

**ÚVOD**

Mikrobiální kultury jednodruhové nebo směsné jsou tvořeny definovanými a rozmnožování schopnými mikroorganismy, selektovanými podle jejich specifických vlastností. Přidávají se do potravin nebo surovin a do zemědělských produktů s úmyslem vyrobit nebo alespoň zlepšit (změnit) jejich vzhled, vůni, chuť, konzistenci, trvanlivost a jejich konzumovatelnost. Ochranné kultury musí splňovat určité vlastnosti. Nesní představovat pro spotřebitele žádné zdravotní riziko. Musí mít příznivý účinek na produkt, musí být na tento produkt (substrát) adaptovány. Musí být spolehlivé v důsledné ochranné aktivitě. Musí za daných podmínek vykazovat předvídatelnou metabolickou aktivitu. Musí být konkurenceschopné vůči autochtonní mikrobiotě a musí vykazovat specifické enzymatické aktivity. Nesmí mít negativní vliv na produkt za dodržení zásad správné výrobní praxe. Cílem bylo posoudit vliv přidanych protektivních kultur na mikrobiotu čerstvých sýrů. Příspěvek má za úkol informovat čtenáře o dosavadní činnosti vyvíjené v oblasti mléčných výrobků v rámci řešení projektu QK23020047 Ověření možností prokazování použití ochranných kultur ve výrobě potravin živočišného původu.

**Výroba čerstvých sýrů**

Pro výrobu sýrů bylo použito pasterované 1,5 % mléko Pilos, které bylo podrobeno tepelnému ošetření 65 °C, po zchládnutí na 33 °C byla do mléka přidána kultura CHN-19 (0,1 g/4 l mléka) a ochranná kultura (0,1 g/4 l mléka). Mléko se nechalo 40 min. prokysat. Poté se přidal 36% CaCl<sub>2</sub> (1,6 ml/4 l mléka) a syřidlo Fromase 220 TL BF (neředěné, stanovená síla 1:5333, dávka 1,6 ml/4 l mléka). Syření probíhalo 40 minut při 33 °C. Pokrájená syřenina se plnila do hranatých forem na sýr (vysvícené UV). Výtěžnost byla 18 ks ze 4 l mléka. Odkap syrovátky a obracení sýrů trvalo 20 hodin. Tímto způsobem byly vyrobeny čerstvé sýry o hmotnosti cca 40 g. Při výrobě čerstvých sýrů byly použity kromě klasické mezofilní kyskové kultury CHN – 19 (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*) také kultury protektivní a to FreshQ Cheese 3 a FreshQ 9, tyto kultury obsahují *Lacticaseibacillus rhamnosus* (dříve *Lactobacillus rhamnosus*).

**Testování antimikrobiálního působení**

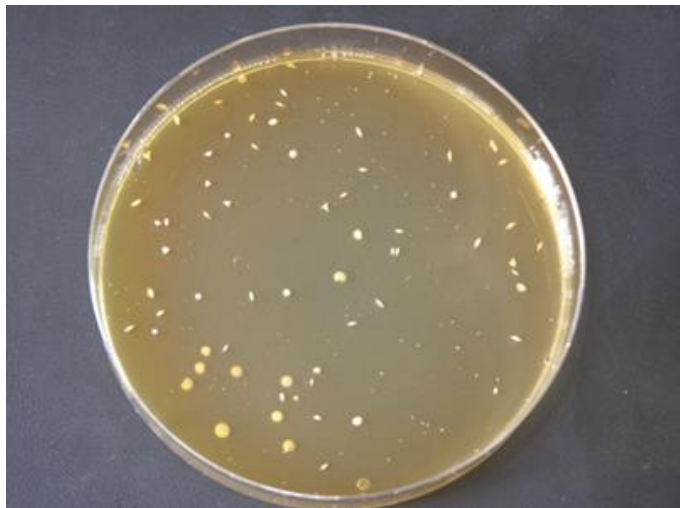
Od každé varianty s protektivní kulturou bylo připraveno 18 ks sýrů a kontrolních sýrů bez protektivní kultury bylo rovněž 18 ks. Na vybrané varianty byla aplikována kultura *Penicillium roqueforti* izolovaná ze sýru Niva a *Rhodotorula glutinis* kmen 20-1-35. Kultura o denzitě 10<sup>2</sup>-10<sup>3</sup> buněk/ml byla aplikována v množství 10 µl na plochu 1 cm<sup>2</sup>. Sýry byly baleny jednotlivě do plastových krabiček a umístěny do transportního boxu. Sýry byly následně umístěny do zraciho boxu s teplotou 8 °C. V průběhu skladování (7., 14. a 21. den) byly sýry kontrolovány, vizuálně byl hodnocen růst mikroorganismů.

**Mikrobiologická analýza v průběhu skladování**

V průběhu skladování 0., 7., 14. a 21. den byly vzorky sýrů a tvarohů skladované při 6-8 °C podrobeny mikrobiologickým analýzám. Stanovovány byly standardními postupy následující skupiny mikroorganismů: Celkový počet mikroorganismů na PCA with skimmed milk (Biokar Diagnostics, France) při 30 °C za 72 h, bakterie mléčného kvašení na MRS (Biokar Diagnostics, France) při 30 °C za 72 h a 37 °C za 48 h anaerobně, *E. coli* a ostatní koliformní bakterie na Chromogenním médiu (*E.coli*/ Coiform agar, Harlequin® - NCM1002, Neogen, UK) při 37 °C za 24 h a mikromycety (kvasinky a plísňe) na Chloramphenicol glucose agar, (Biokar diagnostic, France) při 25 °C za 72 - 120 h. Po uplynutí doby kultivace byly na Petriho miskách odečteny narostlé typické kolonie a po přepočtu byl výsledek vyjádřen jako kolonie tvořící jednotky na 1 g (KTJ/g) sýra.



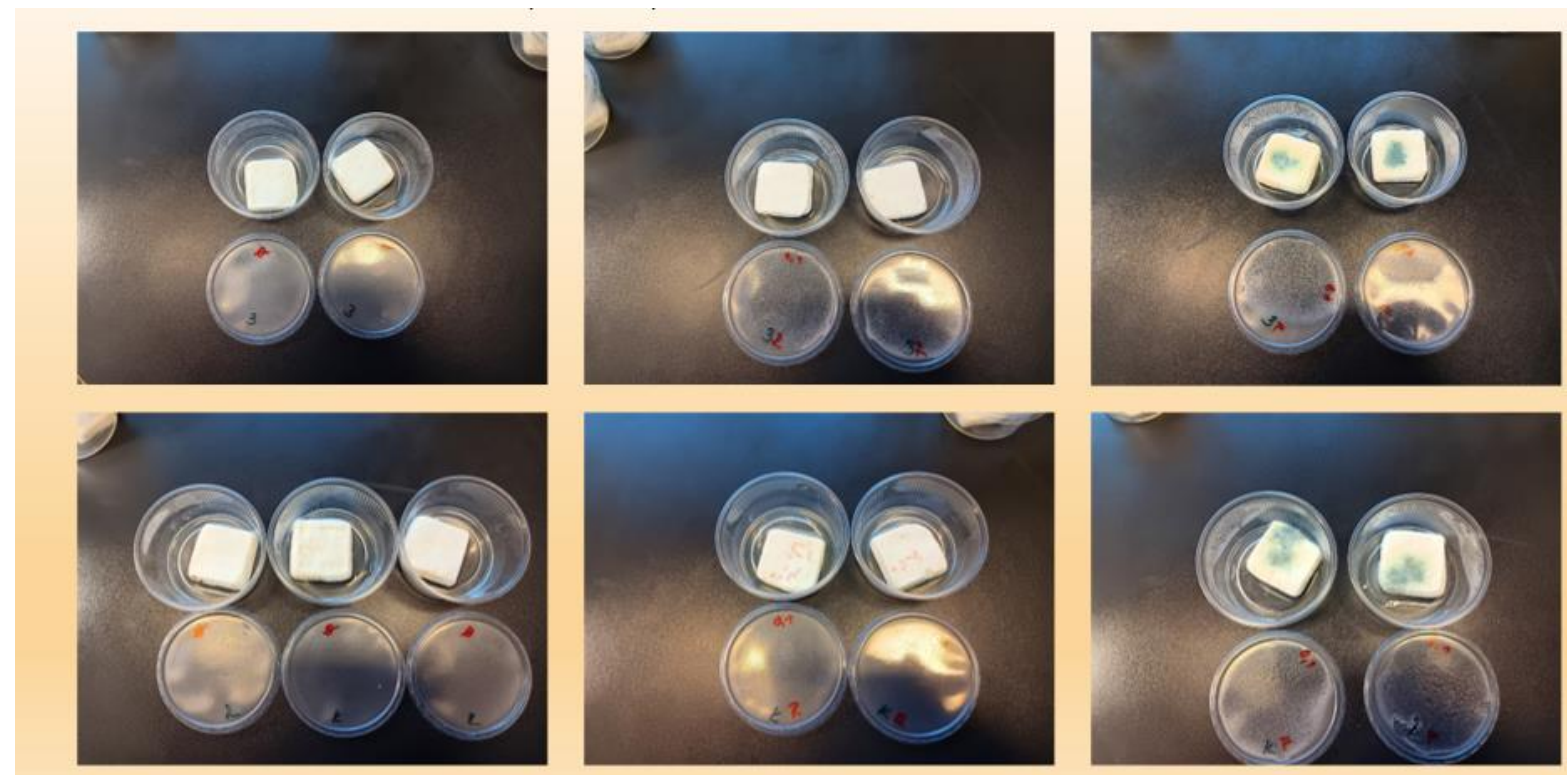
Mikrobiologická analýza byla provedena u vzorků čerstvých sýrů s přidavkem protektivních kultur a kontroly bez přidavku protektivní kultury v průběhu 21 dní (viz Tab. 1). Z výsledků jsou patrné nízké počty mikromycet, *E. coli* a ostatní koliformní bakterie nebyly detekovány. Významně vyšší počty CPM a obou variant BMK byly zjištěny u variant s přidavkem protektivní kultury.

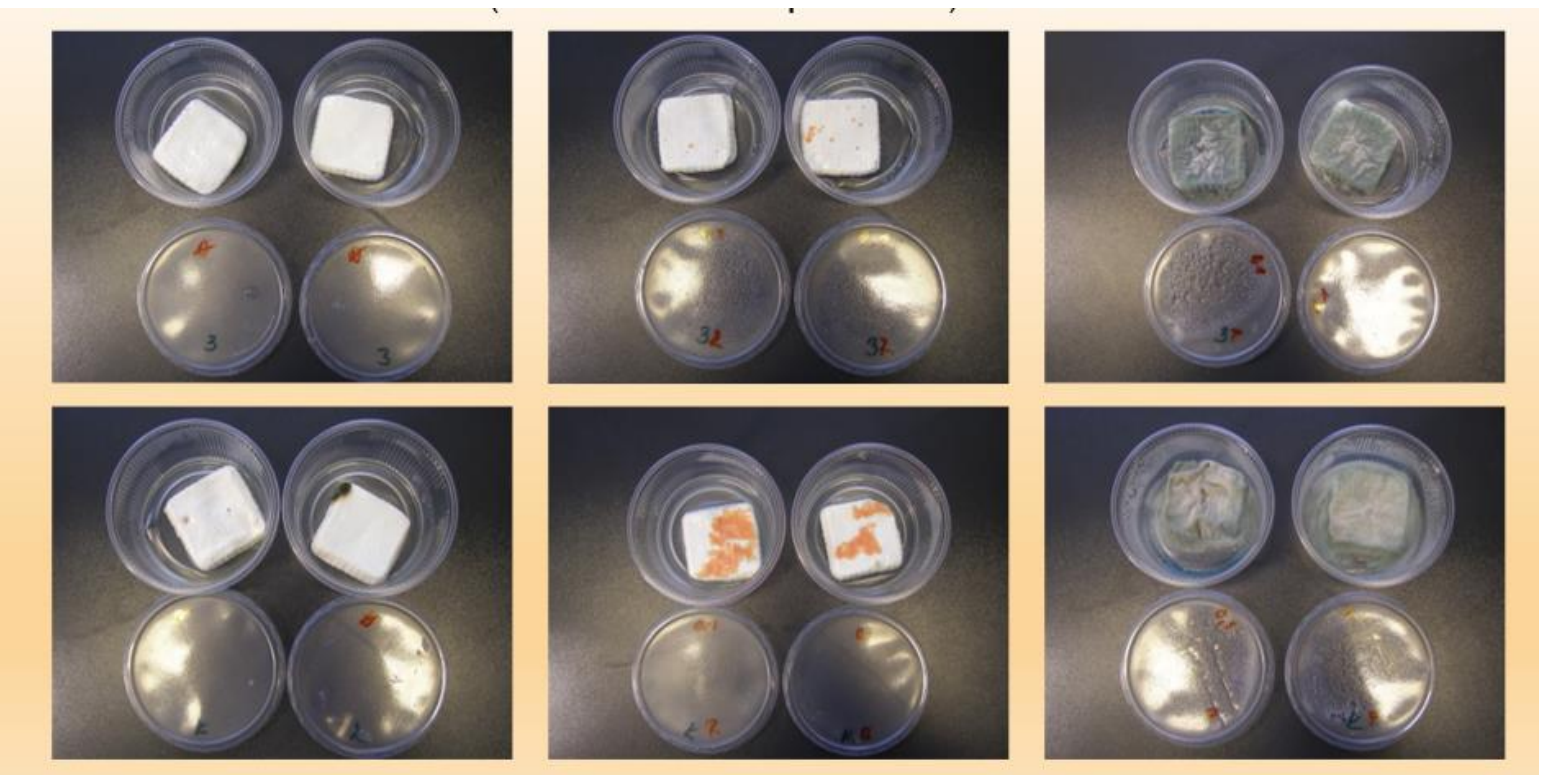


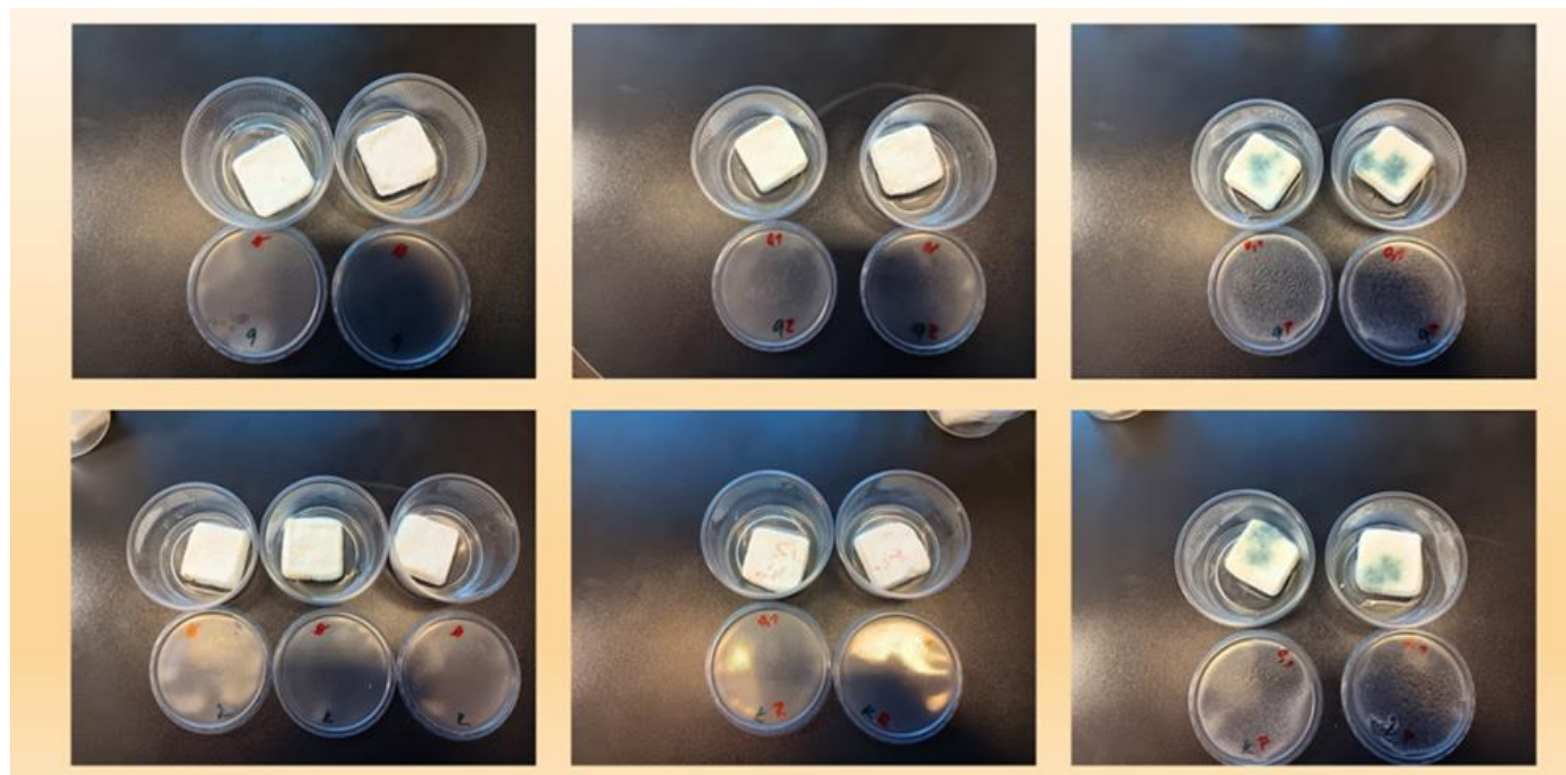
**Tab.1:** Čerstvé sýry - počty mikroorganismů v průběhu skladování v KTJ/g

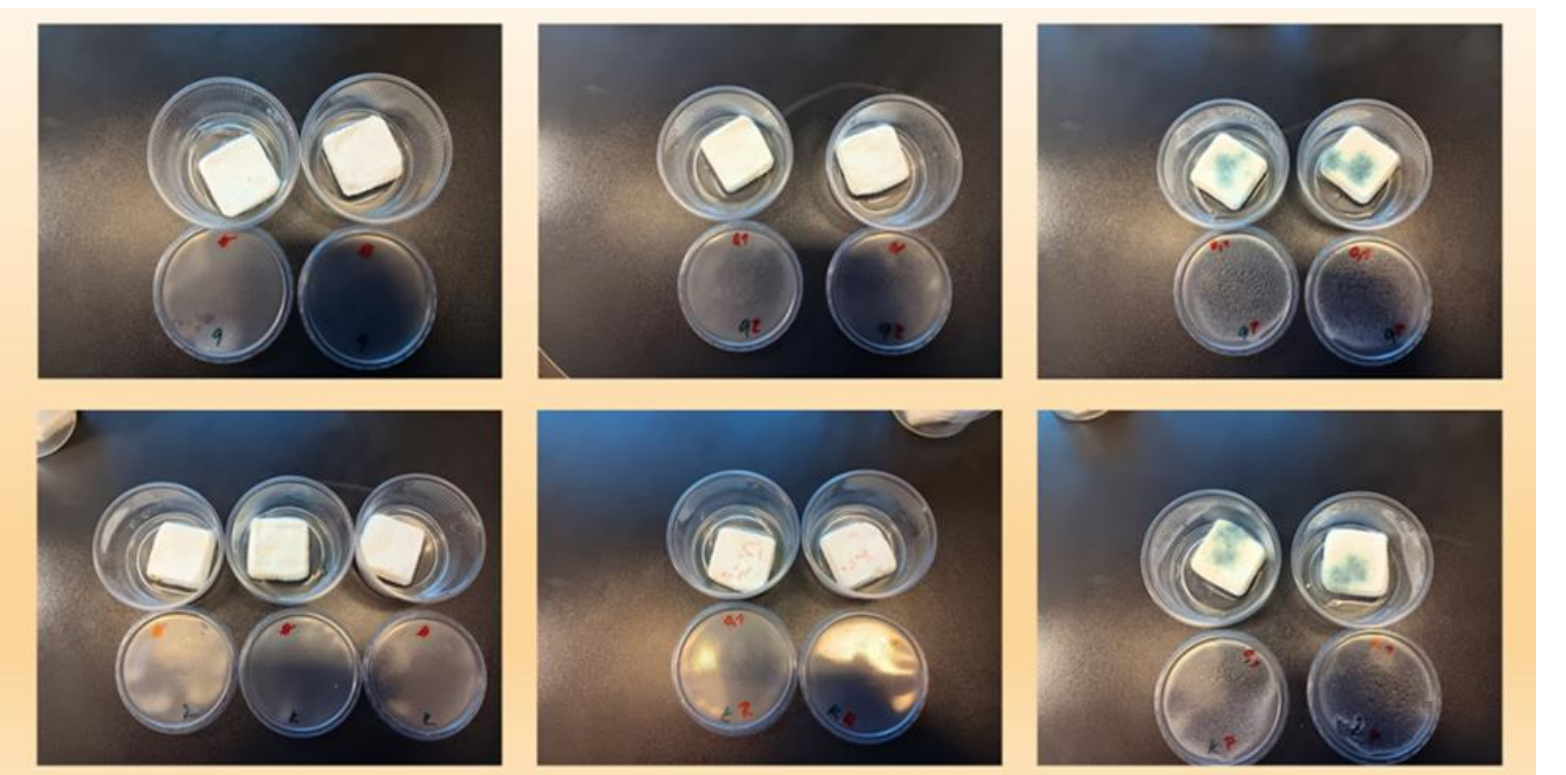
| Den | Identifikace | CPM  | Bakterie mL kvašení |                  | E. coli a koliformní b. |                       | Mikromycety |        |
|-----|--------------|------|---------------------|------------------|-------------------------|-----------------------|-------------|--------|
|     |              |      | BMK 30 °C           | BMK 37 °C anaer. | E. coli                 | ostatní koliformní b. | kvasinky    | plísňe |
| 0.  | kontrola     | 8,67 | 5,70                | 2,70             | ND                      | ND                    | ND          | ND     |
|     | + Q3         | 8,74 | 7,83                | 7,99             | ND                      | 0,70                  | ND          | ND     |
|     | + Q9         | 8,59 | 7,80                | 7,84             | ND                      | 0,88                  | ND          | ND     |
| 7.  | kontrola     | 9,02 | 5,96                | 3,07             | ND                      | ND                    | 2,53        | ND     |
|     | + Q3         | 9,12 | 8,19                | 8,18             | ND                      | ND                    | ND          | 0,40   |
|     | + Q9         | 8,89 | 8,16                | 8,28             | ND                      | ND                    | ND          | ND     |
| 14. | kontrola     | 8,98 | 6,02                | 3,70             | ND                      | ND                    | 2,40        | ND     |
|     | + Q3         | 9,07 | 8,40                | 8,43             | ND                      | ND                    | ND          | ND     |
|     | + Q9         | 8,82 | 8,30                | 8,43             | ND                      | ND                    | 0,40        | ND     |
| 21. | kontrola     | 7,44 | 5,24                | 3,40             | ND                      | ND                    | ND          | ND     |
|     | + Q3         | 8,28 | 8,20                | 8,14             | ND                      | ND                    | ND          | ND     |
|     | + Q9         | 8,32 | 8,17                | 8,19             | ND                      | ND                    | 2,26        | ND     |

V rámci experimentů bylo provedeno testování antimikrobiálního působení dvou různých protektivních kultur určených pro výrobu čerstvých sýrů. V průběhu 21 dní skladování probíhalo vždy po týdnu vizuální hodnocení růstu *Rhodotorula glutinis* a *Penicillium roqueforti*. V rámci hodnocení byla pořizována fotografická dokumentace (viz Obr.1 až 4) na nichž je dobře patrný pozitivní antimikrobiální účinek proti *R. glutinis*. Na růst *P. roqueforti* neměla protektivní kultura vliv.









**Obr. 1:** Kultura FreshQ Cheese 3 po 14 dnech— sýry s přidavkem protektivní kultury v horní řadě (kontrola bez inokulace, s *Rhodotorula glutinis* a s *Penicillium roqueforti*) v dolní řadě sýry kontrolní bez protektivní kultury

**Obr. 2:** Kultura FreshQ Cheese 3 po 21 dnech

**Obr. 3:** Kultura FreshQ 9 po 14 dnech — sýry s přidavkem protektivní kultury v horní řadě (kontrola bez inokulace, s *Rhodotorula glutinis* a s *Penicillium roqueforti*) v dolní řadě sýry kontrolní bez protektivní kultury

**Obr. 4:** Kultura FreshQ 9 po 21 dnech

**ZÁVĚR**

Dosavadní zjištění vyplývající z provedených analýz jsou následující. Přidavek protektivních kultur v koncentraci 0,1 g/4 l mléka dokázal, po celou dobu experimentu, tj. tři týdny od výroby, u sýrů skladovaných v chladírenských podmínkách (8 °C) potlačit nárůst přirozené mikrobiální kontaminace u nezaočkované varianty a významně potlačit nárůst *Rhodotorula glutinis*. Proti *Penicillium roqueforti* přidavek protektivních kultur neúčinkoval. U čerstvých sýrů byly zjištěny rozdíly v CPM a počtech BMK u kontrolní varianty a variant s přidavkem ochranné kultury.

**PODĚKOVÁNÍ:** Příspěvek byl zpracován s podporou projektu QK23020047 „Ověření možností prokazování použití ochranných kultur ve výrobě potravin živočišného původu“.