

Využití ochranných kultur při výrobě mléčných výrobků

Anna Plachká

Bakalářská práce
2021

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Anna Plachká**
Osobní číslo: **T190080**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin – specializace Technologie mléka a mléčných výrobků**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Využití ochranných kultur při výrobě mléčných výrobků**

Zásady pro vypracování

1. Mikroflóra mléka.
2. Charakterizujte čisté mlékárenské kultury.
3. Zaměřte se na využití ochranných kultur a jejich funkci.
4. Uvedte příklady použití.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] OBERMAN, H., LIBUDZISZ, Z. Microbiology of fermented foods. Second addition, Edited by Brian J.B.Wood. London: Published by Blackie Academic and Professional, an imprint of Thomson Science. 1998. 1000s. ISBN 0-7514-0216-8.
- [2] JIČÍNSKÁ, Eva a HAVLOVÁ, Jana. Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích. 1. vyd. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1995. 106 s. ISBN 80-85120-47-X.
- [3] ROBINSON, R. K., ed. Dairy microbiology handbook: [microbiology of milk and milk products]. 3rd ed. New York: Wiley Interscience, 2002. xiv, 765 s. ISBN 0-471-38596-4.
- [4] LUKÁŠOVÁ, Jindra a kol. Hygiena a technologie mléčných výrobků. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2001. 180 s. ISBN 80-7305-415-9.
- [5] GÖRNER, Fridrich a VALÍK, Ľubomír. Aplikovaná mikrobiológia požívatin: princípy mikrobiológie požívatin, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho pôvodu, ktorých zárodky sú prenášané požívatinami. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Zita Bastlová**
Ústav technologie potravin

Oponent bakalářské práce: **Ing. Zdeňka Foltýnová**
Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2020**

Termín odevzdání bakalářské práce: **21. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta: Anna Plachká

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá mikroflórou mléka, popisuje mikroorganismy způsobující kažení mléčných výrobků. Další část charakterizuje mikroorganismy v čistých mlékařských kulturách. Zde jsou popsány jejich funkce a využití. Dále popisuje použití ochranných kultur v mléčných výrobcích. Poslední část je zaměřena na ochranné kultury na českém trhu.

Klíčová slova: mléko, bakterie mléčného kvašení, mikroorganismy, čisté mlékařské kultury, ochranné kultury

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with microbiology of milk, describes microorganisms, which can cause spoiling of dairy products. Next part characterizes microorganisms in starter cultures. Particular roles and use of dairy cultures are characterized. As well as describes the use of protective cultures in the production of dairy products. In the last part is aimed at protective cultures in the Czech market.

Keywords: milk, lactic acid bacteria, microorganisms, dairy cultures, protective cultures

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce Ing. Zitě Bastlové za cenné rady, připomínky a celkovou vstřícnost a trpělivost, kterou mi poskytovala při psaní.

Dále bych chtěla poděkovat své rodině, která mi byla velkou oporou.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis

OBSAH

ÚVOD.....	9
1 MIKROFLÓRA MLÉKA	10
1.1 MIKROBIOLOGIE SYROVÉHO MLÉKA.....	11
1.1.1 Psychrotrofní bakterie	11
1.1.2 Bakterie mléčného kvašení	11
1.1.3 Koliformní bakterie	12
1.1.4 Patogenní mikroorganismy	12
1.2 MIKROBIOLOGIE TEPELNĚ OŠETŘENÉHO MLÉKA.....	12
1.2.1 Psychrotrofní bakterie	13
1.2.2 Koliformní bakterie	13
1.2.3 Termorezistentní a sporující bakterie.....	13
1.2.4 Kvasinky a plísňe	13
1.3 VADY ZPŮSOBENÉ KONTAMINACÍ MIKROORGANISMŮ	14
1.3.1 Psychrotrofní bakterie	14
1.3.2 Bakterie mléčného kvašení	15
1.3.3 Koliformní bakterie	15
1.3.4 Termorezistentní a sporující bakterie.....	15
2 CHARAKTERISTIKA ČISTÝCH MLÉKÁRENSKÝCH KULTUR.....	17
2.1 VÝZNAM ČMK	18
2.1.1 Technologický význam	18
2.1.2 Zdravotní význam	18
2.2 ROZDĚLENÍ ČMK.....	19
2.3 FUNKCE ČMK.....	20
2.3.1 Kysání	20
2.3.2 Zrání	20
2.4 POUŽITÍ ČMK	21
2.4.1 ČMK pro výrobu kysaných mléčných výrobků	21
2.4.2 ČMK pro výrobu sýrů a tvarohů	24
3 VYUŽITÍ OCHRANNÝCH KULTUR A JEJICH FUNKCE	28
3.1 MECHANISMY ANTAGONISMU	29
3.2 METABOLITY OCHRANNÝCH KULTUR.....	30
3.2.1 Bakteriociny	30
3.2.2 Organické kyseliny.....	33
3.2.3 Peroxid vodíku	33
3.2.4 Enzymy	34
3.3 PŘÍKLADY MIKROORGANISMŮ VYUŽÍVANÝCH V OCHRANNÝCH KULTURÁCH	34
4 PŘÍKLADY POUŽITÍ OCHRANNÝCH KULTUR.....	38
4.1 IOTA FF – OCHRANNÁ OKYSELUJÍCÍ KULTURA	38
4.2 GAMMA 1	39

4.3	GAMMA 21	40
4.4	GAMMA 22	40
ZÁVĚR		41
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		42
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		46

ÚVOD

Mikroorganismy jsou nedílnou součástí našeho života, nacházejí se v půdě, na rostlinách, ve vzduchu, ve vodě, na potravinách, v lidském těle atd. Velká část populace vidí v mikroorganismech jen jejich negativní dopad na naše zdraví. Způsobují kažení potravin a produkují patogeny, které jsou zdraví škodlivé. Koliformní bakterie mohou v lidském těle vyvolat průjemová onemocnění. Listerie se mohou nacházet na mléčných výrobcích, kde se rozmnožují i při nízkých teplotách a způsobují žaludeční nevolnosti. *Escherichia coli* může vyvolat žaludeční potíže nebo poškodit ledviny. Ale ne všechny mikroorganismy mají na náš život negativní účinky, některé dokonce našemu zdraví prospívají.

Mezi prospěšné mikroorganismy se řadí např. laktobacily nebo bifidobakterie, které se řadí mezi probiotické a v našem těle zlepšují zažívání. V mléčných výrobcích potlačují růst nežádoucí mikroflóry a tím prodlužují dobu trvanlivosti a zajišťují bezpečnost produktu. Mikroorganismy jsou také součástí střevní mikroflóry, kde fermentují nestrávené látky z potravy. Bez mikroorganismů bychom nevyrobily tradiční mléčné nebo kvasné výrobky. Uplatňují se v mnoha rozmanitých oblastech.

Čisté mlékařské kultury se používají při výrobě sýrů, jogurtů, zakysaných mléčných výrobků. Hlavní funkcí kultur při výrobě je štěpení laktózy, mléčného tuku a bílkovin. Díky činnosti čistých mlékařských kultur získáváme výrobky s charakteristickou vůní a chutí.

Ochranné kultury, tvorbou metabolitů, mohou inhibovat růst nežádoucí mikroflóry při výrobě nebo skladování mléčných výrobků.

1 MIKROFLÓRA MLÉKA

Mléko získávané ze zdravé dojnice není sterilní, obsahuje malé množství mikroorganismů, tzv. komezálů mléčné žlázy. Obsahuje mikrokoky, streptokoky a vzácně korynebakterie (LUKÁŠOVÁ, 1999).

Mléko díky svému složení představuje vhodné růstové médium pro mikroorganismy (MO). Má vysokou vodní aktivitu, téměř neutrální pH a dostupné živiny pro množení MO. Hlavní složky mléka jsou laktóza, tuk, bílkoviny, minerály a různé neproteinové dusíkaté sloučeniny. Většina mikroorganismů nemůže využívat laktózu, a proto musí spoléhat na proteolýzu nebo lipolýzu, aby získaly uhlík a energii. Syrové mléko obsahuje zpočátku různé inhibitory růstu, které snižují růst mikroorganismů v počátečních fázích skladování (DOYLE a BEUCHAT, 2007).

Počet mikroorganismů se významně zvyšuje při mastitidách (zánět mléčné žlázy). Mezi nejčastější původce mastitid patří *Staphylococcus aureus* a *Streptococcus agalactiae*. Při mikrobiologickém posuzování mléka se sleduje především počet mikroorganismů, jejich druhové zastoupení, obsah produktů jejich metabolismu a obsah somatických buněk.

Primární mikroflóra – do mléka se dostává ještě před dojením. A to buď vnitřní cestou (krevním oběhem) nebo vnější cestou (strukovým kanálem). Primární mikroflóra je brzy potlačena, proto nemá příliš velký vliv na jakost a trvanlivost mléka.

Sekundární mikroflóra – mléko kontaminuje při nadojení a během dalšího zpracování. Hlavními zdroji kontaminace mléka jsou povrch těla dojnice, dojící zařízení, nádoby a nádrže na dojení a uchovávání mléka, dojiči, krmivo, stelivo, voda a vzduch. Sanitace, mechanické čištění a dezinfekce může významně zredukovat sekundární mikroflóru (BUŇKA, 2013).

Mléčné výrobky představují více či méně vhodné prostředí pro růst mikroorganismů. Často mají kyselé pH, nízkou vodní aktivitu a různou koncentraci živin. Například máslo je emulze typu voda v oleji, to znamená, že mikroorganismy jsou zachyceny v kapičkách séra. Je-li máslo nasoleno, průměrný obsah soli v kapičkách bude 6–8 %. Což stačí k inhibici gramnegativních organismů, které by mohly růst během chlazení. V případě, že během výroby dojde k nerovnoměrnému rozptýlení soli v kapičkách, může dojít k růstu psychrotrofních bakterií v kapičkách s nižší koncentrací soli (DOYLE a BEUCHAT, 2007).

1.1 Mikrobiologie syrového mléka

1.1.1 Psychrotrofní bakterie

Syrové mléko se musí po odběru rychle ochladit a udržovat v chladu až do pasterizace. Zavedení této účinné chladicí technologie v zemědělských farmách zapříčinilo změnu mikroflóry syrového mléka. Mezofilní mikroflóru vystřídala psychrotrofní. Optimální růstová teplota psychrotrofních bakterií se pohybuje mezi 20–30 °C, ale jsou schopny růst i při teplotách nižší než 8 °C (LUKÁŠOVÁ, 1999; DOYLE a BEUCHAT, 2007).

Psychrotrofní bakterie, které kazí syrové mléko, jsou nejčastěji gramnegativní bakterie rodů *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. fragi*, *P. putida*, *P. aeruginosa*), *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Psychrobacter*, *Alcaligenes*, *Achromobacter* nebo *Shewanella*. Psychrotrofní bakterie, které se běžně vyskytují v syrovém mléce, jsou termolabilní a jsou inaktivovány pasterizací (BUŇKA, 2013).

Nejčastěji ke kontaminaci mléka psychrotrofními bakteriemi dochází během dojení z nedostatečně vyčištěného dojícího zařízení. Správné postupy čištění a dezinfekce účinně snižují kontaminaci těmito zdroji (DOYLE a BEUCHAT, 2007).

Psychrotrofní *B. cereus* je přítomen ve více než 80 % vzorků syrového mléka. Vady mléčných výrobků způsobují extracelulární termostabilní enzymy, které tyto bakterie produkují. Především pak proteázy a lipázy. Růst proteolytických bakterií v syrovém mléce snižuje výtěžnost sýra. Lipáza v syrovém mléce způsobuje vady v produktech vyrobených z tohoto mléka (BUŇKA, 2013; DOYLE a BEUCHAT, 2007).

1.1.2 Bakterie mléčného kvašení

Při nedostačujícím nebo pomalém chlazení mléka dochází k heterofermentativnímu rozkladu laktózy činností bakterií mléčného kvašení. Důsledkem je samovolné kysnutí mléka, které se projevuje zvýšenou titrační kyselostí a nakyslým aromatem a chutí. Mezi rody podílející se na kvašení mléka a fermentovaných produktů patří *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus* a *Streptococcus* (LUKÁŠOVÁ, 1999; DOYLE a BEUCHAT, 2007).

Bakterie mléčného kvašení se běžně vyskytují na rostlinách, v silážích, v krmivu a ve výkalech zvířat (BUŇKA, 2013; DOYLE a BEUCHAT, 2007).

1.1.3 Koliformní bakterie

Jsou to gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinky spadající do čeledi *Enterobacteriaceae*, které jsou schopny fermentovat laktózu za vzniku kyselin a plynu.

V mléku se nejčastěji nacházejí rody *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter* nebo *Serratia*.

Koliformní bakterie jsou přítomny na kůži vemene v důsledku fekální kontaminace, takže neúčinné čištění této oblasti před dojením přispěje k rozmnožení koliformních bakterií v mléce. Nedostatečně vyčištěné dojící zařízení vede ke kontaminaci syrového mléka. Zdrojem kontaminace může být i fekálně kontaminovaná voda, podestýlka nebo půda. Koliformní bakterie se považují za indikátor úrovně hygieny (BUŇKA, 2013; DOYLE a BEUCHAT, 2007).

1.1.4 Patogenní mikroorganismy

Růstová teplota těchto mikroorganismů se pohybuje v rozmezí 30–37 °C. Růst je inhibován při uchovávání mléka při chladírenských teplotách. Do mléka se dostávají přímo z mléčné žlázy (streptokoky, stafylokoky) nebo z vnějších zdrojů (salmonely, *E. coli*, *Campylobacter*). Nejzávažnější patogeny jsou *Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis*, *Brucella abortus*, *B. melitensis* (LUKÁŠOVÁ, 1999; BUŇKA, 2013).

1.2 Mikrobiologie tepelně ošetřeného mléka

Ke kontaminaci mléka po pasterizaci přispívají dva hlavní zdroje, zbytky mléka ze zařízení a aerosoly ve vzduchu. Kontaminace představuje vážnou hrozbu pro udržení a prodloužení skladovatelnosti mléčných výrobků. Zbytky mléka, zachované po neúčinných čistících postupech, umožňují bakteriím množit se a kontaminovat následný výrobní proces. Mléko v neuzavřených nádobách, může být kontaminováno mikrobiálními aerosoly ze vzduchu (MARTH a STEELE, 2001).

1.2.1 Psychrotrofní bakterie

Nejčastějším zdrojem psychrotrofů je plnicí zařízení, které kontaminuje balené mléko. Další možná kontaminace je vzduchem. Zde dochází ke kontaktu vzduchu s mlékem, v hermeticky neuzavřených nádobách. Ve vzduchu se sice nachází nízká hladina psychrotrofních bakterií, ale pro zkažení produktu stačí pouze jedna životaschopná buňka. Pro prodloužení trvanlivosti pasterizovaného mléka se využívá aseptické balení, které eliminuje tuto kontaminaci (LUKÁŠOVÁ, 1999; DOYLE a BEUCHAT, 2007).

1.2.2 Koliformní bakterie

Koliformní bakterie nepřežívají pasterační zákroky. Výskyt je způsoben sekundární postpasterační kontaminací (BUŇKA, 2013).

1.2.3 Termorezistentní a sporulující bakterie

Termorezistentní bakterie přežívají pasterizační teploty mléka. Zdrojem těchto mikroorganismů bývá dojící zařízení. Spory termofilních a sporulujících bakterií jsou odolné vůči vysokým teplotám. Řadí se sem i zástupci některých grampozitivních rodů *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Enterococcus* nebo kmeny koryneformních bakterií.

Aerobní sporulující bakterie, které mohou způsobovat zkažení mléka jsou především druhy rodu *Bacillus* (*B. cereus*, *B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. licheniformis*).

Anaerobní sporulující bakterie, které jsou schopny proměňovat kyselinu pyrohroznovou na máselnou, jsou druhy rodu *Clostridium* (*C. tyrobutyricum*, *C. butyricum*, *C. sporogenes*) (BUŇKA, 2013).

1.2.4 Kvasinky a plísňe

Kvasinky izolované z mléčných výrobků, které způsobují znehodnocení, byly identifikovány jako *Kluyveromyces marxianus*, *Zygosaccharomyces bailli*, *Candida spp.*, *Pichia spp.* Nejběžnějším mléčným výrobkem, který nejčastěji podléhá znehodnocení kvasinkami, je jogurt. Čerstvě fermentovaná jogurtová hmota obvykle neobsahuje kvasinky, protože všechny přísady jsou před fermentací tepelně ošetřeny (vysoká pasterizace). Kvasinky jsou organismy citlivé na teplo, které jsou touto úpravou zničeny. Kvasinky v jogurtu mohou pocházet buď z kontaminovaných přísad, jako jsou ovoce a ořechy, přidaných do fermentovaného jogurtu bezprostředně před zabalením, nebo z nehygienického vybavení (LACROIX, 2011).

1.3 Vady způsobené kontaminací mikroorganismy

1.3.1 Psychrotrofní bakterie

Proteázy

Hořkost je nejčastější vada pasterovaného mléka v důsledku kontaminace psychrotrofními bakteriemi. Mezi významné producenty proteáz patří bakterie rodu *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Proteus*, *Bacillus* a *Alcaligenes*. Bylo zjištěno, že tyto proteázy přednostně hydrolyzují kasein. Degradace kaseinu vede k uvolnění hořkých peptidů. Teplota pro optimální produkci proteázy je nižší než teplota pro optimální rychlost růstu. Produkuje se při teplotách 5 °C. Některé mikroorganismy štěpí celou bílkovinu, jiné odbourávají nižší bílkovinné složky. Mikrobiální proteázy štěpí všechny mléčné bílkoviny s různou intenzitou. Mléko ošetřeno UHT je na defekty vyvolané proteázou citlivější než syrové mléko. Pravděpodobně je to způsobeno důsledkem změn ve struktuře kaseinových micel nebo inaktivací inhibitorů proteáz. Na kvalitu sýrů je vliv proteáz minimální, protože kombinace nízkého pH a nízké skladovací teploty inhibuje jejich aktivitu (LUKÁŠOVÁ, 1999; DOYLE a BEUCHAT, 2007).

Lipázy

Mezi nejčastější vady způsobené lipázou je žluklá, mýdlová nebo ovocná pachůť mléčných výrobků. Mléko obsahuje mléčnou lipázu, která v případě narušení buněčné membrány působí na tuk. Výsledkem tohoto procesu je žluknutí mléka. Producenti lipázy jsou zástupci rodu *Pseudomonas*, *Flavobacter*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium* dále plísně a kvasinky. Optimální teplota produkce lipázy je stejně jako u proteázy nižší než optimální teplota růstu. Největší aktivita je při teplotě 20 °C. Některé bakterie produkují fosfolipázu C (odbourává fosfolipidy v membráně tukových kuliček) a tím zvyšují aktivitu mléčné lipázy. Lipázou jsou obvykle nejvíce ovlivněny produkty s dlouhou dobou skladování nebo vysokou teplotou skladování (UHT mléko, některé sýry, máslo a sušené plnotučné mléko). Může dojít k rekontaminaci pasterovaného mléka nebo smetany a růstu bakterií během skladování. Defekty vyvolané lipázou v UHT mléku nejsou tak časté, jako defekty způsobené mikrobiální proteázou. Oproti tomu sýry jsou náchylnější k defektům způsobených lipázou (LUKÁŠOVÁ, 1999; DOYLE a BEUCHAT, 2007).

1.3.2 Bakterie mléčného kvašení

V tekutých mléčných výrobcích je nejběžnější fermentační vadou kysání způsobené růstem bakterií mléčného kvašení. Už malé množství kyseliny octové a propionové způsobuje nepříjemný kyselý zápach a chuť zkaženého mléka (DOYLE a BEUCHAT, 2007).

Některé kmeny těchto bakterií způsobují v sýru sypký vzhled. Plynové bublinky v sýru Cheddar a Mozzarella jsou nejčastěji spojeny s růstem laktobacilů. Laktobacily také způsobují změklost strukturu. Sýr s takovou strukturou nelze nakrájet na plátky ani nastrohat. Některé druhy sýrů občas vykazují růžové zbarvení. Tato vada je spojena s kmeny *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Ovocná chuť v sýru Cheddar je způsobena růstem bakterií mléčného kvašení obvykle rodem *Lactococcus* (DOYLE a BEUCHAT, 2007).

1.3.3 Koliformní bakterie

Pokud jsou přítomny koliformní bakterie, které rostou během procesu výroby sýra nebo krátce poté způsobují tvorbu plynů. K této vadě dochází při špatné fermentaci. Nebo když je mléko hodně kontaminované. Nejcitlivější druhy sýrů na růst koliformních bakterií jsou sýry, u nichž dochází k promývání sýřeniny nebo měkké sýry zrající s plísní (Camembert). Tyto sýry mají během zrání zvýšené pH, z toho důvodu jsou velmi vhodné k růstu bakterií (DOYLE a BEUCHAT, 2007).

1.3.4 Termorezistentní a sporulující bakterie

Sporulující bakterie, které kazí mléčné výrobky, obvykle pocházejí ze syrového mléka. Neaseptické balení chlazeného mléka může zapříčinit růst bakterií rodu *Bacillus* (DOYLE a BEUCHAT, 2007).

V tekutých mléčných výrobcích je vada popisovaná jako sladká sraženina, protože se nejprve jeví jako koagulace bez vzniku důležitých kyselin nebo bez vzniku zápachu. Způsobuje ji především psychrotrofní *B. cereus*. V asepticky baleném tepelně ošetřeném mléce je nejčastějším kontaminantem psychrotrofní *Bacillus circulans* (DOYLE a BEUCHAT, 2007).

Vady způsobené růstem spor byly popsány jako sladká koagulace, která je podobná na koagulace způsobené psychrotrofním *B. cereus* v mléce. Nafouknutí nebo prasknutí plechovky u kondenzovaného mléka může být způsobeno růstem klostridií. Neslazené kondenzované mléko musí být sterilizováno, zatímco slazené kondenzované mléko má dostatečně nízkou vodní aktivitu, aby došlo k zabránění klíčení spor (DOYLE a BEUCHAT, 2007).

Hlavní vada sýra způsobená bakteriemi vytvářející spory je tvorba plynů v důsledku růstu klostridií (*Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium sporogenes* a *Clostridium butyricum*). K této vadě dochází po několika týdenním zrání sýrů. Tato vada nejčastěji postihuje sýry jako je Ementál, Gouda a Eidam. Je to způsobeno jejich relativně nízkým pH, nízkou vlhkostí a malým množstvím soli. Bakteriociny produkované bakteriemi mléčného kvašení mohou poskytovat vysoce specifickou inhibici klíčení anaerobních spor (DOYLE a BEUCHAT, 2007).

2 CHARAKTERISTIKA ČISTÝCH MLÉKÁRENSKÝCH KULTUR

Pro mlékárenský průmysl a jeho rozvoj měl objev čistých mlékařských kultur (ČMK) převratný význam. Účinků mikroflóry syrového mléka, která mimo jiné obsahuje i bakterie mléčného kvašení, se využívalo již před vznikem prvních mlékárenských závodů a to při domácí a později při průmyslové výrobě kyselých i sladkých sýrů, kysaných mlék a másla. Výrobky získané tímto způsobem měly krátkou trvanlivost a odlišnou jakost. Používáním ČMK byla odstraněna závislost jakosti mléčných výrobků na příznivém nebo nepříznivém složení přírodních mikroorganismů v mléce. Tím došlo k zabránění kolísání jakosti výrobků, které bylo zapříčiněno složením přírodních mikroorganismů. Používání ČMK pak vytvořilo nové podmínky pro pasteraci mléka, a tím i zdravotní nezávadnost mléčných výrobků. Vznikly nové inovace pro výrobu speciálních sýrů i mimo oblast jejich původní domoviny s typickou mikroflórou. Zakysané mléčné nápoje se rozšířily i mimo území jejich lidové výroby. Používání čistých mlékařských kultur se rozšířilo do všech zemí s mlékárenským průmyslem a zůstalo také v našem mlékařství (TEPLÝ a kol., 1984).

V roce 1886 kodaňský profesor Storch izoloval a sestavil smetanový zákys k výrobě másla. Mezi průkopníky mlékařské mikrobiologie v první polovině 20. století se řadí Švýcar Freudenreich, Dán Orla-Jensen a u nás Vladimír Pavlák a Otakar Laxa. V posledních letech 19. století se u nás začaly používat dánské čisté mlékařské kultury, později i některé jiné zahraniční kultury. Zároveň Dr. Pavlák izoloval 85 kmenů bakterií, ze kterých sestavoval právě čisté kultury. Později byly získány vlastní originální kultury, vypěstované z domácích zdrojů a dodávané mlékárnám (TEPLÝ a kol., 1984; ŽIŽKA a MARTINKOVÁ, 1980).

ČMK jsou přesně určené, nepatogenní a netoxické kultury bakterií mléčného kysání s produkcí kyseliny mléčné. V mlékárenském průmyslu se používají čisté mlékařské kultury a směsné kultury. Čisté mlékařské kultury obsahují žádoucí a známé druhy MO. Směsné kultury jsou složeny z několika druhů MO zpravidla různých druhů bakterií mléčného kvašení nebo jiných přínosných bakterií, kvasinek nebo plísní. Jednodruhové čisté mlékařské kultury mohou být složeny z více různých kmenů (TEPLÝ a kol., 1984; LUKÁŠOVÁ a kol., 2001).

2.1 Význam ČMK

Kultury se používají při výrobě jogurtu, kefiru a dalších mléčných výrobků, dále pak při výrobě másla a sýrů. Kultury se přidávají k produktu, kde se nechají růst za kontrolovaných podmínek. V průběhu fermentace bakterie produkují látky, které dávají produktu jeho charakteristické vlastnosti, jako je kyselost, chuť, aroma a konzistence. Při fermentaci laktózy na kyselinu mléčnou dochází k poklesu pH. Nižší pH má konzervační účinek na produkt, přičemž se současně zlepšuje nutriční hodnota a stravitelnost (BYLUND, 1995)

2.1.1 Technologický význam

Čisté mlékařské kultury jsou nedílnou součástí mlékárenského průmyslu, bez nich nevyrobíme žádné standardní mléčné výrobky. Při pasterizaci mléka se zničí patogenní zárodky, ale také mikroorganismy, které jsou technologicky významné. Proto se do pasterovaného mléka přidávají technologicky prospěšné mikroorganismy, tím dojde k zajištění potřebných biochemických procesů, nutných k dosažení specifických vlastností jednotlivých druhů výrobků. Tyto biochemické procesy zajišťují koagulaci mléčné bílkoviny působením kyseliny mléčné, dále pak tvorbu ochranných látek a chemické změny základních složek mléka, díky kterým vzniká charakteristická vůně, chuť a konzistence výrobků (TEPLÝ a kol., 1984; ŽIŽKA a MARTINKOVÁ, 1980).

2.1.2 Zdravotní význam

Čisté mlékařské kultury zvyšují výživové hodnoty výrobků, kde ovlivňují přeměnu bílkovin mléka na stravitelnější formy, jsou to takzvané dieteticko-léčebné účinky, které mají vliv na metabolismus člověka. ČMK obsahující bakterie mléčného kvašení produkují kyselinu mléčnou, která potlačuje rozvoj hnilobné mikroflóry. Z tohoto hlediska jsou mimořádně významné MO se schopností usadit se v lidském střevním traktu, obzvláště pak v tlustém střevě. Některé druhy kvasinek zkvašující laktózu a kmeny některých mléčných kultur produkující antibiotika, mají podobný účinek. Prokázáním antimikrobiální činnosti došlo k rozšíření léčebných možností při využívání zakysaných mléčných výrobků ušlechtilými bakteriemi mléčného kvašení. Zřetelný je pozitivní vliv střevních laktobacilů na zdraví člověka. Nicméně je zapotřebí mít k dispozici příslušné kultury v dostatečném množství (TEPLÝ a kol., 1984; PAVELKA, 1996).

2.2 Rozdělení ČMK

Podle druhové a kmenové skladby:

- jednokmenné (Single Strain Starters) obsahují jeden kmen určitého druhu
- vícekmenné (Multiple Strain Starters) obsahují známé kmeny jednoho druhu
- směsné vícekmenné (Multiple-Mixed-Strain Starters) obsahují různě definované kmeny různých druhů
- tradiční kultury (Traditional Starters or Raw Mixed Strain Starters) obsahují druhy a kmeny částečně nebo zcela neznámé

Podle mikroorganismů obsažených v ČMK:

- bakteriální – dělí se podle optimální teploty růstu na:
 - mezofilní 20–30 °C
 - termofilní 40–45 °C
- kvasinkové
- plísňové
- smíšené (kvasinky i bakterie)

Druhy ČMK:

Výroba kysaných mléčných výrobků:

- smetanová
- jogurtová
- keřirová
- acidofilní

Výroba sýrů a tvarohů:

- smetanová
- plísňová
- propionová
- mazová

- termofilní
- kvasinková
- kultury pro sýry s nízkodohřívanou sýřeninou
- probiotické kultury

2.3 Funkce ČMK

Hlavní funkce mikroorganismů obsažených v ČMK

- ochranná funkce založená na inhibici růstu nežádoucí mikroflóry
- probiotická funkce s prospěšným působením na organismus člověka
- zajištění katabolických procesů mikrobiální degradace sacharidů, bílkovin, lipidů a citrátů (PLOCKOVÁ, 2012)

2.3.1 Kysání

Kysací funkce ČMK závisí na tvorbě kyseliny mléčné, produkované bakteriemi v mléce a vznik kyselého prostředí. Pro kysání mléčných výrobků se používají mezofilní streptokoky mléčného kvašení nebo se přidávají heterofermentativní streptokoky mléčného kvašení (TEPLÝ a kol., 1984).

2.3.2 Zrání

Zrání závisí na působení ČMK způsobující změny koloidního stavu a tvorbě žádoucí struktury. Dochází při něm ke změně základních složek mléka, tj. mléčný cukr, bílkoviny a tuk. Bílkoviny se pomocí enzymů rozkládají na peptony, dále pak na peptidy a aminokyseliny, popřípadě pak na nežádoucí amoniak. V mléčných výrobcích zrání především ovlivňuje jejich vůni, konzistenci, vzhled a chuť (TEPLÝ a kol., 1984; FORMAN a kol., 1996).

2.4 Použití ČMK

2.4.1 ČMK pro výrobu kysaných mléčných výrobků

2.4.1.1 Smetanová kultura

Smetanová kultura se využívá v širokém spektru mlékárenské výroby k výrobě celého sortimentu kysaných mléčných výrobků (másla, nápojů, sýrů, tvarohů). Je to směsná mezofilní kultura, která se skládá z různých diplokoků a streptokoků mléčného kvašení. Její charakteristickou vůni a chuť tvoří diacetyl a kyselina mléčná, ale i malé množství kyseliny propionové, octové a dalších složek (TEPLÝ a kol., 1984).

Smetanová kultura obsahuje druhy:

- *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*
- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*
- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*

Charakteristické znaky kultury

- titrační kyselost 40–45 SH
- jemná, ale hustá konzistence
- syrovátka se nesmí viditelně oddělovat
- tuková vrstvička je při kultivaci ostře oddělena od koagulovaného mléka
- celistvý smetanový film na stěně nádoby, stálý jednu minutu (TEPLÝ a kol., 1984).

Smetanová kultura se mnohdy kombinuje s jinými kulturami, např. s bifidogenní (*Bifidobacterium bifidum*), acidofilní (*Lactobacillus acidophilus*) nebo pediokokovou (*Pediococcus acidilactici*).

Při výrobě čerstvých aromatických produktů (kysaná smetana, kysané mléko, kysané podmásli, čerstvé sýry) u kterých není podmínkou stálost aroma, se používají kyselinotvorné kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* i aromatvorné kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*. Tyto kultury se dají využít u sýrů holandského typu, které jsou charakteristické mírnou tvorbou ok.

Kultury kyselinotvorných i aromatvorných laktokoků a leukonostoků jsou vhodné pro výrobky (tvarohy, čerstvé sýry a máslo ze zakysané smetany), které se nebalí do vzduchotěsných obalů (GÖRNER a VALÍK, 2004).

2.4.1.2 Jogurtová kultura

Je to směsná termofilní kultura, používá se na výrobu jogurtových mléčných nápojů, různých typů jogurtů a sýru ementálského typu. Mikroorganismy obsažené v kultuře mají mezi sebou symbiotický vztah, proto se vyznačují rychlou tvorbou kyseliny mléčné. Jogurtová kultura má významnou vlastnost tvořit acetaldehyd, mléčnou kyselinu a tvorbu antibiotických látek, které ničí některé patogenní mikroorganismy (GÖRNER a VALÍK, 2004; MAŠEK a kol, 1960).

Jogurtová kultura obsahuje druhy:

- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
- *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*

Jogurtové výrobky patří k nejrozšířenějším výrobkům mlékárenského průmyslu po celém světě. Aby se dosáhlo zlepšení vlastností jogurtů, mohou se do čisté jogurtové kultury přidávat druhy, které zvyšují dieteticko-léčebné účinky nebo druhy zvětšující odolnost vůči inhibičním látkám (FORMAN a kol., 1996).

Charakteristické znaky kultury

- titrační kyselost 40–50 SH
- konzistence je hustá a hrubší
- kyselá vůně, chuť ovocně kyselá bez pachutí
- film neulpívá na nádobách, ale vytváří stékající pramínky
- dobře se snáší s cukrem
- snadno se udržuje
- neuvolňuje syrovátku

Kombinací odlišných kmenů jogurtové kultury lze dosáhnout různých typů jogurtu. Jednotlivé kmeny ve společné kultivaci mají zvýšenou aktivitu a vytváří stabilnější konzistenci výrobků (MAŠEK a kol, 1960; TEPLÝ a kol).

2.4.1.3 Kefírová kultura

Kefírová kultura patří, mezi mezofilní směsné kultury obsahující bakterie i kvasinky. Používá se na výrobu kefírového mléka a kefiru, který je ceněn pro dieteticko-léčivé účinky (FORMAN a kol., 1996).

Kefírová kultura obsahuje druhy:

- *Lactobacillus delbrueckii*
- *Lactococcus lactis*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Kluyveromyces fragilis*
- *Candida kefir*

Vyrábí se z kefírových zrn nebo se sestavuje z čistých mlékařských kultur. Kefírovou kulturu lze obohatit o další kmeny ČMK, aby se docílilo zlepšení chuti a vlastností kefiru a kefírového mléka (GÖRNER a VALÍK, 2004; ŽIŽKA a MARTINKOVÁ, 1980).

Charakteristické znaky kultury

- pěnivá konzistence
- chuť je kyselejší se slabě kvasničnou příchutí
- titrační kyselost 45–60 SH
- na nádobě vytváří hrubší nestejněměrný film

V mikroflóře kultury převažují streptokoky a diplokoky (ŽIŽKA a MARTINKOVÁ, 1980).

2.4.1.4 Acidofilní kultura

Řadí se mezi termofilní jednodruhové kultury, která obsahuje kmen *Lactobacillus acidophilus*. Díky výrazným organoleptickým vlastnostem se využívá pro výrobu acidofilního mléka, acidofilního podmáslí, kysaných nápojů, tvarohů a tvarohových krémů. Acidofilní kultura se obvykle používá v kombinaci s dalšími kulturami (GAJDŮŠEK, 1998; FORMAN a kol., 1996; GÖRNER a VALÍK, 2004).

Charakteristické znaky kultury

- titrační kyselost 60–90 SH
- ostrá kyselá chuť
- tvorba porcelánovité sraženiny

Kultura by měla obsahovat nejméně 100 milionů živých mikroorganismů na 1 ml. Životnost kultury ovlivňuje vysoká kyselost přes 100 SH. Používá se pro léčebné účely i při výrobě krmení pro hospodářská zvířata (MAŠEK a kol., 1960).

2.4.2 ČMK pro výrobu sýrů a tvarohů

2.4.2.1 Plísňová kultura

Tato kultura se používá pro výrobu plísňových sýrů. Pro výrobu sýrů je nutné vybírat jen kmeny, které neprodukují toxiny (PLOCKOVÁ, 2012).

Plísňová kultura obsahuje druhy:

- *Penicillium camemberti*

nebo

- *Penicillium roqueforti*

Tyto druhy rozkládají mléčný tuk za vzniku methylketonů a volných mastných kyselin. Tím vzniká výrazná chuť a vůně typická pro sýry typu Hermelín nebo Gorgonzola. Pro výrobu sýrů Gorgonzola nebo Niva, kde je plíseň v těstě, se využívá tzv. modrá plíseň *Penicillium roqueforti*. Pro výrobu sýrů Camembert nebo Hermelín, kde se plíseň nachází na povrchu, se využívá tzv. bílá plíseň *Penicillium camemberti Thom* (PLOCKOVÁ, 2012).

2.4.2.2 Propionová kultura

Propionové kultury se přidávají do sýru hlavně kvůli zvýšení organoleptických vlastností (GÖRNER a VALÍK, 2004).

Využívá se pro výrobu sýru s vysokodohřivanou sýřeninou a s tvorbou ok v těstě (JANŠTOVÁ, 2012).

Propionová kultura obsahuje druhy:

- *Propionibacterium freudenreichii*
- *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*

Tyto bakterie při rozkladu laktózy a laktátu produkují propionovou a octovou kyselinu a oxid uhličitý. Vzniklý oxid uhličitý pak vytváří v těstě velká oka, která jsou typická pro sýry ementálského typu (PLOCKOVÁ, 2012).

2.4.2.3 Mazová kultura

Tyto kultury se využívají při zrání polotvrdých a měkkých sýrů s mazem na povrchu. Typickým produktem je Romadur. Kvasinky nejdříve neutralizují přítomnou kyselinu mléčnou. Tím vytváří vhodné podmínky pro růst *Brevibacterium linens*. *Brevibacterium linens* začne produkovat žlutooranžové karotenoidní pigmenty, které vytvářejí charakteristické zbarvení povrchu sýrů. Za vznik typicky výrazné chutě a vůně sýrů je zodpovědná zejména kyselina máselná a kapronová (PLOCKOVÁ, 2012).

Mazová kultura obsahuje druhy:

- *Brevibacterium linens*
- *Micrococcus roseus*

Může obsahovat i kvasinky:

- *Torulopsis candida*,
- *Kluyveromyces lactis*
- *Candida utilis*

2.4.2.4 Termofilní kultura

Optimální kultivační teplota kultury je 40–45 °C. Kultura se využívá při výrobě sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou (při teplotě 51–55 °C) jako je ementál, parmazán a při výrobě měkkých sýrů a tvarohu (JANŠTOVÁ, 2012).

Termofilní kultura obsahuje druhy:

- *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*
- *Lactobacillus helveticus*
- *Lactobacillus casei*.

2.4.2.5 Kvasinková kultura

Využívá se pro výrobu sýrů typu roquefort a jako součást mazové kultury.

Pro výrobu sýrů typu roquefort se využívají kvasinky:

- *Kluyveromyces lactis*
- *Torulopsis candida*

Tyto kvasinky mají pozitivní vliv na vznik aromatických látek (volné těkavé mastné kyseliny a etanol) (JANŠTOVÁ, 2012).

2.4.2.6 Kultury pro sýry s nízkodohřívanou sýřeninou**Pro sýry holandského typu např. eidam, gouda se využívají druhy:**

- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
- *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*
- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus delbruecki* subsp. *lactis*.

Čedarová kultura

Pro sýry čedarového typu. Má velkou odolnost vůči soli (6,5 %), velkou termorezistenci (60 °C 30 minut) a vyšší optimální teplotou (37 °C) (JANŠTOVÁ, 2012).

Čedarová kultura obsahuje druhy:

- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
- *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
- *Lactobacillus helveticus* pro urychlení proteolýzy (JANŠTOVÁ, 2012)

2.4.2.7 Probiotická kultura

Jsou to bakterie rodu *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* a *Enterococcus* (JANŠTOVÁ, 2012).

Probiotická kultura obsahuje druhy:

- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus rhamnosus*
- *Lactobacillus reuteri*
- *Lactobacillus lactis*

Mléčné výrobky, které obsahují probiotické kultury, mají pozitivní účinek na organismus. Způsobují rovnováhu ve střevní mikroflóře, zlepšují trávení laktózy, zlepšují metabolismus a ovlivňují hladinu cholesterolu. Aby měly tyto pozitivní účinky, musí být minimální obsah bakterií ve výrobcích 10^6 KTJ v 1 ml (JANŠTOVÁ, 2012).

3 VYUŽITÍ OCHRANNÝCH KULTUR A JEJICH FUNKCE

Ochranné kultury jsou složeny z bakterií, které mají schopnost inhibovat růst patogenních organismů nebo jiných mikroorganismů způsobující zkažení potravin. Bakterie musí mít status GRAS (Generally Recognized as Safe). GRAS je označení pro látky, o nichž není známo, že představují zdravotní riziko, jsou tedy obecně uznávané jako bezpečné.

Ochranná kultura má schopnost oddálit počátek další kontaminace a tím prodloužit trvanlivost produktu (YOUNG a O'SULLIVAN, 2011).

Faktory ovlivňující účinnost ochranné kultury:

- počáteční úroveň kontaminace
- povaha kontaminujících druhů
- doba kvašení
- skladovací podmínky (teplota)

Pokud je počáteční kontaminace příliš vysoká, ochranná kultura sama o sobě není schopna již zkažený produkt zachránit (YOUNG a O'SULLIVAN, 2011).

Jako ochranné kultury je používáno mnoho druhů mikroorganismů. Bakterie mléčného kvašení (laktobacily, streptokoky, enterokoky, laktokoky), bifidobakterie, *E. coli*, druhy rodu *Bacillus*, kvasinky (*Saccharomyces*) a plísně (*Aspergillus*). Avšak, nejběžnější ochranné kultury patří do rodů *Lactobacillus* (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri*) a *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*).

Ochranné kultury se využívají zejména v mlékárenském a masném průmyslu (DAVIDSON a kol., 2015).

Vlastnosti, které musí ochranné kultury splňovat:

- schopnost růst v potravě
- schopnost inhibovat nebo omezit růst nežádoucí mikroflóry
- nesmí vytvářet nežádoucí změny produktu
- nesmí produkovat látky, které by mohly být pro člověka škodlivé

Ochranné kultury se mohou skládat buď z jednoho kmene nebo ze směsi kmenů stejných nebo odlišných rodů. Podle Suomalainen a Mäyrä-Mäkinen (1999) a Schwenninger a Meile (2004) ochranné kultury, skládající se ze směsi bakterií mléčného kvašení a bakterií kyseliny propionové, mají vysoké antagonistické vlastnosti proti kvasinkám a plísním v mléčných výrobcích. Když byly použity samostatně, vykazovaly jen slabý inhibiční účinek (DELVES-BROUGHTON, 2012)

Zjistilo se, že ochranné kultury skládající se z vybraných bakterií *Propionibacterium freudenreichii* subsp *shermanii*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Propionibacterium freudenreichii* subsp *shermanii* a *Lactobacillus paracasei* úspěšně prodlužují trvanlivost jogurtů proti kvasinkám a plísním o 14 až 28 dní. Tedy jejich hlavní funkce je kontrola růstu kvasinek, plísní a heterofermentativních mléčných bakterií. Tyto kultury se mohou používat jako startovací kultury, které neovlivňují senzorycké vlastnosti mléčných výrobků.

Ochranná kultura vyrobená z *Lactobacillus plantarum* je účinná proti vzniku Listerií na zrajících sýrech. Aplikuje se přímo na povrch sýra. Neměla by být aplikována jako dezinfekce proti mikroorganismům, ale jako účinná prevence k zabránění kontaminaci čerstvých výrobků (YOUNG a O'SULLIVAN, 2011).

3.1 Mechanismy antagonismu

Antagonismus se týká inhibice jiných nežádoucích nebo patogenních mikroorganismů. Ochranné kultury mohou využívat svůj inhibiční účinek proti jiným mikroorganismům v důsledku konkurence o živiny nebo produkci metabolitů (DAVIDSON a kol., 2015; HOLZAPFEL a kol., 1994).

Produkce jednoho nebo více antimikrobiálně aktivních metabolitů je součástí komplexního mechanismu (HOLZAPFEL a kol., 1994).

Metabolity ochranných kultur

- Bakteriociny
- Organické kyseliny
 - Kyselina mléčná
 - Kyselina octová
- Peroxid vodíku
- Enzymy
- Metabolity s malou molekulovou hmotností

Vlastnosti ochranných kultur jako je rychlost růstu a schopnost potlačit nebo zastavit růst nežádoucích mikroorganismů jsou určovány jejich adaptací na substrát a množstvím vnějších a vnitřních faktorů (redoxní potenciál, aktivita vody, pH a teplota). Při použití většího počtu buněk kultury jako inokula zajistíme lepší konkurenceschopnost startovací kultury během fermentace (HOLZAPFEL a kol., 1994).

3.2 Metabolity ochranných kultur

3.2.1 Bakteriociny

Jsou to antibakteriální peptidy a proteiny syntetizované bakteriemi, které inhibují nebo zabíjejí jiné příbuzné a nepříbuzné mikroorganismy (SILVA a RIBEIRO, 2018).

Inhibiční schopnost bakteriocinů:

- úzké spektrum využití – inhibují bakterie, které jsou taxonomicky příbuzné
- široké spektrum využití – inhibují širokou škálu bakterií

Bakteriociny mohou být gramnegativní i grampozitivní (SILVA a RIBEIRO, 2018).

Velký zájem vzbudilo používání bakteriocinů jako bezpečný, přírodní, potravinářský konzervant, který je díky svým vlastnostem snadno stravitelný v lidském gastrointestinálním traktu. Možnost využívat bakteriociny ke konzervování potravin byla uznaná po celém světě. Bakteriociny splňují přísné požadavky zákazníků na kvalitní a bezpečná jídla bez přidaných chemických konzervačních látek. Bohužel vysoká cena může používání bakteriocinů do jisté míry omezit (SILVA a RIBEIRO, 2018; KAREEN a RAZAVI, 2019).

Příklady patogenních bakterií, proti kterým působí bakteriociny:

- *Salmonella enteritidis*
- *Eschericia coli*
- *Listeria monocytogenes*
- *Clostridium perfringens*
- *Bacillus cereus*

Dále zabraňují různým vadám potravin. Zvyšují trvanlivost potravinářských produktů a lze je použít pro výrobky, které nelze tepelně ošetřit (KAREEN a RAZAVI, 2019; BALI a kol., 2016)

3.2.1.1 Aplikace

Bakteriociny se dají používat buď samostatně, nebo v kombinaci s jinými metodami konzervace. V závislosti na použitých surovinách se může inaktivace potravinářských patogenů výrazně lišit (SILVA a RIBEIRO, 2018).

I přesto, že je prokázáný inhibiční účinek bakteriocinů, musí být aplikace bakteriocinů v potravinách testována, aby se potvrdila jejich účinnost. Bylo provedeno mnoho studií, které ukázaly široké možnosti aplikace bakteriocinů nebo kmenů produkujících bakteriocin do potravin, jako je fermentovaná zelenina, maso, alkoholické nápoje, mléčné výrobky, ryby nebo saláty (SILVA a RIBEIRO, 2018).

Bakteriociny se většinou přidávají do potravinových surovin a snadno se rozkládají, což způsobuje ztrátu antibakteriální aktivity. Jako alternativní metoda se považuje začlenění bakteriocinů do potravinových obalových filmů nebo povlaků, které zlepšují jejich aktivitu a stabilitu v potravinové výrobě. V antimikrobiálních obalových fóliích je možné využití jejich vlastností pro kontrolu patogenních bakterií přenášených potravinami, jako jsou *L. monocytogenes*.

L. monocytogenes je hlavním problémem ve výrobě fermentovaných výrobků. Ke kontaminaci může dojít v pozdějších fázích zpracování mléčných výrobků. Sýry se převážně konzervují při chladicích teplotách, které umožňují přežití a růst psychrotrofních bakterií jako jsou listerie. Z toho důvodu může dojít ke kontaminaci (SILVA a RIBEIRO, 2018).

Kritéria bakteriocinu pro aplikaci na potraviny

- produkující kmeny by měly být potravinářské jakosti
- široké spektrum inhibice
- vysoká specifická aktivita
- bez zdravotního rizika
- příznivé účinky (např. zlepšovat bezpečnost, kvalitu a chuť potravin)
- optimální rozpustnost
- stabilita pro konkrétní potravinu

Základní kroky aplikace bakteriocinu pro konzervaci potravin

- inokulace potravin kmenem produkujícím bakteriocin
- přidání čištěného nebo polochištěného bakteriocinu

Používání čištěných bakteriocinů zůstává pro mlékárenský průmysl značně omezený. Aplikace bakteriocinu neposkytuje stoprocentní ochranu proti mikrobiální kontaminaci mléčných výrobků. Komerčně dostupné jsou pouze nisin a pediocin PA 1, jiné bakteriociny nebyly pro průmyslové použití navrženy (SILVA a RIBEIRO, 2018).

3.2.1.2 Bakteriociny produkováné bakteriemi mléčného kvašení

V potravinářském průmyslu se dlouho používají bakterie mléčného kvašení k přeměně laktózy na kyselinu mléčnou. Dříve byly využívány při konzervování potravin a krmiv. Jejich produkce bakteriocinů je pro mlékárenský průmysl nadmíru zajímavá (SILVA a RIBEIRO, 2018; CASAUS, 1997).

Tyto bakteriociny se běžně používají pro výrobu fermentovaných potravin. Jsou označeny jako GRAS. Zaměřují se hlavně na inhibici patogenní mikroflóry a prodloužení doby použitelnosti výrobků. Je izolováno velké množství bakteriocinů produkováných bakteriemi mléčného kvašení se širokým nebo úzkým spektrem účinku, které byly zavedeny jako přírodní konzervační látky. Výskyt grampozitivních a gramnegativních bakteriocinů je stejně častý a rozmanitý (SILVA a RIBEIRO, 2018; BALI a kol., 2016).

Bakterie mléčného kvašení, které produkují bakteriociny:

- *Lactococcus*
- *Streptococcus*
- *Pediococcus*
- *Lactobacillus*

Bakteriociny produkované bakteriemi mléčného kvašení jsou odolné vůči vysokým teplotám, mnohdy jsou aktivní v celé škále hodnot pH. Jsou citlivé na zažívací proteázy (pankreatinový komplex, trypsin a chymotrypsin) a nemají negativní dopad na střevní mikroflóru (SILVA a RIBEIRO, 2018; BALI a kol., 2016).

3.2.2 Organické kyseliny

Kyselina mléčná je fermentační produkt bakterií mléčného kvašení. Je schopná snižovat pH až na úroveň, která usmrcuje nebo potlačuje růst hnilobné mikroflóry, patogenních a toxinogenních bakterií. Rychlé snížení pH pod 5,3 během fermentace stačí k inhibici salmonel a *Staphylococcus aureus*. Kyselina octová má vyšší disociační konstantu, proto je její inhibice silnější než inhibice kyseliny mléčné. Kyselina octová je přítomna v malých koncentracích v důsledku metabolismu bakterií mléčného kvašení (HOLZAPFEL a kol., 1994).

3.2.3 Peroxid vodíku

Peroxid vodíku je produkován řadou bakterií mléčného kvašení v přítomnosti kyslíku společně s laktátem, pyruvátém a enzymy flavinu. Nežádoucí bakterie *Pseudomonas* spp. a *Staphylococcus aureus* jsou 2 až 10 krát citlivější na H₂O₂, než většina bakterií mléčného kvašení. Obdobně jako u jiných metabolických produktů je tolerovatelné množství H₂O₂ závislé na typu produktu. Špatně zvolená koncentrace H₂O₂ může mít nepříznivý vliv pro senzoričnou kvalitu produktu (HOLZAPFEL a kol., 1994).

3.2.4 Enzymy

Enzymy produkované potravinářskými bakteriemi a hlavně bakteriemi mléčného kvašení mají jen malý přímý dopad na konzervaci potravin. Jejich lipolytická aktivita, důležitá při zrání sýra, může ovlivnit produkci mastných kyselin s antimikrobiálními vlastnostmi. Vylučování antibakteriálního enzymu, jako je lysozym, může zlepšit spektrum účinnosti ochranných kultur a může takový kmen učinit vhodnějším pro různé aplikace kultur do mléčných produktů. Lysozym se přidává do sýra, aby se zabránilo pozdějšímu duření v důsledku *Clostridium tyrobutyricum* (HOLZAPFEL a kol., 1994).

3.3 Příklady mikroorganismů využívaných v ochranných kulturách

Bakterie mléčného kvašení

Jsou to obvykle grampozitivní, nesporeující, fakultativní, anaerobní organismy, které jsou odolné vůči kyselinám. Jsou velice rozšířeny. Bakterie mléčného kvašení (kromě enterokoků) jsou uznávané jako bezpečné mikroorganismy, které jsou většinou nepatogenní. Zahrnují homofermentační MO produkující hlavně kyselinu mléčnou. A heterofermentační MO, které kromě kyseliny mléčné, produkují širokou škálu fermentačních produktů, jako je kyselina octová, ethanol, oxid uhličitý a kyselina mravenčí. Některé bakterie mléčného kvašení jsou uznávané jako probiotické a mají tak prokazatelně pozitivní účinky na lidský organismus (MENA a CAMPOS, 2012).

Typické druhy bakterií mléčného kvašení patří do rodů *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* a *Streptococcus*. Mezi další rody patří *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* (MENA a CAMPOS, 2012).

Využívání bakterií mléčného kvašení pro biokonzervaci potravin se praktikuje už od středověku. Existuje široká škála mechanismů, pomocí nichž může jeden mikroorganismus inhibovat růst jiných mikroorganismů. Značná část konzervačního účinku je přisuzována schopnosti vytvářet kyseliny (primárně mléčnou a octovou), což způsobuje snížení pH a antimikrobiální aktivitu nedisociovaných molekul kyselin. Mezi další mechanismy antimikrobiální aktivity se řadí produkce malých inhibičních molekul (peroxid vodíku, diacetyl, reuterin a bakteriocin) a soupeření o prostor a esenciální živiny (LACROIX, 2011).

Nejpoužívanější bakterie využívané jako ochranné kultury patří do rodu *Lactobacillus* (DAVIDSON a kol., 2015).

Rod *Lactobacillus*

Rod *Lactobacillus* zahrnuje 175 uznaných druhů. Jsou rozděleny do tří skupin na základě jejich fermentačních charakteristik:

- A) obligátně homofermentativní
- B) fakultativní heterofermentativní
- C) obligátně heterofermentativní

Mnoho laktobacilů je spojeno s potravinami a krmivy hlavně proto, že přispívají k ochraně díky okyselení, ale také kvůli své schopnosti přispívat ke zlepšení chuti, struktury a nutričním vlastnostem (MENA a CAMPOS, 2012).

Přirozené prostředí laktobacilů se nachází v mléce, mase, ústní dutině a gastrointestinálním traktu lidí a zvířat. Taxonomicky patří rod *Lactobacillus* do kmene *Firmicutes*, třída *Bacilli*, řád *Lactobacillales* a čeleď *Lactobacillaceae*. Jsou náročné na výživu a pro růst vyžadují bohatá média (sacharidy, aminokyseliny, peptidy, estery mastných kyselin, soli a deriváty nukleových kyselin) (MENA a CAMPOS, 2012).

Lactobacillus acidophilus

L. acidophilus jsou grampozitivní tyčinky se zaoblenými konci. Vyskytují se v párech nebo krátkých řetězcích (ROBINSON, 2000).

Nejčastěji se nachází ve střevním traktu lidí a zvířat konzumujících stravu s vysokým obsahem mléka, laktózy nebo dextrinu. *L. acidophilus* je nejčastěji označován jako střevní probiotikum schopné vyvolat příznivé účinky na mikroflóru gastrointestinálního traktu. Mezi další prospěšné účinky se řadí stimulace imunitního systému, antimutagenní a antikarcinogenní aktivita a podpora vstřebávání vitamínů (ROBINSON, 2000).

Lactobacillus plantarum

Jsou grampozitivní, fakultativní, heterofermentativní tyčinky.

Jednou z důležitých vlastností *Lactobacillus plantarum* je antimikrobiální aktivita vůči nežádoucím patogenům. Tyto nežádoucí patogeny jsou inhibovány antimikrobiálními látkami, které *Lactobacillus plantarum* produkuje. Především pak kyselinou mléčnou a bakteriociny (LISOVÁ a kol., 2013).

Tyto bakteriociny mohou zabránit nebo alespoň zpomalit růst patogenů, jako je *Listeria monocytogenes*, čímž se zvýší doba použitelnosti bez ovlivnění fyzikálních a senzorických vlastností konečného produktu (MENA a CAMPOS, 2012).

Lactobacillus reuteri

L. reuteri je přirozenou součástí lidského mléka. Tyto bakterie jsou schopny přeměny glycerolu na silnou, širokospektrální antimikrobiální látku, označovanou jako 3-hydroxypropionaldehyd, která je běžně známá jako reuterin (KUMAR a kol., 2020).

Reuterin je aldehyd, který vykazuje širokou škálu antimikrobiální aktivity proti potravinovým patogenům a mikroorganismům způsobující zkažení potravin. Má velký potenciál jako potravinářský biokonzervační prostředek, protože je rozpustný ve vodě, odolává degradaci proteolytickými a lipolytickými enzymy a účinně působí v širokém rozsahu teplot a pH. Antimikrobiální účinnost reuterinu byla prokázána proti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhi*, *Enterococcus faecalis* a *Pseudomonas aeruginosa*. Reuterin má širší rozsah antimikrobiální aktivity než bakteriociny. Nicméně reuterin v kombinaci s bakteriociny jako je například nisin vykazuje účinnější inhibici nežádoucích mikroorganismů. Přidávání reuterinu a jeho kombinace s jinými bakteriociny do mléčných výrobků nabízí vynikající alternativu pro zlepšení bezpečnosti, kvality a trvanlivosti bez přidávání chemických konzervačních látek. Přidání antimikrobiální sloučeniny do syrového mléka může vyřešit problém s trvanlivostí při nedostatečném chlazení nebo při chybějícím chladicím zařízení při dálkové přepravě (KUMAR a kol., 2020).

Rod *Lactococcus*

Jsou to grampozitivní, nepohyblivé, nesporotvorné koky produkující velké množství kyseliny mléčné. Jejich optimální růstová teplota je 30 °C, ale mohou růst i při teplotách nižších. Vůči kyselinám nejsou tak odolné jako jiné bakterie mléčného kvašení (např. *Lactobacillus*) (ROBINSON, 2000).

Laktokoky se obvykle používají jako mezofilní startovací kultury k výrobě mléčných výrobků. Jejich hlavní úkol je fermentovat cukry na kyselinu mléčnou, která výsledný produkt okyselí. Používají se buď jako jediný kmen nebo jako součást startovací směsi s více kmeny. Často se používají jako startéry v kombinaci s jinými bakteriemi mléčného kvašení (např. *Lactobacillus*, *Streptococcus*) (ROBINSON, 2000).

V omezené míře druhy *Lactococcus* dodávají mléčným výrobkům specifickou chuť kvůli výrobě organických kyselin (ROBINSON, 2000).

Lactococcus lactis

Mezi hlavní poddruhy řadíme *L. lactis* subsp. *lactis* a *cremoris* (ROBINSON, 2000).

Bakterie druhu *Lactococcus lactis* se používají jako startovací kultury v mléčné fermentaci po celém světě. Poprvé byly izolovány koncem 19. století díky samovolnému mléčnému kvašení. Kmeny *L. lactis* se používají k výrobě mléčných produktů, jako jsou sýry, zakysaná smetana a podmáslí. Přispívají k charakteristické chuti, vůni a struktuře těchto produktů. Zároveň pomáhají produkt konzervovat produkcí organických kyselin, bakteriocinů a peroxidu vodíku. *L. lactis* se používá jako hlavní producent bakteriocinu nisin. Nisin je nejlépe charakterizovaný bakteriocin mléčného kvašení. Je jediným bakteriocinem, který je celosvětově schválen jako potravinářská přídatná látka. Nisin inhibuje vegetativní buňky *listerie monocytogenes*, *Bacillus*, *Clostridium* a některé mléčné kyselé bakterie (ROBINSON, 2000).

Rod *Bifidobacterium*

Rod *Bifidobacterium* jsou grampozitivní tyčinky, které jsou nepohyblivé, nesporotvorné a jsou aerobní. Jejich optimální rozmezí pH je od 6,5 do 7,0. Mají jedinečnou schopnost katabolizovat hexózu a produkovat acetát, laktát, etanol a mravenčan (SADOWSKY a kol., 2011).

Taxonomicky patří rod *Bifidobacterium* do kmene *Actinobacteria*, třída *Actinobacteria*, řád *Bifidobacteriales*, čeleď *Bifidobacteriaceae*. Rod *Bifidobacterium* zahrnuje 32 uznaných druhů (SADOWSKY a kol., 2011).

Bifidobakterie se často přidávají do mléčných výrobků (mléko, sójové mléko, fermentované sójové mléko a mléčné nápoje s ovocnou příchutí), aby vylepšili nutriční vlastnosti. Kromě funkčních účinků přisuzovaných bifidobakteriím bylo zjištěno, že omezují růst psychrotrofních mikroorganismů a tím zabraňují značnému znehodnocení mléčných výrobků. Pravděpodobně je to kvůli jejich vylučování antimikrobiální látky bifidocin B. Přidáním bifidobakterii do mléka již při chladícím řetězci se jejich účinnost zvyšuje (TAYLOR, 2015; SADOWSKY a kol., 2011).

4 PŘÍKLADY POUŽITÍ OCHRANNÝCH KULTUR

Ochranné kultury na českém trhu a jejich použití

Ochranné mlékárenské kultury jsou k dostání od francouzského výrobce Ets. Coquard, který je dodává v lyofilizované formě (sušené mrazem). Doporučené skladování je při -18 °C, kdy je garantovaná doba trvanlivosti na dva roky od data výroby. Kultury je nutné chránit před vlhkostí. Tyto ochranné kultury jsou určeny pro výrobu na farmách, v menších mlékárnách a pro výrobu v domácích podmínkách. Jsou určeny k přímému dávkování do mléka.

Dávkování ochranných kultur je ovlivněno kvalitou a složením mléka. U nízkotučného a pasterovaného mléka je předpoklad menší mikrobiální kontaminace, proto je dávkování kultur nižší než u tučného a nepasterovaného mléka (TOMSCHEESE; DOBRÝ KOLONIÁL).

4.1 IOTA FF – Ochranná okyselující kultura

Používá se proti plísním a kvasinkám v čerstvých a smetanových sýrech. Dále prodlužuje trvanlivost čerstvých měkkých a poloměkkých sýrů. Přidává se i do mléka, které nemá potřebnou bakteriální čistotu. Tato ochranná okyselující kultura se používá přímo k očkování mléka, není nutné přidávání dalších kultur. Prodává se ve dvou variantách DL1 na 100–200 litrů mléka a DL 3,5 na 300–600 litrů mléka.

Dávkování:

DL 1 – 200 litrů nepasterovaného mléka

– 100 litrů pasterovaného mléka

DL 3,5 – 700 litrů nepasterovaného mléka

– 350 litrů pasterovaného mléka

Optimální teplota zrání:

19–22 °C pro syrové mléko.

22–26 °C pro pasterované mléko.

Mikrobiální složení kultury IOTA FF:

- *Lactococcus cremoris*
- *Lactococcus lactis*
- *Lactococcus diacetylactis*
- *Lactobacillus plantarum*
- *Leuconostoc cremoris*
- *Lactobacillus rhamnosus*

(TOMSCHEESE; DOBRÝ KOLONIÁL).

4.2 Gamma 1

Je to homofermentativní mlékárenská kultura s pomalým okyselením, která produkuje velmi malé množství kyseliny mléčné. Tato kultura se na zakysávání sýrů skoro nepodílí. Při očkování do mléka se musí přidat okyselující kultury. Kultura se používá na ochranu dohřívaných a nedohřívaných dlouho zrajících sýrů. Přidává se i do mléka, které nemá potřebnou bakteriální čistotu. Potlačuje růst a rozmnožování nežádoucích mikroorganismů (Clostridia, Leuconostoc, heterofermentativní laktobacily a enterokoky). Tyto bakterie v sýrech způsobují pozdní duření, což je samovolné nadouvání sýrů po několika týdnech.

Prodává se ve třech variantách DL 1, DL 3,5 a DL 3,5–2.

Dávkování:

- DL 1** – na 100 litrů tučného, pasterovaného mléka
– na 200 litrů nízkotučného, nepasterovaného mléka
- DL 3,5** – na 500–100 litrů mléka
- DL 3,5–2** – na očkování 1000–2000 litrů mléka.

Mikrobiální složení kultury Gamma 1

- *Lactobacillus rhamnosus*

(TOMSCHEESE; DOBRÝ KOLONIÁL).

4.3 Gamma 21

Je to nová řada Gamma 2, která se označuje Gamma 21.

Tato homofermentativní mlékárenská kultura, která se vyznačuje pomalým okyselením, vytváří zanedbatelné množství kyseliny mléčné. Tato kultura se na zakysávání sýrů skoro nepodílí. Při očkování do mléka se musí přidat okyselující kultury. Kultura se používá na ochranu čerstvých i tvarohových sýrů. Inhibuje růst kvasinek, plísní a některých bakterií, způsobující znehodnocení chuti. Prodlužuje trvanlivost.

Prodává se ve dvou variantách DL 1 a DL 3,5–2.

Dávkování:

DL 1 – na 100 litrů tučného mléka
– na 200 litrů nízkotučného mléka

DL 3,5–2 – na 1000 litrů tučného mléka
– na 2000 litrů nízkotučného mléka

Mikrobiální složení kultury Gamma 21

- *Lactobacillus rhamnosus*
- *Lactobacillus plantarum*

(DOBRÝ KOLONIÁL).

4.4 Gamma 22

Je to nová řada Gamma 2, která se označuje Gamma 22.

Je určena proti patogenům. Používá se na ochranu jogurtů, zakysaných mlék, čerstvých a smetanových sýrů. Přidává se i do mléka, které nemá potřebnou bakteriální čistotu. Používá se jen do nepasterovaného mléka. Do mléka se přidává zároveň s okyselujícími kulturami.

U nás je k dostání ve variantě DL 1.

Dávkování:

DL 1 – na 100 litrů nepasterovaného mléka

Při velké míře znečištění mléka se dávkování může zvýšit (TOMSCHEESE).

ZÁVĚR

Práce se zabývá mikroflórou tepelně opracovaného mléka a mléka syrového. Zaměřuje se na vady způsobené kontaminací mikroorganismy. Dále jsou zde charakterizovány čisté mlékařské kultury a jejich nepostradatelný význam ve výrobě mléčných výrobků. V poslední části jsou shrnuty ochranné kultury, které se dají sehnat na českém trhu a jejich využití.

V posledních letech si lidé stále více uvědomují riziko spojené s používáním chemických konzervačních látek v potravinách, které mohou způsobit změnu složení a změnu nutričních a organoleptických vlastností. Po celém světě je hlavním kritériem pro výběr potravin bezpečnost potravin. Zvyšující se poptávka po prodloužení trvanlivosti a zabránění zkažení mlékařských výrobků vede ke zvyšujícímu se úsilí pro vývoj nových konzervačních látek a konzervačních metod.

Bakteriociny bakterií mléčného kvašení mohou být používány jako přirozená bio konzervační látka a podpora zlepšení mikrobiologické kvality potravin. Používání těchto peptidů může významně ovlivnit snížení hladiny chemických přísad a snížit intenzitu fyzických ošetření potravin před a po výrobě. V dnešní době jsou používané při zpracování potravin. Mohly by proto také podpořit výrobu zdravějších potravin.

U mlékařských výrobků, převážně nepasterizovaných, je největším problémem potenciální přítomnost a přežití potravinářských patogenů. Ke zvýšení bezpečnosti těchto produktů se využívají ochranné kultury. Používání komerčně vyráběných ochranných kultur může být velkým přínosem pro mlékařský průmysl.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ANONYM, Ochranné kultury. [online]. [cit. 2020-4-22] Dostupné z https://www.tomscheese.cz/Ochranne-kultury-c2_52_3.htm

ANONYM, Ochranné kultury. [online]. [cit. 2020-4-22] Dostupné z <https://www.dobrykolonial.cz/ochranne/>

BALI, V., PANESAR, Parmjit S., BERA, Manab B. A KENNEDY, John F. *Bacteriocins: Recent Trends and Potential Applications*. 2016. [online]. [cit. 2020-3-16] Retrieved from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2012.729231?scroll=top&needAccess=true>

BUŇKA, František. *Mlékárenská technologie I*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013, 258 s. ISBN 978-80-7454-254-1

BYLUND, G. *Dairy processing handbook*. Sweden: Tetra Pak Processing Systems AB, 1995, 442 s. ISBN 9789163134272.

CASAUS P. a kol. *Enterocin B, a new bacteriocin from Enterococcus faecium T136 which can act synergistically with enterocin A* 1997. [online]. [cit. 2020-3-16] Retrieved from: <https://doi.org/10.1099/00221287-143-7-2287>

DAVIDSON, P.M., H. Bozkurt CEKMER, E.A. MONU, C. TECHATHUVANAN. *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality*. Woodhead Publishing, c2015. ISBN 9781782420347 [online]. [cit. 2020-4-24] Retrieved from: <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-034-7.00001-3>

DELVES-BROUGHTON, J. *Natural Food Additives, Ingredients and Flavourings*. Woodhead Publishing c2012. ISBN978-1-84569-811-9 [online]. [cit. 2020-4-24] Retrieved from: <https://doi.org/10.1533/9780857095725.1.127>

DOYLE, Michael P. a Larry R. BEUCHAT. *Food microbiology: fundamentals and frontiers*. 3rd ed. Washington, D.C.: ASM Press, c2007. ISBN 978-1-55581-407-6.

FORMAN, L. a kol. *Mlékárenská technologie II*. 1.vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1996. 150s. ISBN 80-7080-250-2.

GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství II*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1998. 142 s. ISBN 80-7157-342-6.

GÖRNER, F., VALÍK, L. *Aplikovaná mikrobiologie požívatin*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 2004. 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

HOLZAPFEL, W.H. , R. GEISEN, U. SCHILLINGER. biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. c1994. [online]. [cit. 2020-4-24] Retrieved from: [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)00036-6](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)00036-6)
<https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0051L191/encyclopedia-food-microbiology/laboratory-characteristics>

<https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00U8RK23/handbook-natural-antimicrobials/fatty-acids>

JANŠTOVÁ, B. A kol. *Technologie mléka a mléčných výrobků*. 1.vyd. Brno 2012. ISBN 978-80-7305-637-7

KAREEM, Raghdha Abdulhussain , RAZAVI, Seyed Hadi *Plantaricin bacteriocins: As safe alternative antimicrobial peptides in food preservation*. 2019. [online]. [cit. 2020-3-1] Retrieved from: <https://onlinelibrary-wiley-com.proxy.k.utb.cz/doi/full/10.1111/jfs.12735>

KNĚZ, V. *Čisté mlékařské kultury a jejich použití v mlékárenském průmyslu*. 2. vyd. Praha: SNTL. 1960. 297s

KUMAR, N., KUMAR, V.,WAHEED, SM.,PRADHAN, D., *Efficacy of Reuterin and Bacteriocins Nisin and Pediocin in the Preservation of Raw Milk from Dairy Farms*. c 2020. ISSN: 1330-9862 [online]. [cit. 2021-4-24] Retrieved from: <http://www.ftb.com.hr/images/pdfarticles/2020/October-December/FTB-58-359.pdf>

LACROIX, Christophe *Protective Cultures, Antimicrobial Metabolites and Bacteriophages for Food and Beverage Biopreservation*. Woodhead Publishing c2011. [online]. [cit. 2020-3-23]. Retrieved from <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00927AM6/protective-cultures-antimicrobial/bacteriophages-improve>

LISOVÁ, Ivana, KUNOVÁ, Gabriela, CHMÚROVÁ, Jana. Probiotické vlastnosti kmenů lactobacillus Plantarum. *Mlékařské listy*. Praha: Výzkumný ústav mlékárenský. 2013, č.138, ISSN 1212-950X.

LUKÁŠOVÁ, J. a kol. *Hygiena a technologie mléčných výrobků*. 1. vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2001. 180 s., ISBN 80-7305-415-9.

LUKÁŠOVÁ, Jindra. *Hygienu a technologie produkce mléka*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 1999. ISBN 80-85114-53-4.

MARTH, Elmer H. a James L. STEELE. *Applied dairy microbiology*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: M. Dekker, c2001. Food science and technology (Marcel Dekker, Inc.), 110. ISBN 0-8247-0536-x.

MAŠEK, J., MAXA, V., TEPLÝ, M. *Kontrola jakosti mlékařských kultur a zákysů*. Praha: SNTL. 1960. 150s.

MENA, Arturo Leon a Alba I. Perez CAMPOS. *Lactobacillus: Classification, Uses and Health Implications*. 2012. ISBN 9781620811511. Dostupné také z: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=nlebk&an=541148&scope=site>

OBERMAN, H., LIBUDZISZ, Z. *Microbiology of fermented foods*. Second addition, Edited by Brian J.B. Wood. London: Published by Blackie Academic and Professional, Thomson Science. 1998. 1000s. ISBN 0-7514-0216-8.

PAVELKA, A. *Mléčné výrobky pro vaše zdraví*. 1.vyd. Brno: Littera 1996. 105s. ISBN 80-85763-09-5.

PLOCKOVÁ, M.: *Zákysové kultury a způsoby jejich aplikace*. In KADLEC, P., et al. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. 2012. 1. vyd. Ostrava: Key Publishing, 569 s. ISBN 978-80-7418-145-0.

ROBINSON, Richard K. *Encyclopedia of Food Microbiology, Volumes 1-3 - Characteristics of the Species*. Elsevier. c2000. [online] Retrieved from

SADOWSKY, WHITMAN M. J., RICHARD L. Fecal Bacteria - 2.4.3 Bifidobacterium. American Society for Microbiology (ASM). c2011. [online]. ISBN978-1-55581-608-7 Retrieved from <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0090DAI2/fecal-bacteria/bifidobacterium>

SILVA, Célia CG , SILVA, Sofia PM , RIBEIRO, Susana C. *Application of Bacteriocins and Protective Cultures in Dairy Food Preservation*. 2018. [online]. [cit. 2020-3-1] Retrieved from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5900009/>

TAYLOR, T. M *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality - 15.2.3 Fatty Acids*. Elsevier. c2015. [online]. ISBN978-1-78242-034-7 Retrieved from

TEPLÝ, M. a kol. *ČMK - Výroba, kontrola použití*. 1.vyd. Praha: SNTL. 1984. 250s.

Vyhláška Ministerstva zemědělství ČR č. 397/2016 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje

YOUNG, N.W.G. , G.R. O'SULLIVAN. *Food and Beverage Stability and Shelf Life*. Woodhead Publishing c2011. ISBN 978-1-84569-701-3 [online]. [cit. 2020-4-24] Retrieved from: <https://doi.org/10.1533/9780857092540.1.132>

ŽIŽKA, B., MARTINKOVÁ, Z. *Mikrobiologie pro čtvrtý ročník SPŠ mlékárenské*. 1. vyd. Praha: SNTL. 1980. 150s.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ČMK Čisté mlékařské kultury

MO Mikroorganismy

SH Titrační kyselost je spotřeba odměrného roztoku NaOH o koncentraci $C_{(\text{NaOH})} = \text{mol/l}$ spotřebovaných na 100 ml mléka nebo kultury

pH Záporný dekadický logaritmus oxoniových kationtů

WHO Světová zdravotnická organizace

FAO Organizace pro výživu a zemědělství

GRAS (Generally Recognized as Safe) Látky obecně považované za bezpečné

KTJ Kolonii tvořící jednotka