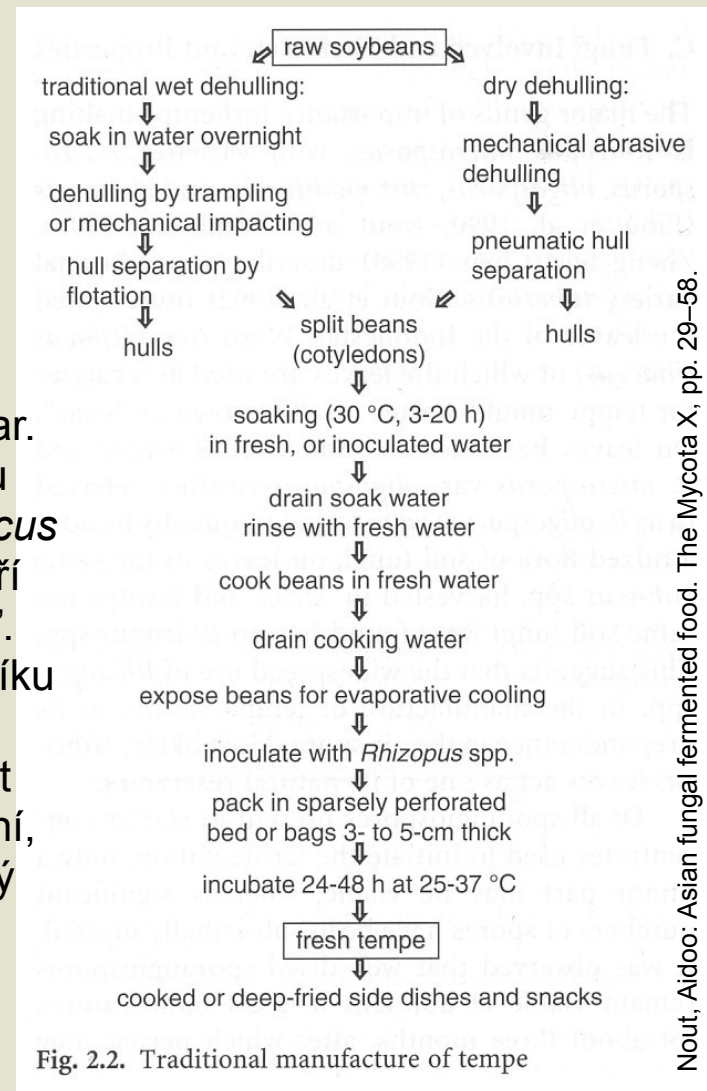


Fig. 2.2. Traditional manufacture of tempe

Některé houby jsou využívány jako **startéry amylolyzy** k získání nízkomolekulárních sacharidů pro další zpracování, například při výrobě dětských příkrmů, sladké rýže, rýžového vína aj. Pro takové inokulum se používá výraz **ragi** (např. ragi-tempeh = startovací kultura pro tempeh).

Pro přípravu takových „startovacích směsí“ je využívána rýže nebo pšenice smíchaná s cibulí, česnekem, pepřem aj. kořením (ca 14:1; koření zamezí růstu nežádoucích mikroorganismů); z této směsi je uplácán „koláč“ a posypán práškem z předchozího procesu => „těsto“ se pak nechá pracovat několik dní na bambusovém podnosu, přikryté látkou => poté vysušení, lze je pak skladovat několik měsíců.

Hlavní úlohu v těchto směsích hrají spájkivé houby, především druhy rodů *Mucor* a *Rhizopus*, a *Aspergillus oryzae*; k nim přistupují další houby (*Eurotiales*, *Fusarium*, kvasinky). Významným druhem je *Amylomyces rouxii* (dnes *Rhizopus arrhizus*), který vykazuje vysokou účinnost fermentace a na rozdíl od *Rhizopus oryzae* (hojně průmyslově využívaného) není příležitostným patogenem.

V himálajské oblasti se jako startér amylolyzy používá **murcha** (též **marcha**), obsahující směs různých kvasinek.

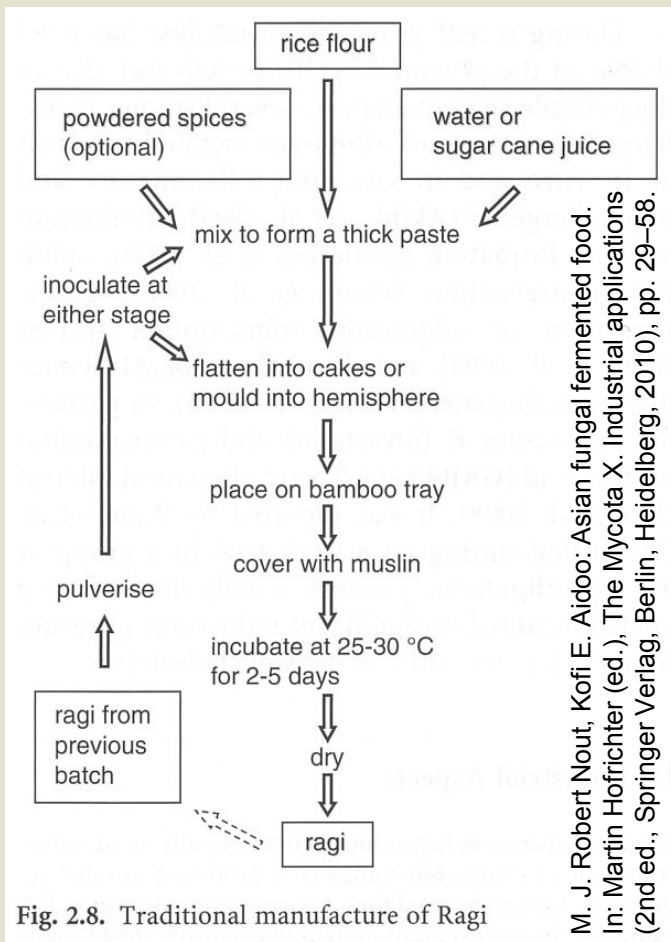


Fig. 2.8. Traditional manufacture of Ragi

Druhy rodu *Monascus* se uplatňují při výrobě **červené rýže** (neboli **angkak**) – máčená a převařená rýže je po zchlazení inokulována těmito houbami, jejichž pigmenty dají pokrmu charakteristické zbarvení. V průběhu procesu, který trvá 1-2 týdny, houba prochází třemi fázemi: rozrůstání mycelia, produkce pigmentů a postupný rozklad. *Monascus purpureus* dodává pokrmu též typickou vůni; další metabolity hub z tohoto rodu mají potenciál využití v lékařství (viz *Léčivé látky hub: lovastatin*).

Největším producentem je Čína (15 tisíc tun ročně); často je angkak vyráběn ne jako finální produkt, ale pro využití jeho extraktu k barvení jiných potravin (sufu, salámy, nápoje). V současnosti je spíše než kolonizace samotné rýže využívána fermentace v submerzní kultuře (solid-liquid fed-batch culture) s přidáním anorganických zdrojů dusíku.

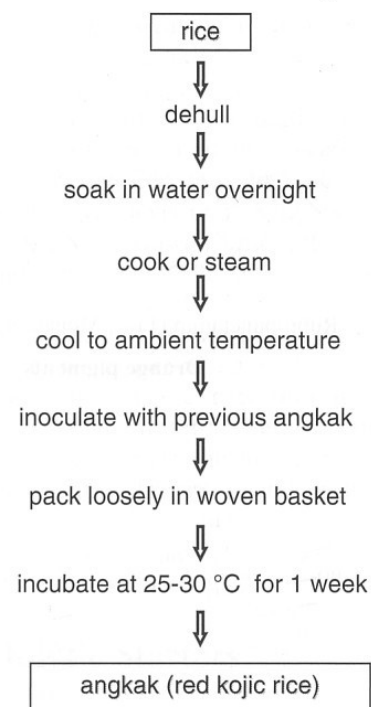


Fig. 2.5. Traditional manufacture of Angkak (red kojic rice)

M. J. R. Nout, K. E. Aidoo: Asian fungal fermented food.
In: M. Hofrichter (ed.), *The Mycota X: Industrial applications*
(2nd ed., Springer, Berlin, Heidelberg, 2010), pp. 29–58.

Důležitá je kontrola vznikajících metabolitů - rizikem je tvorba citrininu (nad limitní množství jedovatý), nově byly objeveny též monascopyridiny C a D (zřejmě rakovinotvorné).

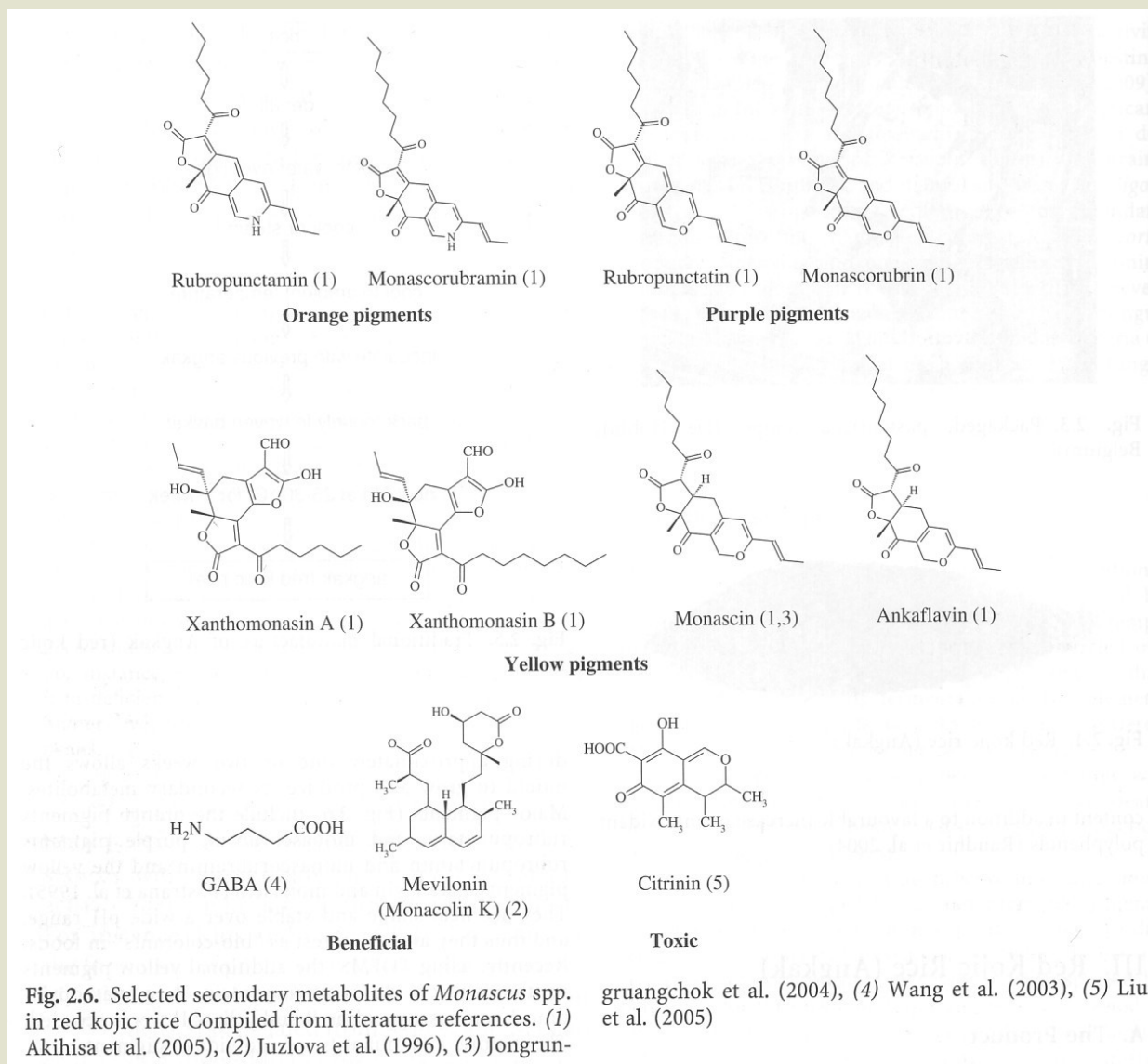


Fig. 2.6. Selected secondary metabolites of *Monascus* spp. in red kojic rice Compiled from literature references. (1) Akihisa et al. (2005), (2) Juzlova et al. (1996), (3) Jongrun-

guangchok et al. (2004), (4) Wang et al. (2003), (5) Liu et al. (2005)

M. J. Robert Nout, Kofi E. Aidoo:
Asian fungal fermented food.
In: Martin Hofrichter (ed.),
The Mycota X. Industrial applications
(2nd ed., Springer Verlag, Berlin,
Heidelberg, 2010), pp. 29–58.

Stručně můžeme zmínit:

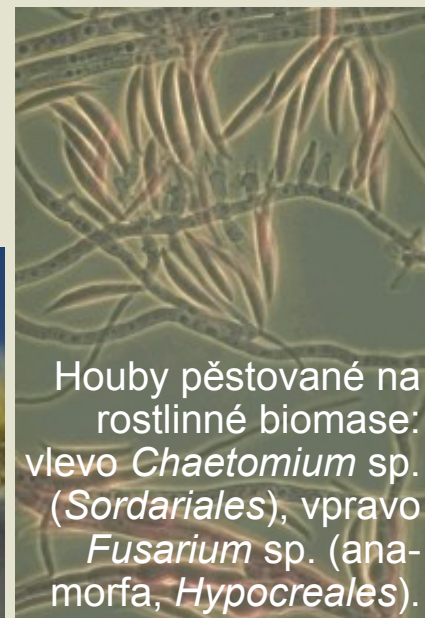
- **gari** je v západní Africe jedno z hlavních jídel (jí se jako kaše, těsto /suchá směs s vodou/ nebo polévka), připravované kvašením, lisováním a sušením hmoty z kořenů kasavy (manihotu) - nejprve bakterie *Corynebacterium* hydrolyzuje škrob, poté kvasinka *Dipodascus geotrichum* mění sacharidy na aldehydy a estery, jež dávají gari jeho chuť;
- **ogi** - kaše z kvašené kukuřice (fermentace bakterií, hyfomycetů i kvasinky *Candida mycoderma*), používá se též v západní Africe jako příkrm při odstavení dětí;
- **lao chao** - sladká čínská rýže, jde o rýži fermentovanou působením kvasinek a *Rhizopus*;
- **ildi** - směs rýže a fermentovaných děložních lístků fazole mungo s vysokým obsahem aminokyselin (fermentaci působí směs bakterií a kvasinek);
- různé mikromycety (*Aspergillus niger*, *Penicillium* spp., *Candida* spp.) jsou využívány při výrobě **kyseliny citronové** (viz *Další způsoby využití hub*).

Houby mohou sloužit jako vydatný **zdroj bílkovin** (ovšemže chudší v porovnání třeba s masem). Jejich výroba probíhá ve fermentačních tancích, kde je kmen houby pěstován v celém objemu roztoku – do tekutiny je vháněn vzduch za nepřetržitého promíchávání.

Používají se zejména různé druhy kvasinek, ale též druhy rodů *Fusarium*, *Chaetomium* aj. Zatímco rostlinná biomasa z 1 ha pole uživí asi 2,5 krávy (=> zhruba 75 kg živočišných bílkovin), při pěstování hub na této biomase je zisk bílkovin asi 10x vyšší (a za kratší dobu).

Aby byly houbové bílkoviny použitelné i jako jídlo pro lidi, je též potřeba je vyrábět chutné (aby to vůbec někdo jedl, že? :o) – v Anglii se prodávají houbové bílkoviny s žampionovou příchutí, v USA se pěstují houby na zbytcích masa a pak se to mele do karbanátků.

Nejznámějším mykoproteinovým produktem (hlavně v Anglii a Irsku) je **quorn** - z mycelia *Fusarium venenatum* jsou extrahovány proteiny, tepelně upraveny (pro odstranění nukleových kyselin, purinové báze jsou nežádoucí, mohou se měnit na kyselinu močovou => její usazování v kloubech vede ke vzniku dny), vysušeny a smíchány s bílkem.



Zatím se ale proteinové směsi získané z mikrobiálních kultur (tzv. **“single cell” proteiny**, tedy produkty jednobuněčných organismů) hojně používají hlavně jako krmivo pro zvířata. Jde o kultury, které mohou být pěstované na melase, syrovátce, syntetickém lihu, ale i na substrátech, které jsou samy o sobě škodlivými odpady a houby, řasy, sinice (*Arthrospira*) nebo bakterie pomáhají s jejich odbouráváním – destilačních frakcích ropy nebo sulfitových výluzích (odpadní vody z papíren a celulózek), ale třeba i na výkalech :o). "Nejvydatnější" jsou zřejmě lignocelulózové odpady (zbytky slámy, dřeva), na kterých bývají pěstovány kvasinky (méně výhodné, nejprve je třeba hydrolyzovat celulózu na jednoduché cukry) a některé imperfektní houby (s výhodou ty, co mají výkonné celulázy). Získaná biomasa je zdrojem proteinů, aminokyselin, vitamínů skupiny B, ale i nukleových kyselin (ty je nutno odbourat, neb jsou nevhodné v potravě, viz výše).

Tabulka 6.1. Přehled kvasinek používaných pro produkci SCP a substrátů, na kterých rostou

| Organismus | Substrát | Využití |
|--|--------------------------------|--------------------|
| <i>Yarrowia lipolytica</i> | N-alkany | Krmivo pro zvířata |
| <i>Cyberlindnera jadinii</i> | Dřevní cukry, sulfitové výluhy | Krmivo pro zvířata |
| <i>Cyberlindnera jadinii</i> , <i>Saccharomycopsis fibuligera</i> | Zbytky ze zpracování brambor | Krmivo pro zvířata |
| <i>Candida paraffinica</i> | N-alkany | Krmivo pro zvířata |
| <i>Candida</i> , <i>Hansenula</i> , <i>Pichia</i> , <i>Torulopsis</i> spp. | Alkany, metanol, melasa | Krmivo pro zvířata |
| <i>Kluyveromyces</i> spp. | Sláma | Krmivo pro zvířata |