

ZMĚNY MIKROFLÓRY BĚHEM VÝROBY PAŘENÝCH SÝRŮ

Natalia Onipchenko, Magda Doležalová,
Eva Procházková, Iva Martinková, Jan Hrabě
Ústav technologie a mikrobiologie potravin,
Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně,
nám. T.G. Masaryka 275, 762 72 Zlín

Changes in microflora during manufacture of steamed cheeses

Abstrakt

Tato práce byla zaměřena na to, jak dalece ovlivní vysoké pařící teploty a další technologické operace množství jednotlivých skupin mikroorganismů vnesených do sýrů startovacími kulturami a sekundární kontaminací. Bylo zjištěno, že pařící proces neovlivnil podstatným způsobem množství životaschopných bakterií mléčného kvašení (laktobacily, mléčné streptokoky) a mezofilní mikroflóry. Naopak významné rozdíly byly pozorovány u koliformních bakterií, kvasinek a psychrotrofních mikroorganismů, kde pařící proces jednoznačně redukoval jejich počty. Nebyl pozorován žádný vliv následných technologických operací, naopak došlo k nárůstu mikroflóry. Lze tedy shrnout, že technologické kroky při výrobě pařených sýrů, zejména paření, mají zásadní inhibiční vliv na sledované skupiny mikroorganismů, vyjma bakterií mléčného kvašení.

Klíčová slova: paření, pařené sýry, koliformní bakterie, bakterie mléčného kvašení, kvasinky

Abstract

The aim of this work was to evaluate the effect of scalding and other technological steps on different groups of present microorganisms (starter cultures, secondary microflora). It was found, that scalding had no significant effect on lactic acid bacteria (lactobacilli, lactic streptococci) and also on mesophilic microflora. On the other hand, significant decreases were observed on coliforms, yeasts, psychrotrophs. It was not observed any significant effect of following technological steps, on the contrary, the microflora increased. It can be concluded, that technological steps in production of steamed cheese have the inhibitory effect on observed groups of microorganisms, except lactic acid bacteria.

Key words: scalding, steamed cheeses, coliforms, lactic acid bacteria, yeasts

Úvod

Pařené sýry jsou charakterizovány jedinečnou technologií výroby, která zahrnuje krok tepelného ošetření horkou vodou (paření) a následuje hnětení a formování. Plastická hmota sýřeniny je po solení ručně nebo strojně

formována do požadovaného tvaru (nitě, copy, kuličky, atd.) (Hui a kol., 2004). Z pařených sýrů je Mozzarella v současné době jedním z nejoblíbenějších sýrů a to zejména díky použití pro výrobu pizzy.

Hlavními faktory, které mají vliv na přežití mikroorganismů v sýru jsou pastace mléka, kyselost a paření sýřeniny. Množství a diverzita přeživších mikroorganismů ovlivňuje přímo i nepřímo většinu biochemických, chemických i fyzikálních procesů probíhajících v mléku, sýřenině a sýru. Tyto procesy vedou k rozvoji organoleptických i texturních vlastností sýrů (Fox a kol., 2004). Mikroflóra sýra se skládá ze dvou hlavních skupin - startovacích kultur a sekundární mikroflóry. Bakterie mléčného kvašení (BMK), a to termofilní *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* nebo *Lactobacillus helveticus* jsou používány v typickém poměru 1:1 jako startovací kultury (Robinson, 2002). V mléce se pomnožují a způsobují jeho okyselení v průběhu výroby sýra. BMK se u pařeného sýra Provolone del Monaco nacházejí v množství 7 až 9 log KTJ.g⁻¹ (Aponte a kol., 2010).

Četné studie popisují sekundární mikroflóru pařených sýrů, která zahrnuje BMK původem jiné než startovací kultury (Baruzzi a kol., 2012) a další bakterie (Conte a kol., 2007) či kvasinky (Aponte a kol., 2010). Celková jakost sýrů závisí na složení mikroflóry, která reflektuje kvalitu mléka a vody, hygienu a kontaminaci v průběhu výroby a následné podmínky skladování. Skupiny mikroorganismů, které jsou odpovědné za nežádoucí proteolýzu a kažení pařených sýrů jsou zejména pseudomonády, různé psychrotrofní bakterie (*Acinetobacter*, *Bacillus*, *Serratia*), koliformní bakterie (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*) a kvasinky (*Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Clavispora*) (Aponte a kol., 2010).

Prvním krokem výroby pařených sýrů je srážení (koagulace) pasterovaného mléka. Přesto, že pastace (72 °C/15 s) zničí okolo 99 % mikroorganismů syrového mléka, bakteriální spory (Hui a kol., 2004) a termorezistentní mikroorganismy (*Micrococcus*, *Enterococcus*) mohou přetrvat (Fox a kol., 2004). Existuje riziko sekundární kontaminace pseudomonádami a bacily, které se mohou množit v chladicí sekci pasteru a proto je důležitá pravidelná sanitace zařízení pro pastaci (Fox a kol., 2004). Srážení vede k vytvoření pevného zrna - sýřeniny. Bakterie jsou zachyceny v kaseinové síti sýřeniny (Hui a kol., 2004). Po vytvoření sýřeniny se odpustí syrovátka, sýřenina je vypuštěna do lisovacích van, kde je lisována a prokysává až do okyselení na hodnotu pH 5,1-5,3 (Hui a kol., 2004). Jakmile je dosaženo požadované hodnoty pH, sýřenina je napařena a hnětena, dokud není hmota hladká a elastická. Je dobře známo, že tyto procesy mají zásadní vliv na uspořádání proteinové matrice do mřížky, uvnitř níž jsou zachyceny kapénky tuku a syrovátky (Gernigon a kol., 2010).

Další fáze výroby pařených sýrů je formování napařené sýřeniny do různých tvarů, buď strojně nebo ručně a následné chlazení a balení finálních výrobků (buď v nálevu nebo

bez). Solení může probíhat v průběhu hnětení přidávkem solného roztoku nebo po tvarování ponořením do solné lázně (Hui a kol., 2004). Sůl hraje základní roli při výrobě sýrů, ovlivňuje jejich chuť a působí konzervačně při skladování. Nicméně existuje riziko kontaminace kvasinkami a plísněmi při použití solné lázně (Gernigon a kol., 2010). U zracích nálevů je vyvinuta typická halotolerantní a acidotolerantní mikroflóra (4 až 6 log KTJ.ml⁻¹), kde jsou často převládajícími druhy *Debaryomyces hansenii* a *Staphylococcus equorum* (Farnworth, 2008). BMK jsou k soli citlivé a jsou inhibovány v případě, že solení proběhne dříve, než je dokončena fermentace (Hui a kol., 2004).

Cílem této práce bylo zjistit vliv paření sýřeniny, včetně následného hnětení a formování na změny složení mikroflóry pařených sýrů od čtyř výrobců v České republice.

Materiál a metody

Vzorky

Tato studie probíhala v období květen 2010 až březen 2011. Vzorky byly odebrány s laskavým svolením čtyř výrobců z jihovýchodní části České republiky se zaměřením na výrobu pařených sýrů z kravského mléka. Od každého výrobce (A, B, C, D) byl vybrán jeden typ výrobku: A - mozzarella (strojní zpracování, 1000 g bez nálevu, baleno v PA/LDPE folii, trvanlivost 14 dní, sušina 34 %, tuk 15 %, sůl 1 %, pH 5,30); B - mozzarella (strojní zpracování, 350 g bez nálevu, vakuově baleno v PA/PE folii, trvanlivost 50 dní, sušina 45 %, tuk 18 %, sůl 1 %, pH 5,20); C - solený pařený sýr (strojní zpracování/ruční formování, 120 g bez nálevu, vakuově baleno v PA/PE folii, trvanlivost 60 dní, sušina 58 %, tuk 22 %, sůl 3,2 %, pH 5,20); D - uzený pařený sýr (strojní zpracování, 850 g bez nálevu, vakuově baleno v PA/PE folii, trvanlivost 60 dní, sušina 52 %, tuk 27 %, sůl 1,7 %, pH 5,15). Pařicí voda byla v rozmezí 80 - 85 °C u všech sledovaných výrobců. Z každé sledované technologické fáze výroby byly odebrány vzorky - sýřenina před pařením, sýřenina po paření, balený finální produkt bezprostředně po výrobě, to vše bylo opakováno minimálně třikrát v různých výrobních dnech.

Mikrobiologická analýza

Mikrobiologická analýza byla provedena u každého vzorku (sýřenina před pařením, sýřenina po paření, finální produkt) od každého výrobce ve dvojím paralelním opakování, odběr vzorku probíhal dle ČSN EN ISO 6887-5. Byly stanovovány tyto parametry: celkový počet mezofilních mikroorganismů dle ČSN EN ISO 4833, psychrotrofních mikroorganismů dle ČSN ISO 6730, koliformních bakterií dle ČSN ISO 4832, kvasinek a plísní dle ČSN ISO 6611, laktobacilů a mléčných streptokoků dle ČSN ISO 7889. Počty mikroorganismů byly vyjádřeny jako log KTJ.g⁻¹.

Statistická analýza

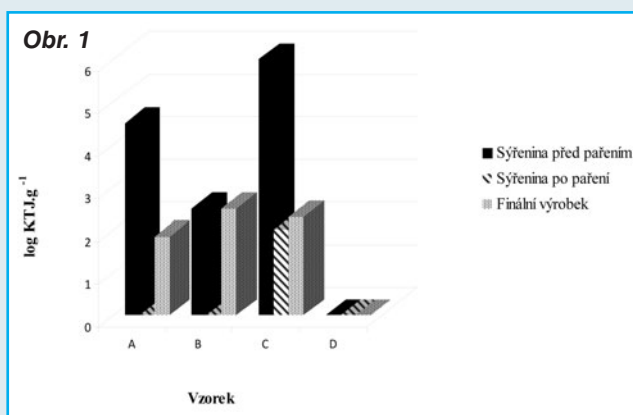
T-testem (Statistica for Windows, StatSoft, Česká republika) byly hledány statisticky významné rozdíly (P 0,05)

v počtech mikroorganismů u vzorků v průběhu výroby (vliv paření a hnětení, vliv formování, chlazení a solení). Pro každý vzorek bylo použito minimálně šest hodnot pro statistické vyhodnocení.

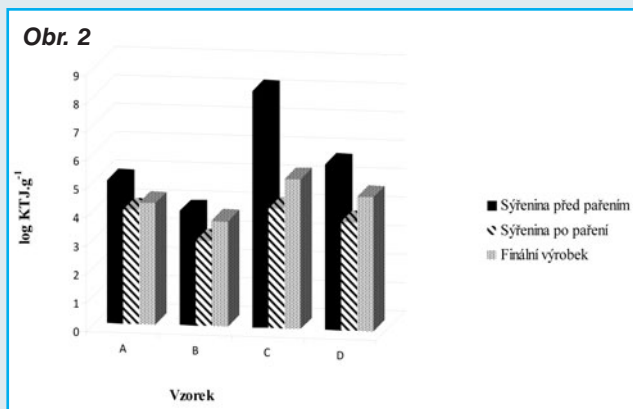
Výsledky a diskuze

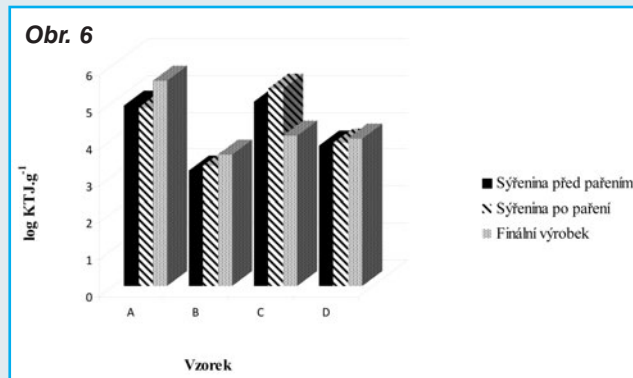
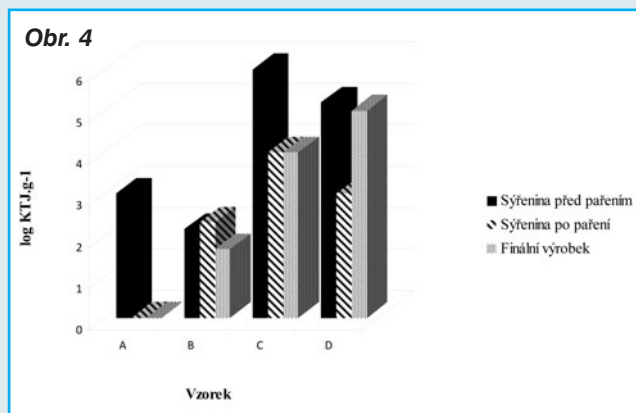
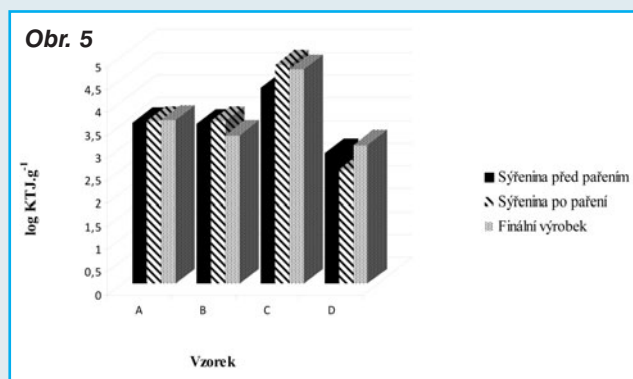
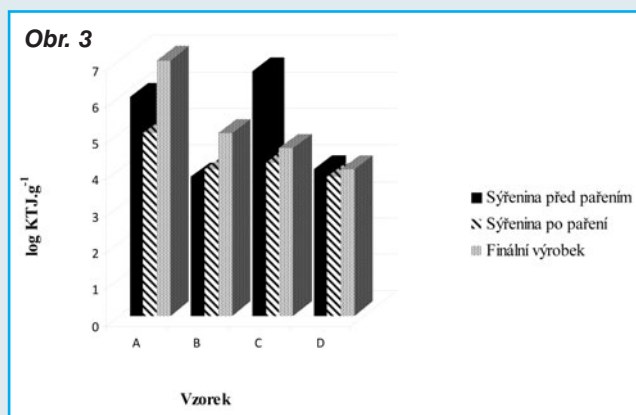
Mikroflóra pařených sýrů se skládá z různých zástupců bakterií, kvasinek a v některých případech i plísní, které pochází z primární kontaminace mléka, startovacích kultur a sekundární kontaminace při výrobě (Aponte a kol., 2010, Barruzzi a kol., 2012, Conte a kol., 2007).

V této práci byl sledován vliv průběhu výroby na mikroflóru pařených sýrů. Byly sledovány celkové počty mezofilních, psychrotrofních mikroorganismů, koliformních bakterií, laktobacilů, mléčných streptokoků a kvasinek a vyhodnoceny statisticky významné rozdíly v průběhu výroby pařených sýrů.



Bylo zjištěno, že fáze paření a hnětení má nejvýraznější a statisticky významný inhibiční účinek na koliformní bakterie. Jsou nejcitlivější k tepelnému ošetření a jejich počty mohou být sníženy až o 4 řády (Obr. 1), v závislosti na počátečním množství. Vysoké průměrné počty koliformních bakterií u vzorků A a C sýřeniny před pařením jsou zřejmě ovlivněny nedostatečnou sanitací v den předcházející odběru. Muchetti a kol. (2008) ve své studii (Pokus 1) uvádějí 99,6% redukci bakterií *Escherichia coli* pařicím procesem. Obdobně psychrotrofní bakterie (Obr. 2) byly statisticky významně sníženy (až 4 řády v případě vzorku C s vysokou počáteční kontaminací). Také kvasinky (Obr. 4)





byly inhibovány, kromě vzorku B, kde byla počáteční kontaminace nízká pouze kolem 2 log KTJ.g⁻¹. Na druhou stranu mezofilní mikroorganismy nebyly statisticky významně redukovány (Obr. 3), kromě vzorku C, který vykazoval vyšší počáteční kontaminaci. Obdobné pozorování učinili ve své studii (Pokus 2) také Mucchetti a kol. (2008), kdy vlivem pařicího procesu došlo ke snížení počtu mezofilních bakterií pouze o 4,5 %. BMK - laktobacily (Obr. 5) a mléčné streptokoky (Obr. 6) nebyly pařicím procesem statisticky významně ovlivněny. Toto tvrzení je v souladu se zjištěním studie Aponte a kol. (2010), kde pařicí proces nemá vliv na počet bakterií mléčného kvašení při výrobě sýra Provolone del Monaco. Navíc je pravděpodobné, že mezofilní mikroflóra může být tvořena BMK a na základě toho lze předpokládat, že mezofilní mikroorganismy, stejně jako laktobacily a mléčné streptokoky nebyly pařením inhibovány. Jiné tvrzení publikoval ve své studii Morea a kol. (1999), kde byl pozorován úbytek z 7 na 4,9 log KTJ.g⁻¹ mezofilních a z 6 na 4,6 log KTJ.g⁻¹ u termofilních grampozitivních koků (BMK).

Celková mikrobiologická kvalita pařených sýrů může být sledována obecnými parametry (mezofilní a psychrotrofní mikroorganismy, kvasinky), indikátory rekontaminace (koliformní bakterie) a počty BMK. Počty sledovaných mikrobiologických parametrů po paření, vyjma koliformních bakterií zůstávají vcelku vysoké - okolo 4 log KTJ.g⁻¹ pro psychrotrofní a mezofilní bakterie, v rozmezí 3 - 5 log KTJ.g⁻¹ pro laktobacily a mléčné streptokoky, a v rozmezí od nuly do 4 log KTJ.g⁻¹ pro kvasinky. Ovšem je nutno poznamenat, že počty mikroorganismů jsou závislé na kvalitě vstupních surovin a úrovni hygieny provozu,

zejména to platí pro koliformní bakterie a kvasinky. Pluta a kol., 2005 uvádí dvakrát vyšší počty mezofilních mikroorganismů (9,67 log KTJ.g⁻¹) ve strouhané mozzarella, což je zřejmě způsobeno zvětšeným povrchem a tím vhodnými podmínkami množení, naopak koliformní bakterie nebyly detekovány.

Vliv dalších technologických operací (formování, chlazení, solení) na sledované mikrobiologické parametry nebyl zaznamenán. Naopak, byl pozorován nárůst mikroorganismů, který lze přičíst kontaminaci z výroby či ručního zpracování. Snížení počtu bylo pozorováno pouze u mléčných streptokoků v případě vzorku C (3,2 % NaCl), jelikož jsou citlivé ke zvýšené koncentraci soli (ICMSF, 2005).

Závěr

Pařicí proces, který je dominantní technologickou operací při výrobě pařených sýrů ovlivňuje změny ve složení mikroflóry. Signifikantně snižuje počty koliformních bakterií, které jsou indikátorem rekontaminace. Významně bylo sníženo i množství kvasinek a psychrotrofních mikroorganismů, především u těch vzorků pařených sýrů, u nichž byl stanoven zvýšený počet dané skupiny již v sýřenině před pařením. Na druhou stranu nebyl zjištěn žádný vliv pařicího procesu na množství bakterií mléčného kvašení. V souladu s tímto zjištěním je i fakt, že mezofilní mikroorganismy nebyly redukovány. Byl pozorován inhibiční vliv soli na mléčné streptokoky.

Poděkování

Tato práce byla podporována grantem č. IGA/24/FT/10/D od Interní Grantové Agentury Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně.

Literatura

- APONTE M., PEPE O., BLAIOTTA G. (2010): Identification and technological characterization of yeast strains isolated from samples of water buffalo Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 93, s. 2358-2361.
- BARUZZI F., LAGONIGRO R., QUINTIERI L., MOREA M., CAPUTO L. (2012): Occurrence of non-lactic acid bacteria populations involved in protein hydrolysis of cold-stored high moisture Mozzarella cheese. *Food Microbiology*, 30, s. 37-44.
- CONTE A., SCROCCO C., SINIGAGLIA M., DEL NOBILE M.A. (2007): Innovative active packaging systems to prolong the shelf life of Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 90, s. 2126-2131.
- FARNWORTH E. R. (edit.) (2008): *Handbook of fermented functional foods*. 2. vyd., Boca Raton, CRC Press, 581 s. ISBN 978-1-4200-5326-5.
- FOX P.F., McSWEENEY P.L.H., COGAN T.M., GUINEE T.P. (edit.) (2004): *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. 3. vyd., Amsterdam, Elsevier, Dostupné z: http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=1891&VerticalID=0
- GERNIGÓN G., SCHUCK P., JEANTET R. (2010): Processing of Mozzarella cheese wheys and stretchwaters: A preliminary review. *Dairy Science*, 90, s. 27-46.
- HUI Y.H., MEUNIER-GODDIK L., HANSEN A.S., JOSEPHSEN J., NIP W.K., STANFIELD P.S., TOLDRÁ F. (edit.) (2004): *Handbook of food and beverage fermentation technology*. New York, Marcel Dekker, 919 s.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (2005): *Microbial ecology of food commodities*. 2. vyd., New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 763 s. ISBN 03-064-8675-X.
- MOREA M., BARUZZI F., COCCONCELLI P.S. (1999): Molecular and physiological characterization of dominant bacterial populations in traditional Mozzarella cheese processing. *Journal of Applied Microbiology*, 87, s. 574-582.
- MUCCHETTI G., BONVINI B., REMAGNI M.C., GHIGLIETTI R., LOCCI F., BARZAGHI S., FRANCOLINO S., PERRONE A., RUBILONI A., CAMPO P., GATTI M., CARMINATI D. (2008): Influence of cheese-making technology on composition and microbiological characteristics of Vastedda cheese. *Food Control*, 19, s. 119-125.
- PLUTA A., ZIARNO M., KRUK M. (2005): Impact of modified atmosphere packing on the quality of grated Mozzarella Cheese. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*, 14/55, s. 117-122.
- ROBINSON R. (2002): *Dairy microbiology handbook*. 3. vyd. New York: Wiley Interscience, 765 s. ISBN 04-713-8596-4.

Přijato do tisku 20. 4. 2012

Lektorováno 15. 5. 2012

FERMENTACE KOMERČNÍCH FRUKTANŮ INULINOVÉHO TYPU LAKTOBACILY A ENTEROKOKY

Bohačenko, I.¹, Pinkrová, J.¹, Kopicová, Z.¹, Kunová, G.², Peroutková, J.², Pechačová, M.²

¹ Výzkumný ústav potravinářský Praha v.v.i.,

² Výzkumný ústav mlékařenský s.r.o.

Fermentability of commercial inulin type fructans by lactobacilli and enterococci

Abstrakt

Sledováno bylo využití tří druhů komerčních fruktanů inulinového typu Orafiti GR, Orafiti Synergy1 a Orafiti P95 (BENEOTM, Belgie) při jejich fermentaci probiotickými kulturami *Lactobacillus acidophilus* CCDM 151, *Lacto-*

bacillus rhamnosus CCDM 150, *Enterococcus durans* CCDM 922 a *Enterococcus faecium* CCDM 945 (Sbírka mlékařských mikroorganismů Laktoflora®, ČR). Na začátku a na konci 16 hodinové fermentace při optimálních podmínkách pro daný mikroorganismus byly určovány: obsah fruktanů (metodou HPLC s RI detekcí), počet mikroorganismů (klasickou plotnovou metodou) a pH substrátu. Z experimentálních výsledků byl zjištěn významný rozdíl mezi fermentací fruktanů laktobacily a enterokoky, přičemž obecně lze hodnotit využívání fruktanů laktobacily jako vyšší než využívání v případě enterokoků.

Klíčová slova: fruktany, fermentace, laktobacily, enterokoky

Abstract

Fermentability of three commercial inulin type fructans Orafiti GR, Orafiti Synergy1 and Orafiti P95 (BENEOTM, Belgium) by probiotic cultures *Lactobacillus acidophilus* CCDM 151, *Lactobacillus rhamnosus* CCDM 150, *Enterococcus durans* CCDM 922 and *Enterococcus faecium* CCDM 945 (Culture Collection of Dairy Microorganisms Laktoflora®, Czech Republic) was evaluated. The content of fructans (HPLC Method with RI detection), the bacterial counts (by plate method) and pH of substrate were determined at the beginning and at the end of 16 hours fermentation. The significant differences between both fructan fermentations with lactobacilli or with enterococci were found and the utilization by lactobacilli might be classified as higher.

Key words: fructans, fermentation, lactobacilli, enterococci

Úvod

Fruktany jsou polysacharidy, resp. oligosacharidy, složené z řetězců D-fruktosy spojených vazbou β -(1 \rightarrow 2) a zakončených jednotkou D-glukosy (Velíšek 1999). Podle původu je možné je rozdělit do dvou skupin, a to

- přírodní fruktany inulinového typu vyskytující se v rostlinných materiálech (inulin a fruktooligosacharidy vznikající jeho hydrolýzou) a
- enzymově syntetizované fruktooligosacharidy, vznikající ze sacharosy transfruktosylační reakcí enzymem β -fruktosidasou.

Jeich chemická struktura, výskyt v přírodních materiálech, enzymová příprava a průmyslová výroba jsou popsány v četných publikacích (Crittenden a Playne 1996; Roberfroid a Delzenne 1998; Yun 1996; Hidaka a kol. 1986; Boháčenko a kol. 2010).

Fruktany, tj. inulin a fruktooligosacharidy (FOS) nejsou hydrolyzovány trávicími enzymy v horní části lidského zažívacího traktu a jsou klasifikovány jako nestravitelné sacharidy (Cummings a Roberfroid 1997). Při dalším průchodu zažívacím traktem jsou metabolizovány mikroflórou osídlující tlusté střevo, přičemž jako koncové produkty vznikají kyseliny mléčná, octová, propionová, máselná,