

**Tab. 5** Složení nejlépe hodnocených receptur (hmotnostní procenta)

Receptura	tuk	bílkoviny	sušina	sacharidy	laktosa celkem	laktosa ve vodní fázi	nášleh (%)
4a	5,52	3,50	32,07	22,27	5,05	6,92	40
4b	6,79	4,15	33,84	22,10	4,83	6,80	36
6b	17,27	4,00	44,57	22,42	2,83	4,86	30

Hodnocení konzistence a rychlosti odtávání bylo bodově velmi vyrovnané a nemělo větší vliv na celkové hodnocení.

Zmrzliny byly vyrobeny z čerstvých surovin za konstantních parametrů kombinovaného výrobce tak, aby byly splněny zadávací podmínky - pasterovaná zmrzlina s nízkým nášlehem, dobrou konzistencí, tvořící chutný základ dlouhodobě skladovaného mraženého krému typu gelato. Z důvodu zkrácení doby zapůjčení výrobce byla výroba každého vzorku provedena jedenkrát.

Hodnocení komerčních směsí zmrzlin bylo z hodnocení vyřazeno z důvodu, že nesplňovaly zadání, tj. přípravu z čerstvých surovin.

## Závěr

- Typ gelato zmrzlina není přesně definován nebo se definice zeměpisně liší - viz evropská, resp. italská (čerstvé suroviny, nízká tučnost, polotuhá konzistence, prodej za specifických podmínek, neskladuje se dlouhodobě) a severoamerická specifikace (druh mraženého smetanového krému či dezertu o vysoké tučnosti, dlouhodobě skladovaného).
- Vybrané receptury jsou kompromisem mezi požadavky na automatizaci výroby zmrzlin v mobilním polo-průmyslovém zařízení (rychlá a snadná příprava, vhodná konzistence pro čerpání a plnění, dlouhá skladovatelnost) a na čerstvost surovin a velký objem ruční práce (šlehání smetan, směsi cukru a vajec, příprava ochucujících past a ovocných pyré, restování oříšků, příprava karamelu apod.) při rychloobrátkovém prodeji v malých výrobních.
- Navržené receptury jsou připraveny z čerstvých surovin - plnotučného mléka, odtučněného mléka, smetany, másla, doplněné pro zvýšení sušiny sušeným mlékem. V jedné receptuře jsou obsaženy čerstvé žloutky, což však variantu prodražuje. Ochucení základu je možné komerčními přípravky a aromaty s případným přídavkem barviva.
- Na základě zpracování výsledků smyslového hodnocení zmrzlin pracovníci VÚM byly vybrány 3 druhy zmrzliny typu gelato z celkem 7 zkušebních, stabilizované pro dlouhodobé skladování polysacharidy typu karboxymethylcelulosa, modifikované celulosy, emulgátory, monosacharidy a maltodextriny o nízkém dextrózovém ekvivalentu.
- Nastavení parametrů výrobce - nízké otáčky, kratší doba šlehání - vycházelo z požadavku na typ gelato, tj. s nižším nášlehem 35 - 45 % (Alfaifi, 2010) a kompaktnější strukturou než běžná zmrzlina.
- Čerpání zmrzliny z výrobce do plnicí hlavy může být odzkoušeno až na výrobce začleněném do sestavy

robotické mlékárny, což samostatný výrobce neumožňoval.

## Poděkování:

Tato práce vznikla jako součást projektu TA 02011293 v operačním programu ALFA s finanční podporou

Technologické agentury České republiky a s institucionální podporou MZe na rozvoj výzkumné organizace na základě rozhodnutí RO1414.

## Literatura

- ALFAIFI, M. S., STATHOPOULOS, C. E. (2010): Effect of egg yolk substitution by sweet whey protein concentrate (WPC), on physical properties of Gelato ice cream, *International Food Research Journal*, 17, s. 787 - 793.
- GANGI, R. (2006): Sicilian Ice Cream, *Best of Sicily Magazin*, August, dostupné na <http://www.bestofsicily.com/mag/art205.htm>.
- THARP, B. (2008): A stabilizer in Food. *Prepared Foods*, July 1., dostupné na <http://www.preparedfoods.com/articles/106471-article-a-stabilizer-in-food-july-2008>.
- THARP, B. (2009): Gelato and Other Gourmet Ice Creams. *Prepared Foods*, February 1, dostupné na <http://www.preparedfoods.com/articles/106919-article-gelato-other-gourmet-ice-creams-february-2009>.

Přijato do tisku: 10. 1. 2015

Lektorováno: 29. 1. 2015

## VLIV PODMÍNEK SKLADOVÁNÍ NA PŘEŽITÍ VYBRANÝCH LYOFILIZOVANÝCH KMENŮ LAKTOBACILŮ

Šalaková A., Kunová G., Dragounová H., Drbohlav J., Roubal P.

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

### The influence of storage conditions on the survival of selected freeze-dried lactobacilli strains

## Abstrakt

Kmeny laktobacilů, které jsou součástí mlékařských startovacích kultur, je nutno správně kultivovat, udržovat vitální a vhodně konzervovat tak, aby byly v plné aktivitě připraveny pro inokulaci výrob kysaných mléčných výrobků a sýrů. Vybrané kmeny ze Sbírký mlékařských mikroorganismů Laktoflora® byly konzervovány lyofilizací a poté skladovány při teplotě -40, -18, 4-8 a 25 °C po dobu 1 a 6 měsíců. Bylo zjištěno, že přežívání mikroorganismů je závislé od testovaného kmene. Nejlépe přežívaly kmeny laktobacilů uchovávané při teplotách -40 a -18 °C a dobré výsledky byly zjištěny i při teplotě 4-8 °C. Teplota 25 °C je pro skladování laktobacilů nevhodná. Výjimkou byly kmeny *Lbc. plantarum* CCDM 182 a CCDM 388, jejichž

počet KTJ neklesl při teplotě skladování 25 °C po dobu 6 měsíců pod 10<sup>8</sup>.

**Klíčová slova:** laktobacily, lyofilizace, skladování

## Abstract

The strains of lactobacilli that are part of the dairy starter cultures, it is necessary to properly cultivate, maintain vitality and well preserved so that they are in full activity prepared for inoculation production of fermented dairy products and cheeses production. Selected strains from The Collection of Dairy Microorganisms Laktoflora<sup>®</sup> were preserved by freeze-drying and then stored at -40, -18, 4-8, and 25 °C for 1 and 6 months. It was found that the survival of microorganisms is dependent on the tested strain. Lactobacilli strains survived best stored at temperatures of -40 and -18 °C and good results were obtained at the temperature of 4-8 °C. Temperature 25 °C for storage of lactobacilli is inconvenient. The exceptions were the strains of *Lbc. plantarum* CCDM 182 and CCDM 388, CFU by storage temperature 25 °C for 6 months did not decrease under the 10<sup>8</sup>.

**Key words:** lactobacilli, freeze-drying, storage

Rostoucí zájem o široké spektrum mikrobiálních kmenů k různým aplikacím klade před nás otázky k zamyšlení, jak nejlépe mikroorganismy uchovávat. Nejen izolace a kultivace čistých kmenů, ale stejně tak úchova beze změn morfologických, fyziologických a genetických vlastností je požadována během skladování. Základními způsoby konzervace mikroorganismů je úchova mražením a lyofilizací. Oba procesy mají kritické body, které ovlivňují přežívání buněk a mají vliv na dlouhodobé skladování. (Praháš a kol., 2013)

Lyofilizované preparáty mají výhody v závislosti na technice přípravy jak v dlouhodobé úchově a tak v manipulaci, skladování, prodeji a aplikaci. Při lyofilizaci je požadován co nejvyšší počet přežívajících bakterií, a to během a po ukončení procesu lyofilizace, ale i v průběhu skladování z důvodů technologických, ale i ekonomických (Carvalho a kol., 2004).

Postup lyofilizace je založen na sublimaci při nízkém tlaku a teplotě. Jeho výhoda spočívá v tom, že voda přechází přímo z pevného skupenství do skupenství plynného. Tato technologie je využívána pro materiály, které jsou citlivé k vyšší teplotě. Materiál se zmrazí na teplotu, při které může existovat jen v pevném skupenství. Ve fázi sušení je v lyofilizačním zařízení snížen tlak vzduchu a současně je dodáváno teplo tak, aby voda z materiálu mohla sublimovat a sušený materiál se nepoškodil. Proto tento šetrný způsob je velmi vhodný pro úchovu mlékařských mikroorganismů.

Aby počty přežívajících mikroorganismů během procesu lyofilizace zůstaly co nejvyšší, a aby tyto počty byly stabilizovány i v průběhu skladování, jsou používány různé kryoprotekční látky např. roztoky sacharózy, trehalózy, inositolu, sorbitolu, fruktózy, glutamátu sodného nebo odtučněné mléko nebo jedních kombinace. Testováním vlivu kryoprotekčních médií na přežívání laktobacilů

a dalších mikroorganismů se zabývali Zayed a Roos (2004), Carvalho a kol. (2002), Carvalho a kol. (2003).

Přežití mikroorganismů konzervovaných lyofilizací může být velmi dlouhé. Schopnost přežití různých druhů mikroorganismů, které byly skladovány až po dobu 20 let, testovali Miyamoto-Shinohara a kol. (2006). Ve svém výzkumu se zaměřili na sledování vlivu lyofilizace a skladování na G<sup>+</sup> bakterie, G<sup>-</sup> bakterie a kvasinky. Nejvyšší schopnost přežití vykazaly G<sup>+</sup> bakterie *Lactobacillus acidophilus* a *Enterococcus faecium* v poměru 62,5 % a 85,2 % po lyofilizaci a poté v průběhu skladování při teplotě 5 °C za temna a vakua <1 Pa byl poměr přežití opětovně vyšší u těchto G<sup>+</sup> bakterií než u G<sup>-</sup> bakterií a kvasinek a činil 96 % ročně. Bylo konstatováno, že k dobrému přežití mikroorganismů po lyofilizaci přispívá vysoký stupeň desikace a i uzavření za vakua.

Naše studie byla zaměřena na výzkum vhodnosti úchovy vybraného souboru laktobacilů lyofilizací a na studium vlivu různých teplot dlouhodobého skladování na životnost sledovaných mikroorganismů.

## Materiál a metody

**Tab. 1** Vybrané kmeny laktobacilů ze Sbírký mlékařských mikroorganismů Laktoflora<sup>®</sup>

Pracovní označení	Kmen	Sbírkové číslo
1	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	CCDM 151
2	<i>Lactobacillus casei</i>	CCDM 198
3	<i>Lactobacillus casei</i>	CCDM 199
4	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CCDM 62
5	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CCDM 92
6	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CCDM 98
7	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CCDM 447
8	<i>Lactobacillus plantarum</i>	CCDM 182
9	<i>Lactobacillus plantarum</i>	CCDM 385
10	<i>Lactobacillus plantarum</i>	CCDM 388
11	<i>Lactobacillus paracasei</i>	CCDM 818
12	<i>Lactobacillus paracasei</i>	CCDM 819
13	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	CCDM 66
14	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	CCDM 767
15	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	CCDM 156
16	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	CCDM 821

### Živná média a pomocné látky:

Mléko 1,5 % tuku Alimpex food  
 Mléko sušené SOM Sušárna CZ a.s. Kolín  
 MRS bujón Merck  
 Laktóza potravinářská Urseta  
 Živné půdy MILCOM a.s. Tábor

### Zařízení:

Lyofilizační zařízení Lyobeta  
 Mrazicí box Electrolux (teplota -40 °C)  
 Mrazicí a chladicí box Electrolux (teplota -18 °C)  
 Chladicí skříň Ledo  
 pH metr Eutech Instruments  
 Váhy Mettler s regulovaným infraohřevem

**Metody:**

Stanovení laktobacilů na živné půdě MRS agar pH 5,7 MILCOM a.s. Tábor, anaerobní kultivace při teplotě 37 °C po dobu 72 hodin

Stanovení aktivní kyselosti potenciometricky

Stanovení sušiny vázkově s regulovaným infraohřevem

**Výsledky a diskuze****Pracovní postup přípravy lyofilizovaných kultur:**

Živný substrát byl připraven přidavkem sušeného mléka do mléka 1,5 % obj. tuku na hodnotu 20 % hmot. sušiny. Směs byla vysoce pasterována 30 min. při 94 °C.

Živný substrát byl po pasteraci zchlazen na kultivační teplotu 37 °C. Poté do živného substrátu bylo přidáno 10 % obj. bujónu MRS (dále označeno jako mléčné médium\*) a baňky byly inokulovány matečnými kmeny v dávce 2 % obj., u kmenů č. 1, 5, 13, 14 byla dávka inokula zvýšena na 5 % obj. z důvodu dříve sledovaného pomalejšího růstu v daném substrátu. Následovala kultivace při 37 °C do koagulace za 16 hodin.

Po fermentaci byla provedena kontrola mikroskopických obrazů, změřena aktivní kyselost a stanoveny počty KTJ (Tab. č. 2).

Následovala příprava k lyofilizaci neutralizací substrátu na pH 5,5 15% hmot. NaOH a do připraveného substrátu byl aplikován přírůstek 20 % hmot. kryoprotečního roztoku laktózy v dávce 25 hmot. %.

Lyofilizace (lyofilizační zařízení Lyobeta) byla vedena do předpokládané sušiny 96 % hmot. Lyofilizační plata byla vymrazena na teplotu -40 °C, poté kmeny byly při této teplotě vloženy do zařízení a lyofilizovány při tlaku 0,4 mBar a konečné teplotě dosoušení 30 °C. Následně proběhla homogenizace kmenů a byly odebrány vzorky na kontrolu lyofilizované kultury.

Poté byly lyofilizované sušené kmeny rozděleny na čtyři díly a nadávkovány do hermeticky uzavíratelných

**Tab. 3** Sušina, počet KTJ a aktivní kyselost vybraných kmenů laktobacilů po lyofilizaci

Pracovní označení	Sušina %	KTJ/g	Aktivní kyselost (pH)	Mikroskopický obraz
1	96,05	3,0.10 <sup>8</sup>	4,38	Středně dlouhé tyčinky
2	97,10	8,8.10 <sup>9</sup>	4,34	Krátké tyčinky
3	96,09	2,2.10 <sup>10</sup>	4,36	Krátké tyčinky
4	95,89	6,0.10 <sup>8</sup>	4,16	Delší silnější tyčinky
5	95,01	1,8.10 <sup>8</sup>	3,51	Středně až delší tyčinky
6	93,90	6,0.10 <sup>8</sup>	3,50	Středně dlouhé tyčinky
7	97,03	2,4.10 <sup>9</sup>	3,41	Středně dlouhé tyčinky
8	96,04	9,3.10 <sup>9</sup>	4,14	Krátké tyčinky ojediněle delší
9	94,96	5,1.10 <sup>9</sup>	4,17	Krátké tyčinky ojediněle delší
10	96,06	8,0.10 <sup>9</sup>	4,26	Krátké tyčinky ojediněle delší
11	95,98	2,0.10 <sup>10</sup>	4,15	Krátké tyčinky
12	95,99	2,2.10 <sup>10</sup>	4,39	Krátké tyčinky ojediněle delší
13	97,07	5,3.10 <sup>9</sup>	4,37	Delší, granulované tyčinky
14	97,05	7,3.10 <sup>9</sup>	4,28	Střední tyčinky
15	96,09	9,1.10 <sup>9</sup>	4,14	Tenké, krátké až střední tyčinky
16	95,91	7,3.10 <sup>9</sup>	4,16	Krátké až střední tyčinky

obalů a umístěny ke skladování do odlišných podmínek úchovy.

Lyofilizované kultury byly uchovávány při teplotě pokojové 25 °C, lednicové 4-8 °C, v mrazicím boxu při teplotě -18 a -40 °C.

Po lyofilizaci byla u jednotlivých kmenů stanovena sušina lyofilizátu, počet KTJ/g lyofilizátu, aktivní kyselost a mikroskopický obraz po zaočkování a kultivaci v mléčném médiu\* (37 °C/16 hodin). Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Pokus ukázal na skutečnost, že některé kmeny laktobacilů jsou schopny velmi dobře překonávat podmínky lyofilizace a u jiných se počet KTJ/g výrazně snižuje. Nejvyšší počet KTJ/g byl dosažen u kmenů č. 3, 11, 12, kde počet mikroorganismů byl v řádu 10<sup>10</sup>. Jedná se kmeny *Lactobacillus casei* a dva kmeny *Lactobacillus paracasei*. U kmenů *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*

**Tab. 2** Mikroskopický obraz, aktivní kyselost a počet KTJ vybraných kmenů laktobacilů před lyofilizací

Pracovní označení	Kmen	Sbírkové číslo	Mikroskopický obraz	Aktivní kyselost (pH)	KTJ/ml
1	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	CCDM 151	Středně dlouhé tyčinky	4,45	2,0.10 <sup>8</sup>
2	<i>Lactobacillus casei</i>	CCDM 198	Krátké tyčinky	4,38	4,2.10 <sup>9</sup>
3	<i>Lactobacillus casei</i>	CCDM 199	Krátké tyčinky	4,36	5,6.10 <sup>9</sup>
4	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CCDM 62	Delší silnější tyčinky	4,02	1,0.10 <sup>9</sup>
5	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CCDM 92	Středně až delší tyčinky	3,41	6,0.10 <sup>7</sup>
6	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CCDM 98	Středně dlouhé tyčinky	3,39	2,9.10 <sup>9</sup>
7	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CCDM 447	Středně dlouhé tyčinky	3,51	2,3.10 <sup>9</sup>
8	<i>Lactobacillus plantarum</i>	CCDM 182	Krátké tyčinky ojediněle delší	4,36	2,5.10 <sup>8</sup>
9	<i>Lactobacillus plantarum</i>	CCDM 385	Krátké tyčinky ojediněle delší	4,24	1,3.10 <sup>9</sup>
10	<i>Lactobacillus plantarum</i>	CCDM 388	Krátké tyčinky ojediněle delší	4,27	2,4.10 <sup>9</sup>
11	<i>Lactobacillus paracasei</i>	CCDM 818	Krátké tyčinky	4,32	4,9.10 <sup>9</sup>
12	<i>Lactobacillus paracasei</i>	CCDM 819	Krátké tyčinky ojediněle delší	4,29	6,2.10 <sup>9</sup>
13	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	CCDM 66	Delší, granulované tyčinky	4,18	2,0.10 <sup>8</sup>
14	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	CCDM 767	Střední tyčinky	4,16	2,7.10 <sup>9</sup>
15	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	CCDM 156	Tenké, krátké až střední tyčinky	4,14	4,0.10 <sup>9</sup>
16	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	CCDM 821	Krátké až střední tyčinky	4,12	5,6.10 <sup>9</sup>

**Tab. 4** Stanovení počtu KTJ/g, aktivní kyselosti a mikroskopického obrazu lyofilizovaných kmenů skladovaných při -40 °C po dobu 1 měsíce a 6 měsíců

Pracovní označení	KTJ/g 1 měsíc	Aktivní kyselost (pH) 1 měsíc	KTJ/g 6 měsíců	Aktivní kyselost (pH) 6 měsíců
1	2,2.10 <sup>8</sup>	4,38	2,0.10 <sup>8</sup>	4,31
2	1,2.10 <sup>10</sup>	4,32	1,1.10 <sup>10</sup>	4,34
3	2,3.10 <sup>10</sup>	4,06	2,3.10 <sup>10</sup>	4,32
4	1,1.10 <sup>9</sup>	4,13	1,1.10 <sup>9</sup>	4,12
5	1,1.10 <sup>8</sup>	3,54	8,8.10 <sup>7</sup>	3,47
6	5,0.10 <sup>8</sup>	3,47	1,2.10 <sup>9</sup>	3,46
7	2,1.10 <sup>9</sup>	3,45	2,9.10 <sup>9</sup>	3,37
8	9,2.10 <sup>9</sup>	4,15	1,0.10 <sup>10</sup>	4,19
9	8,0.10 <sup>9</sup>	4,21	7,9.10 <sup>9</sup>	4,23
10	3,1.10 <sup>9</sup>	4,37	3,0.10 <sup>9</sup>	4,18
11	8,0.10 <sup>9</sup>	4,22	7,9.10 <sup>9</sup>	4,20
12	7,8.10 <sup>9</sup>	4,37	7,0.10 <sup>9</sup>	4,30
13	7,0.10 <sup>8</sup>	4,24	1,5.10 <sup>8</sup>	4,26
14	9,4.10 <sup>8</sup>	4,13	9,3.10 <sup>8</sup>	4,12
15	8,9.10 <sup>9</sup>	4,16	8,7.10 <sup>9</sup>	4,19
16	7,2.10 <sup>9</sup>	4,14	7,1.10 <sup>9</sup>	3,69

**Tab. 5** Stanovení počtu KTJ/g, aktivní kyselosti a mikroskopického obrazu lyofilizovaných kmenů skladovaných při -18 °C po dobu 1 měsíce a 6 měsíců

Pracovní označení	KTJ/g 1 měsíc	Aktivní kyselost (pH) 1 měsíc	KTJ/g 6 měsíců	Aktivní kyselost (pH) 6 měsíců
1	1,5.10 <sup>8</sup>	4,40	1,4.10 <sup>8</sup>	4,44
2	1,3.10 <sup>10</sup>	4,38	9,2.10 <sup>9</sup>	4,36
3	2,8.10 <sup>10</sup>	4,44	2,6.10 <sup>10</sup>	4,35
4	1,2.10 <sup>9</sup>	4,25	7,6.10 <sup>8</sup>	4,12
5	5,0.10 <sup>7</sup>	3,52	6,8.10 <sup>6</sup>	3,45
6	2,0.10 <sup>8</sup>	3,50	1,8.10 <sup>8</sup>	3,37
7	2,4.10 <sup>9</sup>	3,41	1,8.10 <sup>9</sup>	3,35
8	8,8.10 <sup>9</sup>	4,26	8,5.10 <sup>9</sup>	4,16
9	3,9.10 <sup>9</sup>	4,60	4,7.10 <sup>9</sup>	4,28
10	7,8.10 <sup>9</sup>	4,37	6,8.10 <sup>9</sup>	4,25
11	1,1.10 <sup>10</sup>	4,29	1,1.10 <sup>10</sup>	4,32
12	7,2.10 <sup>9</sup>	4,28	5,8.10 <sup>9</sup>	4,18
13	1,0.10 <sup>8</sup>	4,19	4,6.10 <sup>7</sup>	4,29
14	6,4.10 <sup>8</sup>	4,36	6,3.10 <sup>8</sup>	4,21
15	1,1.10 <sup>10</sup>	4,15	1,1.10 <sup>10</sup>	4,18
16	9,9.10 <sup>9</sup>	4,38	1,0.10 <sup>10</sup>	4,27

cus, které jsou často požadovány v mlékárenské praxi, byl počet živých buněk po lyofilizaci v řádu 10<sup>8</sup>.

Kmeny byly poté deponovány při různých teplotách: -40 °C, -18 °C, 4 - 8 °C, 25 °C.

Po skladování po dobu 1 měsíce a po dobu 6 měsíců při všech skladovacích teplotách byl u jednotlivých kmenů stanoven počet KTJ/g lyofilizátu, aktivní kyselost po obnovení lyofilizátu a mikroskopický obraz po zaočkování a kultivaci v mléčném médiu\* (37 °C/16 hodin). Výsledky shrnuty do tabulek č. 4, 5, 6, a 7. Mikroskopický obraz u všech sledovaných variant byl stejný jako mikroskopický obraz po lyofilizaci, proto není v tabulkách uváděn.

**Tab. 6** Stanovení počtu KTJ/g, aktivní kyselosti a mikroskopického obrazu lyofilizovaných kmenů skladovaných při 4 - 8 °C po dobu 1 měsíce a 6 měsíců

Pracovní označení	KTJ/g 1 měsíc	Aktivní kyselost (pH) 1 měsíc	KTJ/g 6 měsíců	Aktivní kyselost (pH) 6 měsíců
1	2,5.10 <sup>7</sup>	4,58	2,3.10 <sup>7</sup>	4,50
2	5,2.10 <sup>9</sup>	4,48	5,0.10 <sup>9</sup>	4,35
3	1,1.10 <sup>10</sup>	4,43	1,8.10 <sup>10</sup>	4,48
4	2,9.10 <sup>8</sup>	4,74	1,2.10 <sup>8</sup>	4,26
5	4,0.10 <sup>7</sup>	4,00	3,8.10 <sup>7</sup>	4,15
6	1,3.10 <sup>8</sup>	3,69	1,9.10 <sup>8</sup>	3,54
7	9,0.10 <sup>8</sup>	3,54	1,0.10 <sup>9</sup>	3,52
8	6,4.10 <sup>9</sup>	4,60	5,6.10 <sup>9</sup>	4,68
9	4,5.10 <sup>9</sup>	3,93	1,6.10 <sup>9</sup>	4,00
10	1,0.10 <sup>10</sup>	4,21	4,6.10 <sup>9</sup>	4,42
11	8,4.10 <sup>9</sup>	4,18	6,6.10 <sup>9</sup>	4,15
12	9,4.10 <sup>9</sup>	4,37	6,7.10 <sup>9</sup>	4,44
13	2,0.10 <sup>8</sup>	4,40	5,5.10 <sup>6</sup>	4,02
14	6,5.10 <sup>9</sup>	4,16	3,4.10 <sup>9</sup>	4,12
15	7,5.10 <sup>9</sup>	4,12	7,8.10 <sup>9</sup>	4,02
16	3,2.10 <sup>9</sup>	4,11	4,4.10 <sup>9</sup>	4,23

**Tab. 7** Stanovení počtu KTJ/g, aktivní kyselosti a mikroskopického obrazu lyofilizovaných kmenů skladovaných při 25 °C po dobu 1 měsíce a 6 měsíců

Pracovní označení	KTJ/g 1 měsíc	Aktivní kyselost (pH) 1 měsíc	KTJ/g 6 měsíců	Aktivní kyselost (pH) 6 měsíců
1	1,9.10 <sup>5</sup>	4,80	1,0.10 <sup>4</sup>	6,29
2	4,2.10 <sup>9</sup>	4,63	1,0.10 <sup>4</sup>	6,18
3	6,4.10 <sup>9</sup>	4,48	1,2.10 <sup>5</sup>	6,02
4	1,5.10 <sup>7</sup>	4,64	1,3.10 <sup>5</sup>	5,13
5	9,0.10 <sup>5</sup>	3,79	5,4.10 <sup>4</sup>	3,97
6	2,1.10 <sup>7</sup>	3,86	3,2.10 <sup>4</sup>	4,25
7	2,1.10 <sup>8</sup>	3,67	3,5.10 <sup>5</sup>	4,18
8	1,1.10 <sup>9</sup>	4,09	5,1.10 <sup>8</sup>	4,13
9	1,2.10 <sup>9</sup>	4,16	7,3.10 <sup>6</sup>	4,30
10	1,8.10 <sup>9</sup>	3,98	7,2.10 <sup>8</sup>	4,24
11	1,6.10 <sup>9</sup>	4,62	4,5.10 <sup>6</sup>	6,10
12	1,2.10 <sup>9</sup>	4,59	2,2.10 <sup>6</sup>	6,15
13	2,0.10 <sup>6</sup>	4,46	1,0.10 <sup>3</sup>	6,22
14	3,2.10 <sup>9</sup>	4,51	2,2.10 <sup>7</sup>	4,26
15	3,9.10 <sup>9</sup>	4,20	2,1.10 <sup>4</sup>	5,95
16	1,6.10 <sup>9</sup>	4,48	7,5.10 <sup>6</sup>	5,70

Mezi skladováním v mrazicích boxech při teplotě -40 a -18 °C po dobu 6 měsíců nebyly zaznamenány významné rozdíly v počtu KTJ/g mezi teplotami skladování s výjimkou kmenů č. 5 a 6, kde byl stanoven počet KTJ/g o jeden řád nižší u teploty -18 °C než u teploty -40 °C.

Těž minimální rozdíly v denzitách testovaných kmenů byly stanoveny při srovnání skladování mražením a uchováváním v chladu při +4 - 8 °C. Pouze u kmenu č. 13 byl pozorován postupný úbytek živých mikroorganismů v závislosti na teplotě a to o jeden řád u sledovaných teplot v mrazicích boxech a v chladu.

Výsledky potvrzují výzkumy a doporučení výrobců mlékařských kultur, kteří dlouhodobé skladování

mlékařských kultur podmiňují úchovou v chladicích a mrazicích boxech.

Nevhodná teplota pro skladování lyofilizovaných kultur laktobacilů je pokojová teplota +25 °C. U většiny kmenů byla snížena denzita mikroorganismů na úroveň řádů  $10^3 - 10^5$ . Výjimkou byly kmeny *Lbc. plantarum* č. 8 a 10 a *Lbc. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* č. 14. U těchto testovaných kmenů skladovaných při teplotě +25 °C se počet KTJ v 1 g výrazně snížil oproti totožným vzorkům skladovaným v chladu, ale přesto počet KTJ u těchto kmenů č. 8 a 10 neklesl pod  $10^8$  a u č. 14 klesl na hodnotu  $2,2 \cdot 10^7$ .

Kmeny, které jsou schopné přežívat skladování při pokojové teplotě, mohou být případně použity na aplikace do sušených preparátů jako výživové doplňky či startovací kultury pro zemědělské aplikace či další aplikace, kde lze očekávat nemožnost vhodné teploty skladování.

### Poděkování:

Práce vznikla za finanční podpory projektu QJ1210093 a institucionální podpory VÚM s.r.o., rozhodnutí RO1414.

### Literatura

- CARVALHO A.S., SILVA J., HO P., TEIXEIRA P., MALCATA X., GIBBS P. (2002): Survival of freeze-dried *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnosus* during storage in the presence of protectants. *Biotechnology Letters*, 24 (19), s 1587-1591.
- CARVALHO A.S., SILVA J., HO P., TEIXEIRA P., MALCATA X., GIBBS P. (2003): Protective effects of sorbitol and monosodium glutamate during storage of freeze-dried lactic acid bacteria. *Le Lait Dairy Science nad Technology*, 83 (3), s203-210.
- CARVALHO A.S., SILVA J., HO P., TEIXEIRA P., MALCATA F.X., GIBBS P. (2004): Relevant factors for the preparation of freeze-dried lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 14 (10), s 835-847.
- MIYAMOTO-SHINOHARA Y., SUKENOBE J., IMAIZUMI T., NAKAHARA T. (2006): Survival curves for microbial species stored by freeze-drying. *Cryobiology*, 52 (1), s 27-32.
- PRAHASH O., NIMONKAR Y., SHOUCHE YS. (2013): Practice and prospects of microbial preservation. *FEMS Microbiol Lett.*, 339 (1) s 1-9.
- ZAYED G., ROOS Y.H. (2004): Influence of trehalose and moisture content on survival of *Lactobacillus salivarius* subjected to freeze-drying and storage. *Process Biochemistry*, 39 (9), s 1081-1086.

Přijato do tisku: 10. 1. 2015

Lektorováno: 2. 2. 2015

## ZPRÁVA Z KONFERENCE IAASST

**Martin Jakubec, Iveta Hynštová**

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Ve dnech 8. až 9. prosince proběhla na Bali v Indonésii konference neziskové organizace IAASST - International Academy of Arts, Science & Technology na téma agrikultury, biologie a environmentálních věd. Konference byla vedena představiteli z Turecka, Taiwanu a Malaysie, ale účastnili se výzkumníci z celého světa. Svě výrazné zastoupení tady měla i Česká republika, kterou tady zastupovaly dokonce tři výzkumné týmy.

Za Výzkumný ústav mlékárenský prezentovala výsledky práce na biofilmových probiotických preparátech Mgr.

Iveta Hynštová. Dále zde nastínil problémy environmentální bezpečnosti doktor Tomáš Háek z Univerzity Karlovy v Praze a doktorka Daniela Lubášová z Technické Univerzity v Liberci představila nové pokroky v syntéze biologicky aktivních antibakteriálních nanovláken.

Celá konference byla rozdělena na tři sekce po osmi až deseti přednáškách. Hlavní a současně úvodní příspěvek byl od prof. Kazua Azuma z Tottori Univerzity v Japonsku o využití chitinových nanovláken jako funkčního doplňku jídla. Autoři pozorovali jejich pozitivní vliv během experimentálně vyvolané ulcerativní kolitidy u myši.

První sekce byla zaměřena na environmentální problematiku a také základní mikrobiologii. Kromě již zmíněné prezentace od doktora Tomáše Háka zde proběhla velmi zajímavá přednáška od MSc. Viktora James Noika z Malajské Univerzity Sabah na téma mořského mikroodpadu. Plastové odpady a jejich zbytky totiž začínají tvořit umělý plankton, který má velmi výrazný negativní dopad na mořský ekosystém. Dále MSc. Nurfathiah Abdul Malekem prezentoval objev nových druhů Actinomycet rostoucích pouze na kořenech mangrovníků.

Ve druhé sekci byla zahrnuta již výše zmíněná přednáška doktorky Lubášové o přípravě nanovláken. Mezi další příspěvky patřila například rozprava o vlivu cestovního ruchu na kvalitu řeky Cagayan de Oro od doktorky Susan Daisy A. Raagas nebo o izolaci toxinu *Lasiodiplodia theobromae*, který způsobuje rychlý úhyn mangrovníků od Msc. Salik Navaz Khan.

Ve třetí sekci byly prezentovány zajímavé výsledky o pozitivním vlivu *Aspalathus linearis* (čaj Rooibos) na zánětlivou aktivitu sledovanou na myších od doktora Edmunda Poola. Za zmínku také stojí dvojice přednášek o nanočásticích železa. První z nich od doktora Sutilak Khwantrairata se věnovala screeningové metodě pro hledání vhodné bakterie, která dokáže tvořit železné nanočástice v kontaminované vodě. Druhá přednáška doktora Kattika Kaarja byla o schopnosti kapradorostu *Azolla Pinnata* tyto nanočástice železa přirozeně tvořit a zabývala se také hledáním odpovědných aktivních enzymů.

Bali je součástí největšího souostroví v jihovýchodní Asii - Indonésie. Velký vliv turismu a hinduistická většina zde tvoří bohatý kolorit, který je ve srovnání se zbývajícími ostrovy této země velice netypický. Náboženství se silně projevuje i do státní správy - například zákaz stavby nadjezdů a podjezdů silně komplikuje dopravní situaci. Jedná se o lokalitu s velice stabilními vysokými teplotami a tedy vyhledávané místo pro dovolenou i pro pracovní setkání prakticky celé Asie a Austrálie. Proto se na ostrově nachází velké množství hotelů a kongresových středisek. Bali je dále proslulé pro nízké ceny potravin i služeb. Bohužel se v důsledku přílivu turistů v tomto ohledu již téměř vyrovnalo se západními zeměmi.

Oprava poděkování k článku Tvorba ACE inhibitorů v mléce různými kmeny bifidobakterií, ML 147/2014.

Práce vznikla za finanční podpory projektu QI111B053 a institucionální podpory VÚM s.r.o., rozhodnutí RO1414.