

POUŽITÍ OCHRANNÝCH KULTUR PŘI VÝROBĚ TVAROHŮ A SÝRŮ

THE USE OF PROTECTIVE CULTURES IN THE PRODUCTION OF CHEESES

Libor Kalhotka¹ – Petr Kouřil¹ – Miroslav Jůzl¹ – Jana Zemanová¹

¹Ústav technologie potravin, Agronomická fakulta, MENDELU, Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno

<https://doi.org/10.11118/978-80-7701-048-1-0089>



ABSTRAKT

Sýry včetně tvarohů tvoří velmi rozmanitou skupinu mléčných výrobků při jejichž výrobě se uplatňuje řada mikroorganismů, přičemž zásadní roli hrají bakterie mléčného kvašení. Tyto bakterie jsou součástí primární kultury zajišťující fermentaci ale díky produkci antimikrobiálních látek působí též jako kultury protektivní. Při výrobě sýrů lze samostatně protektivní kultury aplikovat jako prostředek proti významným alimentárním patogenům či proti mikroorganismům působícím kažení sýrů.

Klíčová slova: bakterie mléčného kvašení, bakteriociny, kažení, mléčné výrobky

ABSTRACT

Cheeses, including quark, are a very diverse group of dairy products, the production of which involves the use of a number of microorganisms, with lactic acid bacteria playing a crucial role. These bacteria are part of the primary culture ensuring fermentation, but thanks to the production of antimicrobial substances they also act as protective cultures. In the production of cheese, separate protective cultures can be applied as a means against significant food pathogens or against microorganisms causing cheese spoilage.

Keywords: lactic acid bacteria, bacteriocins, spoilage, dairy products

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 jsou tvořeny mikroorganismy, které v potravině rostou preferenčně, čímž potlačují růst jiných mikroorganismů působících kažení dané potraviny nebo patogenních. Mikroorganismy tvořící protektivní kultury produkují antimikrobiálně působící metabolity, jako jsou organické kyseliny, bakteriociny, diacetyl, CO₂, peroxid vodíku, deriváty aminokyselin.

Vedle příznivých účinků potlačením nežádoucích mikroorganismů, se ochranné kultury mohou vyhledávat také pro příznivý účinek na senzorické vlastnosti potraviny, jako jsou chuť, vůně a barva výrobku, prostřednictvím enzymů.

Rozdíl mezi startovací a ochrannou kulturou je takový, že nemusí nutně existovat technologická výhoda (jako u startovacích kultur), ale musí vykazovat antimikrobiální účinky.

Ochranné kultury musí splňovat určité vlastnosti. V první řadě nesmí představovat pro spotřebitele žádné zdravotní riziko. Nesmí být patogenní, nesmí produkovat žádné toxiny, biogenní aminy ani jiné metabolity s negativním vlivem na zdraví. Za druhé musí mít ochranné kultury 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 např. produkovat kyselinu mléčnou bez produkce plynu. Musí být konkurenceschopné vůči autochtonní mikrobiotě a v neposlední řadě musí vykazovat specifické enzymatické aktivity. Za třetí nesmí mít tyto kultury negativní vliv na produkt za dodržení zásad správné výrobní praxe. Jde především o senzorické působení např. bez produkce organických kyselin, slizu, plynu atd. v závislosti na typu produktu. Za čtvrté ochranné kultury mohou plnit také funkci určitého indikátoru při nedodržení doporučených podmínek. (Holzapfel et al., 1995; Kameník et al. 2024).

Príspevek 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.

MATERIÁL A METODIKA

Výroba čerstvých sýrů a tvarohů

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% CaCl₂ (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 zákysové 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, FreshQ 9, FreshQ 11, tyto tři kultury obsahují *Lacticaseibacillus rhamnosus* (dříve *Lactobacillus rhamnosus*), a kultura FreshQ 4, která obsahuje kromě *L. rhamnosus* také *Lacticaseibacillus paracasei* (dříve *Lactobacillus paracasei*).

Pro výrobu tvarohu bylo použito syrové kravské mléko, celkem 40 l (Zemědělská společnost Devět křížů Domašov). Mléko bylo podrobeno tepelnému ošetření - pasterace 72 °C / 30 sec. a následně zchlazeno na 20–23 °C. Po té byl cca po 1 h přidán 1 g mezofilní aromatické kultury **CHN11** - 50 U (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*). Dávka 40 litrů mléka rozdělena na 2 poloviny (á 20 l); do jedné přidána ochranná kultura **FreshQ Tvorog 2** - 0,68 g, 125 U (*Lacticaseibacillus rhamnosus*). Obě varianty se ponechaly

prokysávat do dalšího dne (cca 20 hodin). Po 20 hodinách bylo změřeno pH (vzorek bez ochranné kultury 4,7; vzorek s ochrannou kulturou 4,5). Mléko v pasterizačním kotli zahřáto na 40 °C / 20 minut pro podpora tvorby sraženiny. Vytvořená sraženina byla přelita do odkapávací vany, vystlané sýrařskou plachetkou (mat. PE2-35 g/m²). Po 5 h samovolného odkapávání syrovátky z tvarohu ve vaně byl celý objem zatížen. Po 16 h zatížení nadávkování do obalů. (Pro následné analýzy bylo připraveno 16 krabiček po 50 g).

Testování antimikrobiálního působení

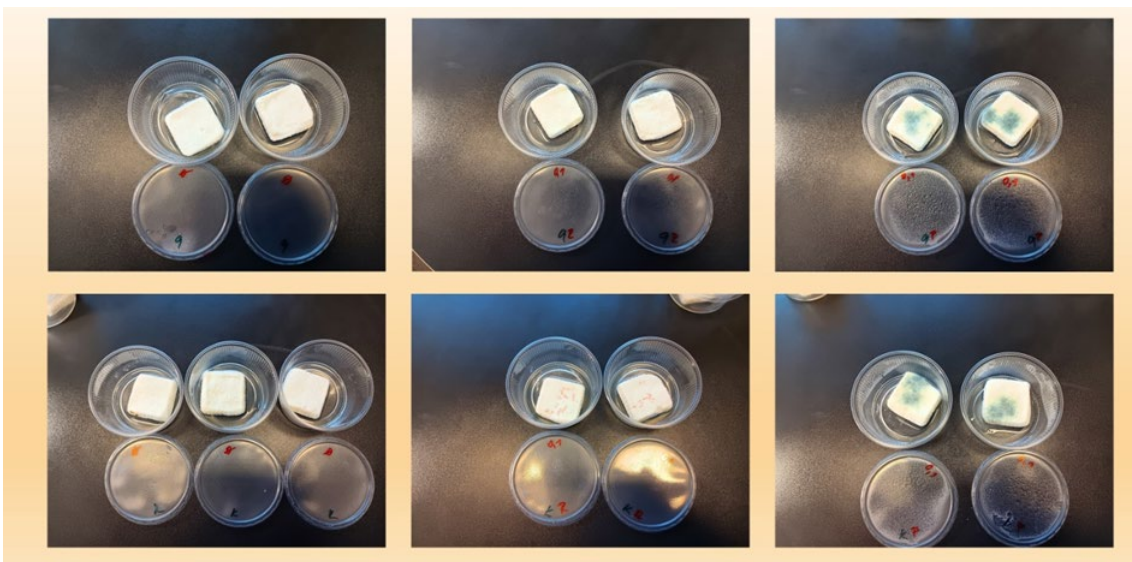
Od každé varianty s protektivní kulturou bylo připraveno 18 ks sýrů a kontrolních sýrů bez protektivní kultury bylo rovněž 18 ks. Na vybrané varianty byla aplikována kultura *Penicillium roqueforti* izolovaná ze sýru Niva a *Rhodotorula glutinis* kmen 20-1-35. Kultura o denzitě 10²-10³ buněk/ml byla aplikována v množství 10 µl na plochu 1 cm². Sýry byly baleny jednotlivě do plastových krabiček a umístěny do transportního boxu. Sýry byly následně umístěny do zracího boxu s teplotou 8 °C. V průběhu skladování (7., 14. a 21. den) byly sýry kontrolovány, vizuálně byl hodnocen růst mikroorganismů. Z hodnocení byla pořízena fotodokumentace.

Mikrobiologická analýza v průběhu skladování

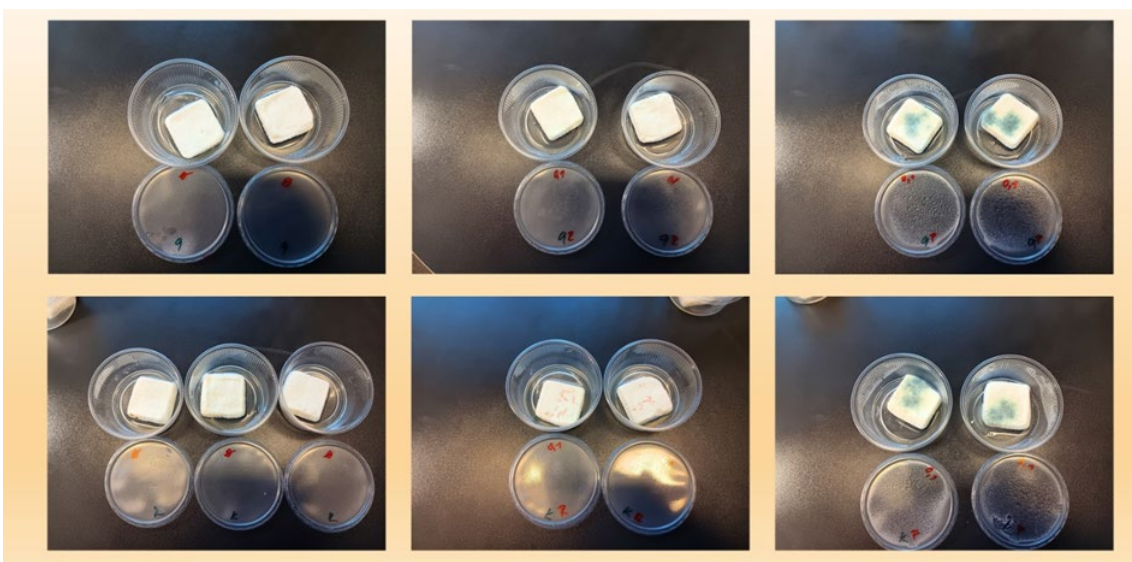
V průběhu skladování 0., 7., 14. a 21. den byly vzorky sýrů a tvarohů skladované při 6–8 °C podrobeny mikrobiologickým analýzám. Stanovovány byly standardními postupy následující skupiny mikroorganismů: Celkový počet mikroorganismů na PCA with skimmed milk (Biokar Diagnostics, France) při 30 °C za 72 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 plísně) 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.

VÝSLEDKY A DISKUZE

V rámci experimentů bylo provedeno testování antimikrobiálního působení čtyř 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 a 2) na nichž je dobře patrný pozitivní antimikrobiální účinek proti *R. glutinis*. Na růst *P. roqueforti* neměla protektivní kultura vliv.



Obrázek 1: 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



Obrázek 2: Kultura FreshQ 9 po 21 dnech

Mikrobiologická analýza byla provedena u vzorků čerstvých sýrů s přidavkem čtyř protektivních kultur a kontroly bez přidavku protektivní kultury v průběhu 21 dní. Obdobně byla analýza provedena u tvarohů s přidavkem protektivní kultury a kontrolních vzorků (viz Tab. 1 a 2). 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.

Tabulka 1: Čerstvé sýry - počty mikroorganismů v průběhu skladování v KTJ/g

Den	Identifikace	CPM	Bakterie ml. kvašení		<i>E. coli</i> a koliformní b.		Mikromycety	
			BMK 30 °C	BMK 37 °C anaer.	<i>E. coli</i>	ostatní koliformní b.	kvasinky	plísně
0.	kontrola	8,67	5,70	2,70	ND	ND	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
	+ Q9	8,89	8,16	8,28	ND	ND	ND	ND
14.	kontrola	8,98	6,02	3,70	ND	ND	2,40	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
	+ Q9	8,32	8,17	8,19	ND	ND	2,26	ND

Tabulka 2: Tvarohy – počty mikroorganismů v průběhu skladování v KTJ/g

Den	Identifikace	CPM	Bakterie ml. kvašení		<i>E. coli</i> a koliformní b.		Mikromycety	
			BMK 30 °C	BMK 37 °C anaer.	<i>E. coli</i>	ostatní koliformní b.	kvasinky	plísně
0.	kontrola	7,67	7,06	3,69	ND	ND	ND	1,15
	+ Tvorog 2	8,09	7,82	7,86	ND	ND	1,57	0,40
7.	kontrola	7,36	6,36	3,06	ND	ND	1,13	0,40
	+ Tvorog 2	8,63	8,00	7,91	ND	ND	2,77	ND
14.	kontrola	7,56	5,48	3,10	ND	ND	4,28	ND
	+ Tvorog 2	8,06	8,12	8,06	ND	ND	3,26	ND
21.	kontrola	7,26	5,58	3,52	ND	ND	1,79	ND
	+ Tvorog 2	8,25	8,04	7,95	ND	ND	3,82	0,40

ZÁVĚR

Dosavadní zjištění vyplývající z provedených analýz jsou následující. Přídavek 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* přídavek protektivních kultur neúčinkoval. U čerstvých sýrů a tvarohů byly zjištěny rozdíly v CPM a počtech BMK u kontrolních variant a variant s přídavkem ochranné kultury. Při správné výrobě těchto druhů sýrů není nezbytně nutné přidávat ochrannou kulturu.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl zpracován s podporou projektu QK23020047 Ověření možností prokazování použití ochranných kultur ve výrobě potravin živočišného původu

LITERATURA

Holzappel, W. H., Geisen, R., Schillinger, U. (1995): Ecological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. Int. J. of Food Microbiol. 24 (3), 343–362. ISSN 1879-3460. Dostupné z doi: 10.1016/0168-1605(94)00036-6

Kameník, J. (2024) – přednáška Má využití ochranných kultur ve výrobě potravin živočišného původu význam? (ústní sdělení) Konference - Možnosti využití ochranných kultur při výrobě potravin živočišného původu 26. března 2024.

Kontaktní adresa: doc. Ing. Libor Kalhotka, Ph.D., Ústav technologie potravin, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno, e-mail: libor.kalhotka@mendelu.cz