

hodnoty CPM zjištěné prakticky druhý den po odběru jsou varující v případě, že mléko zakoupené spotřebitelem je často konzumováno až druhý den, a to bez tepelného ošetření, jak uvádějí *Hasoňová a kol. (2016)*.

Závěr

Teplota při skladování i čas jsou významnými faktory ovlivňujícími mikrobiologickou jakost mléka. Z výsledků pokusu vyplývá, že syrové mléko v mléčných automatech splňuje požadavek na celkový počet mikroorganismů daný právními předpisy. Je třeba si však uvědomit, že nárůst mikroorganismů je proces trvalý, navíc často podpořený ze strany spotřebitele nevhodnou manipulací.

Poděkování

Příspěvek byl zpracován s podporou Ministerstva zemědělství ČR (NAZV KUS QJ1510339) a Grantové agentury Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích (GAJU 002/2016/Z).

Seznam literatury

- BELLOQUE, J., CHICÓN, R., RECIO, I. (2009): Quality Control. 72-100, In: *Milk Processing and Quality Management*. Tamime A. Y., 1. United Kingdom: Blackwell Publishing, pp. 324 ISBN 978-1-405-14530-5.
- CEMPÍRKOVÁ, R., SAMKOVÁ, E., VYLETĚLOVÁ, M. (2012): Celkový počet mikroorganismů. 122-127, In: *Mléko: produkce a kvalita*. Samková E. a kol., vědecká monografie. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, 240 s. ISBN 978-80-7394-383-7.
- Česká technická norma EN ISO 4833-1(560083) Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda pro stanovení počtu mikroorganismů - Část 1: Technika přelivem a počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C, 2014, 12 s.
- ERKMEN, O., BOZOGLU, F. (2016): Principles of food spoilage. 269-279, In: *Food Microbiology: Principles Into Practice*. Erkmén O., Bozoglu F., USA: Wiley and sons, pp. 431 ISBN: 978-1-119-23776-1.
- HANTSIS-ZACHAROV, E., HALPERN, M. (2007): Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental Microbiology*, 22(73): 7162-7168.
- HASOŇOVÁ, L., BEEROVÁ, M., SAMKOVÁ, E. (2016): Chováme se k mléku správně? Průzkum spotřebitelského chování při zacházení se syrovým kravským mlékem. *Mlékařské listy - Zpravodaj*, 2016, 157: 27 (4): 13-18.
- HUSEK, V. (1988): Mléko - surovina pro mlékárenský průmysl. *Mlékařské listy*, 14, 86-88.
- INGRAHAM, J. L., MAALØE, O., NEIDHARDT, F. C. (2006): Microbial Growth. 126-152, In: *Microbe*. Ingraham J. L., Maaløe O., Neidhardt F. C., ISBN: 978-1-55581-320-8
- MOATSOU, G., MOSCHOPOULOU, E. (2014): Microbiology of raw milk. 1-37, In: *Dairy Microbiology and Biochemistry: Recent Developments*. Özer B., Akdemir-Evrendilek G., 1rd. Velká Británie: CRC Press, pp. 464 ISBN 978-1482235029.
- Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví specifické hygienické předpisy pro potraviny živočišného původu, v platném znění
- ROWE, M., GILMOUR, A. (1985): The present and future importance of psychrotrophic bacteria. *Dairy Industry International*, 50, 14-19.
- SAMARŽIJA, D., ZAMBERLIN, Š., POGAČIĆ, T. (2012): Psychrotrophic bacteria and milk and dairy products quality. *Mljekarstvo*, 62(2), 77-95.
- VYLETĚLOVÁ, M., HANUŠ, O., URBANOVÁ, E., KOPUNECZ, P. (2000): Výskyt a identifikace psychrotrofních bakterií s proteolytickou a lipolytickou aktivitou v bazénových vzorcích mléka v podmínkách technologií prvovýrobního uskladnění. *Czech Journal of Animal Science*, 45, 373-383.

Kontaktní adresa:

MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D., Katedra kvality zemědělských produktů, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Studentská 809, 370 05 České Budějovice, Česká republika, e-mail: hasonova@zf.jcu.cz

Přijato do tisku: 13. 3. 2017

Lektorováno: 28. 3. 2017

VLIV NISINU NA SMETANOVÉ KULTURY A POROVNÁNÍ JEHO ÚČINKU S NISIN PRODUKČNÍMI LAKTOKOKY PŘI VÝROBĚ SÝRŮ

Šárka Havlíková, Eva Kvasničková, Irena Němečková, Martin Mičlo

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Influence of nisin on mesophilic starters and the comparison of its effect with nisin-producing lactococci in the manufacturing of cheeses

Abstrakt

Cílem práce bylo porovnat vliv různého přídatku nisinu na jednotlivé smetanové kultury a otestovat přídatek nisinu a nisin produkujících laktokoků při poloprovozní výrobě nízkodohříváných sýrů. Vodivostní metodou bylo zjištěno, že prokysávání jednotlivých smetanových kultur bylo při použitých koncentracích nisinu různě opožděno. V poloprovozních výrobcích byla použita smetanová kultura DCC 232, nisin v podobě přídatku Nisaplinu, dva kmeny nisin produkujících laktokoků, enterokoky produkující enterocin a jako indikátorový kmen *Clostridium tyrobutyricum* 5T. Zvolená nízká dávka Nisaplinu nebo zaočkování mléka nisin produkčními kmeny laktokoků vedle smetanové kultury zcela potlačily růst klostridií a duření sýrů za současného dostatečného prokysání sýrů před solením. Využití nisin produkujících laktokoků se jeví jako možné za předpokladu výběru vhodné smetanové kultury a aplikaci přiměřené dávky.

Klíčová slova: nisin, laktokoky, *Clostridium tyrobutyricum*, nízkodohříváné sýry

Abstract

The aim of this work was to compare the influence of nisin preparation in various concentrations on several mesophilic starters and to test the addition of nisin preparation and nisin-producing lactococci in the manufacturing of semi-hard cheeses. Using a conductivity method, we found out that acidification by the mesophilic starters was

slowed down depending on the concentration of nisin preparation. In a pilot scale production, mesophilic starter DCC 232, nisin preparation Nisaplin, two strains of nisin-producing lactococci, enterocin-producing enterococci and *Clostridium tyrobutyricum* 5T as a control strain were used. The selected low concentration of Nisaplin or the addition of nisin-producing strains to milk together with the mesophilic starter entirely suppressed clostridial growth and cheese blowing without any deterioration of acidification in cheeses before brining. The application of nisin-producing lactococci seems to be possible providing that a suitable mesophilic starter is selected and a reasonable amount is used.

Keywords: nisin, lactococci, *Clostridium tyrobutyricum*, semi-hard cheeses

Úvod

Nisin patří do I. třídy lantibiotik typu A, což jsou malé peptidy s pozitivním nábojem produkované některými kmeny *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, a jeho antimikrobiální aktivita se projevuje tvorbou pórů v bakteriálních membránách (Chen a Hoover, 2003). Je často srovnáván s povrchově aktivními kationtovými detergenty, protože adsorpce na povrch buněčného obalu je nezbytným prvním krokem porušení buněčné membrány, následuje inaktivace sulfhydrylových skupin a zrušení gradientu pH a membránového napětí. Je účinný proti důležitým grampozitivním patogenům a technologicky škodlivým bakteriím - enterokokům, listeriím, stafylokokům, bacilům a klostridiím. Zároveň ale působí i proti technologicky významným bakteriím jako jsou laktobacily, laktokoky a leukonostoky. Nepůsobí na gramnegativní bakterie, kvasinky a plísně, ale i ty mohou být citlivé na jeho působení v případě, že jejich vnější membránová vrstva je nějakým způsobem poškozena, např. subletálním zářevem, mražením nebo chelatačními činidly. Producentické buňky laktokoků jsou samy chráněny dvěma imunitními systémy (Mc Auliffe a kol., 2001, Saris a kol., 1996).

Nisin je schválen jako potravinářské aditivum ve více než 50 zemích jako bezpečný s velmi nízkou toxicitou (FDA, 2006) s označením E 234. Jeho širšímu využití v mlékárenských výrobcích brání právě ta skutečnost, že působí i proti bakteriím v mlékárenských technologiích využívaným, a tudíž může ovlivňovat žádoucí procesy jako je dostatečné prokysávání sýrů. Použití kultur s ověřenou produkcí nisinu (Dušková a kol., 2009, Kunová a kol., 2014) k ochraně mlékárenských produktů je tak vlastně omezeno na přídavek nakultivovaných bakterií do hotového fermentovaného výrobku nebo do výrobků, u nichž neprobíhá žádná fermentace. Další možností je použití samotného nisinového přípravku do tavených sýrů, kde může zabránit jejich nadouvání (Davidson a kol., 2005, Fuquay, 2011).

Naším cílem bylo otestovat, jak citlivé jsou vůči nisinu jednotlivé smetanové kultury a do jaké míry ovlivňuje použití nisinu společně se smetanovými kulturami prokysávání mléka v počátečních fázích výroby. Dále jsme

chtěli ověřit v poloprovozním měřítku, zda je možné nisin produkční kmeny bez zásadních změn v technologických postupech využít proti klostridiím jako původcům pozdního duření sýrů a porovnat výsledky s použitím přídavku nisinového přípravku.

Materiál a metody

- Nisaplin: nisinový preparát (nisin z *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, deklarovaná účinnost > 1 mil. IU/g, Danisco, DK)
 - nisin produkující kmeny *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* CCDM 731 a CCDM 71 (CCDM *Laktoflora*[®], ČR)
 - kmen *Enterococcus faecium* CCDM 945 produkující enterocin (CCDM *Laktoflora*[®], ČR)
 - izolát ze sýra *Clostridium tyrobutyricum* 5T (VÚM s.r.o., ČR)
 - obnovené odstředěné mléko Laktino (RSM) (ARTIFEX Instant s.r.o., ČR)
- Smetanové kultury:
- FD, S62, S31 expediční kultury MILCOM a. s. (*Laktoflora*[®], ČR)
 - RSF 323, YY88 (Chr. Hansen's, DK)
 - MO32R a DCC232 - poskytnuté z (CCDM *Laktoflora*[®], ČR)
 - stanovení vodivosti přístrojem RABIT Bentley Czech & Don Whitley Czech (DWS, UK)
 - stanovení titrační kyselosti (°SH) a aktivní kyselosti pH metrem inoLab pH 720 (WTW, Weilheim, D)
 - stanovení nižších mastných kyselin izotachoforetickým analyzátozem EA 02 (VILLA Labeco, SK) SOP č. 23 MILCOM a. s.

1. Sledování vlivu nisinového přípravku na prokysávání mléka na přístroji RABIT

Pro stanovení vlivu přípravku Nisaplinu na kysací schopnost použitých smetanových kultur a pro testování autoimunity laktokokových kmenů produkujících nisin byla použita přímá vodivostní metoda pomocí přístroje RABIT. Do obnoveného mléka (RSM) zaočkovaného 1 % příslušné smetanové kultury nebo nisin produkujícím kmenem CCDM 71 a CCDM 731 byl přidán nisinový preparát v dávkách 0; 0,02; 0,1 a 0,2 g/l mléka. Takto připravené mléko bylo rozpipetováno do tub pro přímou metodu stanovení, tuby vloženy do cel v kultivačním bloku přístroje RABIT a kultivovány 48 h při 30 °C. Stejným způsobem byly připraveny dvě tuby s kontrolním vzorkem (RSM-KONTROLA bez inokula) pro kontrolu sterility živného média. Pokud se průběh dvojice vodivostních křivek nelišil, byla výsledná křivka průměrem hodnot ze dvou souběžných měření.

2. Sledování vlivu nisinového přípravku a nisin produkčních kmenů v pokusných poloprovozních výrobcích sýrů

Technologický postup byl zvolen tak, aby byl jednoduchý a opakovatelný a přitom zachovával principy

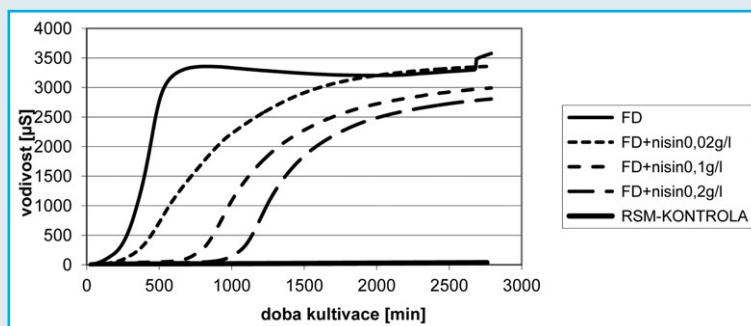
Tab. 1 Seznam testovaných kmenů přidanych do jednotlivých sérií

číslo série	testovaný kmen/ preparát
7	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> CCDM 71
8	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> CCDM 71 a CCDM 731, <i>Enterococcus faecium</i> CCDM 945
9	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> CCDM 731
10	<i>Enterococcus faecium</i> CCDM 945
11	<i>Enterococcus faecium</i> CCDM 945, Nisaplin

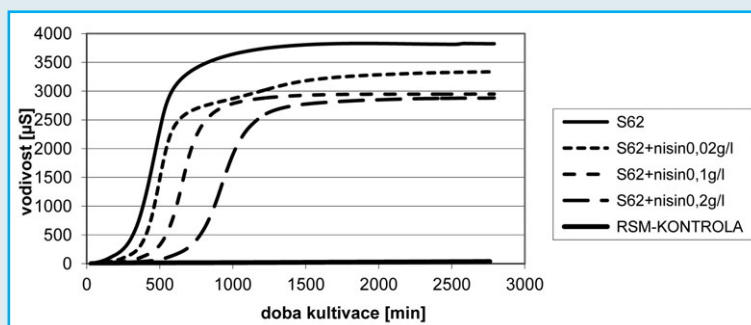
klasické výroby. Po celou dobu výroby a zrání byly sýry sledovány tak, aby byly zachyceny všechny změny ve složení a v zastoupení jednotlivých skupin mikroorganismů (laktokoky, enterokoky, halotolerantní, fakultativně heterofermentativní laktobacily a klostridia). U sýrů byly provedeny fyzikálně-chemické rozborů: pH, °SH, sušina, vodní aktivita (a_w), obsah soli a nižších mastných kyselin. Pokusné výroby byly provedeny s indikátorovým kmenem 5T izolovaným ze zduřelého sýra a identifikovaným jako *Clostridium tyrobutyricum* (Chramostová a kol., 2014). V jedné sérii byla vždy první kontrolní výroba pouze se smetanovou kulturou, druhá výroba s přidavkem testovaného bakteriocin-produkčního kmene či jejich kombinací, třetí výroba s přidavkem indikátorového kmene společně s bakteriocin-produkčním kmenem či jejich směsí a čtvrtá výroba pouze s přidavkem indikátorového kmene klostridií. Výběr testovaných kmenů, případně použití preparátu Nisaplinu, do jednotlivých sérií je uveden v tab. 1. V této práci jsou zařazeny výsledky až od série č. 7. V předchozích sériích byl jako indikátorový kmen použit jiný izolát, který však velmi málo sporuloval, v sýrech rostl pomalu a dosahoval jen nižších počtů. Kmen *Enterococcus faecium* CCDM 945 byl do testování zařazen, protože někteří autoři (Gálvez a kol., 2007) uvádějí synergický účinek nisinu a enterocinu a tento kmen vykazoval proti klostridiím účinek v laboratorních testech v "cheese-slurry"- sýrové hmotě (data dosud nepublikována).

Postup výroby: Mléko 5 litrů bylo pasterováno šetrnou pasterací 30 min při 65 °C, přidáno 0,3 ml/l chloridu vápenatého, zaočkováno tekutou mezofilní smetanovou kulturou (10,34-10,98 log CFU/ml) a vybranými kmeny a v jednom případě (série č. 11) i s přidavkem 0,02 g/l nisinového preparátu. Při teplotě 32-33 °C bylo mléko zasýřeno tekutým chymozinovým syřidlem o síle 1:15 000. Doba od přidavku ČMK do odtažení syrovátky byla 120 minut. Po odtažení 1/3 syrovátky byl přidán stejný objem prací vody a dosoušení probíhalo při teplotě 37-38°C po dobu 40 minut. Pak byla směs zrna se syrovát-

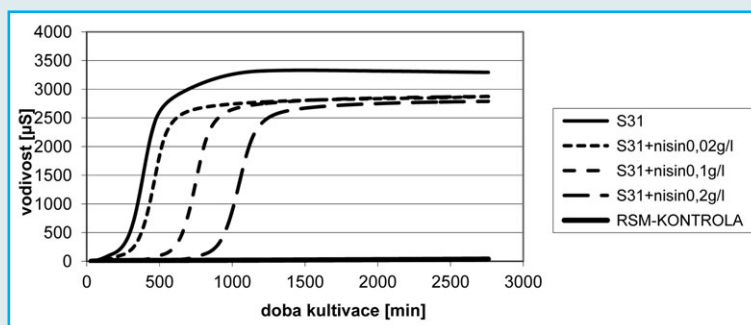
kou vypuštěna do lisovacích forem a 1 hodinu byly sýry lisovány za postupně se zvyšujícího tlaku. Celková doba výroby sýrů do konce lisování byla 250-260 minut. Prokysané sýry byly soleny 3,5 hodiny v 20 % solné lázni při teplotě 14 °C, osušeny a zabaleny do smrštitelné fólie. Sýry zrály při teplotě 15 °C. Vzorokly byly odebírány přibližně 1., 30., 60. a 90. den po výrobě a byly u nich provedeny fyzikálně-chemické rozborů a stanoveno zastoupení jednotlivých skupin mikroorganismů (Havlíková a kol., 2016). Veškeré výsledky uvedených rozborů jsou k dispozici u autorů.



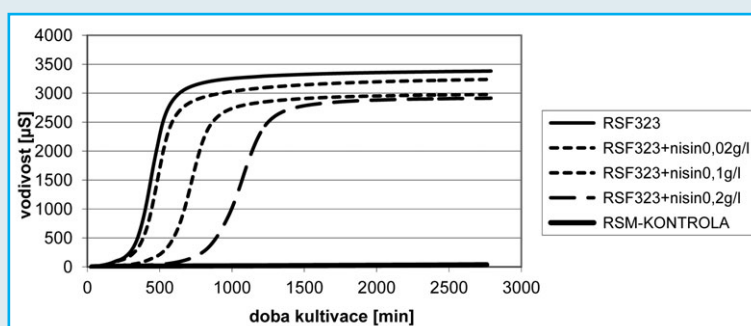
Obr. 1 Vliv přidavku Nisaplinu na růst smetanové kultury FD



Obr. 2 Vliv Nisaplinu na smetanovou kulturu S62



Obr. 3 Vliv Nisaplinu na smetanovou kulturu S31



Obr. 4 Vliv Nisaplinu na smetanovou kulturu RSF 323

Výsledky a diskuse

1. Sledování vlivu nisinového přípravku na prokysávání mléka na přístroji RABIT

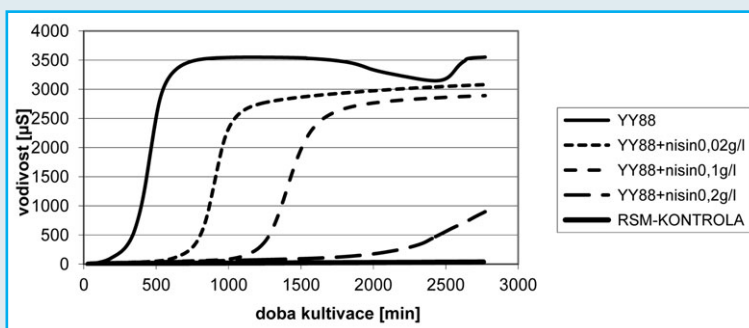
A. Testování smetanových kultur s přidavkem nisinu

Změna vodivosti měřená přímou metodou zachycuje poměrně přesně změnu obsahu organických kyselin v mléce. Na obrázcích 1-7 jsou uvedeny kysací křivky z průměru dvou souběžných měření prokysávání mléka s různými smetanovými kulturami bez přidavku a s přidavkem nisinu ve formě přípravku NISAPLIN ve třech koncentracích 0,02; 0,1 a 0,2 g/l mléka. Doporučené dávkování pro použitý nisinový preparát je výrobcem uváděno v rozmezí 0,025 - 0,5 g/l(kg) potraviny. Přesto jsme zvolili nižší polovinu tohoto intervalu, přičemž jsme vycházeli ze zkušeností z předcházejících prací a výsledků jiných autorů, kteří popisují inhibici kysání nisinem (Dall Bello a kol., 2013, Davidson a kol., 2005). Rezistence zákysových kultur vůči bakteriocinům je v literatuře uváděna jako klíčový faktor pro možnost využití bakteriocinů pro ochranu fermentovaných výrobků proti nežádoucím bakteriím (Gálvez a kol., 2007).

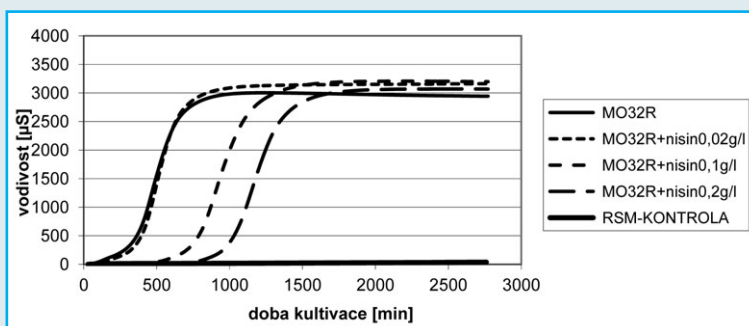
Ze záznamů průběhu kysacích křivek (Obr. 1-7) je zřejmé, že jednotlivé smetanové kultury se v citlivosti na nisin obsažený v aplikovaném přípravku značně liší. Dávka 0,1 a 0,2 g/l mléka zpomalovala prokysávání ve všech případech, kysací křivky jsou časově posunuté a v případě smetanové kultury FD a YY88 s přidavkem 0,2 g/l i jejich strmost menší oproti kysacím křivkám bez přidavku nisinového preparátu k testovaným smetanovým kulturám. Rovněž výška křivek, která odpovídá celkovému obsahu vytvořených organických kyselin je ve srovnání s křivkou zaočkovaného mléka bez nisinu nižší. Při dávce Nisaplinu 0,02 g/l mléka je zřejmý nejnižší rozdíl v průběhu kysacích křivek u smetanových kultur RSF 323 a MO32R, kde časový rozdíl v dosažení maxima křivky byl v řádu minut. Větší zpoždění prokysávání bylo zaznamenáno u smetanových kultur DSCC 232, S31 a S62 a největší u FD a YY88.

B. Testování autoimunity laktokokových kmenů produkujících nisin

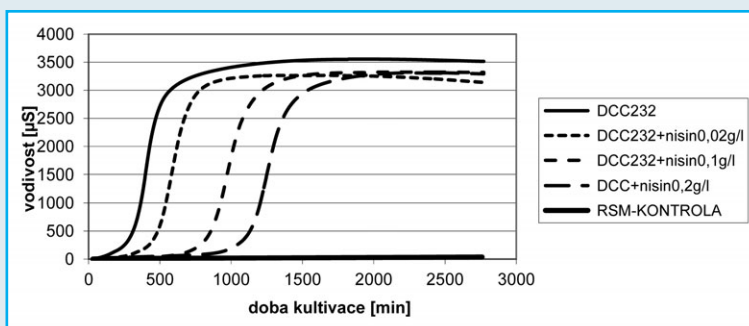
Za stejných podmínek byly testovány i oba nisin produkční kmeny laktokoků. Výsledné kysací křivky jsou uvedeny na obr. 8 - 9. Je zřejmé, že nisin ve formě Nisaplinu v žádné z aplikovaných koncentrací nebrzdil prokysávání mléka, křivky vodivosti jsou prakticky totožné s kontrolními, kde nisinový preparát nebyl přítomen, což



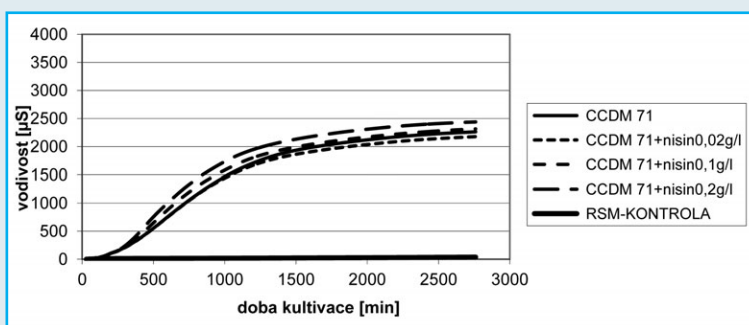
Obr. 5 Vliv Nisaplinu na smetanovou kulturu YY88



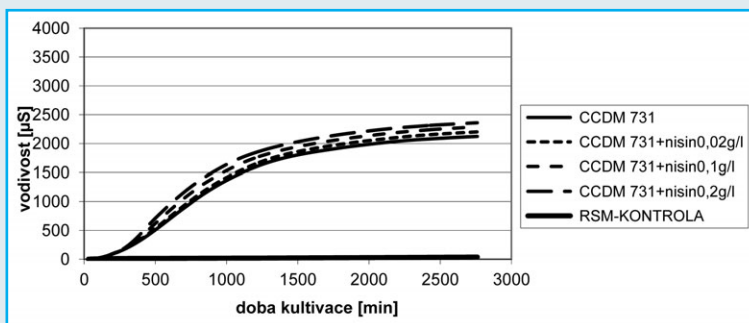
Obr. 6 Vliv Nisaplinu na smetanovou kulturu MO32R



Obr. 7 Vliv Nisaplinu na smetanovou kulturu DCC 232



Obr. 8 Vliv Nisaplinu na *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* CCDM 71



Obr. 9 Vliv Nisaplinu na *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* CCDM 731

potvrzuje imunitu bakteriocin produkčních kmenů (McAuliffe a kol., 2001, Klein a kol., 1994).

2. Sledování vlivu nisinového přípravku a nisin produkčních kmenů v pokusných poloprovozních výrobcích sýrů

Zatímco v mléce zaočkovaném smetanovou kulturou s přídavkem Nisaplinu zůstává veškerý bakteriocin v měřeném mléce, situace v sýrech je odlišná v tom, že při přídavku Nisaplinu část bakteriocinu v něm obsažená při zpracování zrna odejde do syrovátky a v sýru zůstává jen určitý podíl. Při zaočkování mléka nisinovou kulturou současně se smetanovým zákyssem sice dojde rovněž ke ztrátám nisinu naprodukovaného v prvních fázích kysání, ale bakterie jak smetanového zákysu tak nisin produkční kultury zůstávají zachyceny v sýrovém zrně, kde pokračuje jejich růst a vzájemné interakce. Nisin produkující laktokoky kromě tvorby nisinu přispívají tvorbou kyseliny

mléčné i k prokysání sýra a mohou nahradit předpokládané částečné potlačení smetanové kultury v této fázi výroby, viz výsledky testů uvedené v části 1-A.

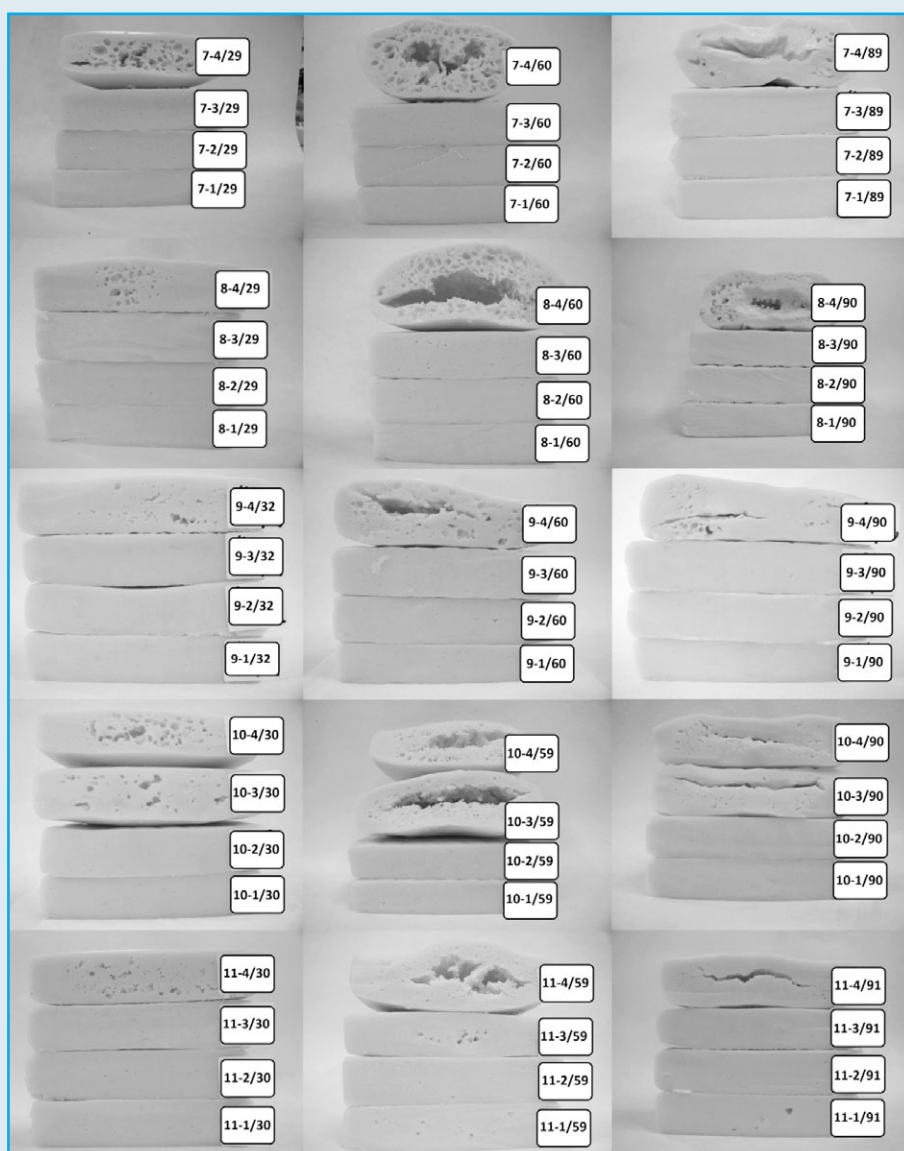
Výsledky poloprovozních výrob potvrzují, že při zaočkování smetanovou kulturou DCC232, která byla pro pokusné výroby zvolena právě pro její částečně omezenou kysací schopnost v přítomnosti Nisaplinu společně s jedním nebo druhým kmenem nisin produkčních laktokoků i jejich směsí nedošlo k omezení prokysání sýrů. Výsledné hodnoty obsahu kyseliny mléčné a pH po výrobě sýrů jsou uvedeny v tab. 2. Sýry s přídavkem nisin produkčního kmene prokysaly stejně jako kontrolní sýry. Konečná koncentrace nisinu ve vyrobeném sýru byla při nejnižší použité koncentraci přídavku Nisaplinu 0,02 g/l mléka a při zaočkování mléka nisin produkčním kmenem laktokoků či jejich kombinací dostatečná k potlačení klostridií kmene *Clostridium tyrobutyricum* 5T - sýry označené č. série - 3/stáří (dny) (Obr. 10). Je třeba podotknout, že ztráty nisinu

přidaného ve formě přípravku a vytvořeného buňkami laktokoků v syrovátce nelze porovnat. Vliv přídavku enterocin produkujícího kmene *Enterococcus faecium* CCDM 945 se v sérii č. 10 neprojevil. Lze proto předpokládat, že potlačení růstu indikátorového kmene klostridií v sérii č. 8 bylo způsobeno pouze vlivem nisin produkčních kmenů laktokoků CCDM 731 a CCDM 71 a v sérii č. 11 pouze vlivem přídavku nisinu ve formě Nisaplinu.

Závěr

U sedmi testovaných druhů smetanových kultur jsme zjistili rozdílnou reakci na přítomnost nisinu. Pro využití nisinového přípravku i nisin produkujících kmenů laktokoků ve výrobě sýrů je tedy nutné prověřit nejprve citlivost používané smetanové kultury na přítomnost nisinu.

Na základě poloprovozního odzkoušení 2 kmenů *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* CCDM 731 a CCDM 71 produkujících nisin a vybraného smetanového zákysu DCC 232 lze konstatovat, že produkce nisinu těmito kmeny jednotlivě i ve směsi byla dostatečná k potlačení duření nízkodohříváných sýrů, způsobeného indikátorovým kmenem *Clostridium tyrobutyricum* 5T. Zároveň nedošlo k omezení prokysávání sýrů během



označení: číslo série - číslo výroby/stáří (den)

č. výroby 1 = kontrolní výroba se smetanovou kulturou; 2 = přídavek testovaného kmene;

3 = přídavek klostridií a testovaného kmene; 4 = pouze přídavek klostridií

Obr. 10 Fofografická dokumentace sýrů série č. 7 až č. 11 během zrání

Tab. 2 Porovnání obsahu kys.mléčné a pH v sýrech první den po výrobě z jednotlivých sérií

vzorek	kys.mléčná mg/100g	pH
7-1/1	1340	5,07
7-2/1	1291	5,06
7-3/1	1343	5,05
7-4/1	1328	5,12
8-1/1	1129	5,14
8-2/1	1182	5,12
8-3/1	1174	5,12
8-4/1	1246	5,11
9-1/1	1068	5,14
9-2/1	1123	5,09
9-3/1	1097	5,13
9-4/1	1204	5,11
10-1/1	1141	5,12
10-2/1	1089	5,14
10-3/1	1143	5,15
10-4/1	1113	5,15
11-1/1	1047	5,18
11-2/1	1093	5,05
11-3/1	1139	5,10
11-4/1	1028	5,15

označení vzorku: č. série-č. výroby/stáří

výroby. Obdobného výsledku bylo dosaženo při aplikaci nízké dávky (0,02 g/l) nisinového přípravku Nisaplin do mléka před výrobou sýrů. Použití nisin produkčních kmenů k potlačení klostridií u nízkodohřivaných sýrů je tedy možné za předpokladu výběru vhodné smetanové kultury.

Poděkování

Tato práce vznikla za podpory MZe ČR, NAZV, projektu QJ1210302 v programu KUS a institucionální podpory dle rozhodnutí RO1417.

Literatura:

- DALL BELLO B., ZEPPA G., BIANCHI D. M., DECASTELLI L., TRAVERSA A., GALLINA S., COISSON J. D., LOCATELLI M., TRAVAGLIA F., COCOLIN L. (2013): Effect of nisin-producing *Lactococcus lactis* starter cultures on the inhibition of two pathogens in ripened cheeses. *International Journal of Dairy Technology* 66(4), s. 468-477.
- DAVIDSON M. P., SOFOS J. N., BRANEN A. L. (2005): *Antimicrobials in Foods*, CRC Press, USA, ISBN 0-8247-4037-8.
- DUŠKOVÁ M., ŠPANOVÁ A., DRÁB V., RITTICH B. (2009): Searching for genes of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* encoding the bacteriocin nisin using DNA/DNA hybridisation. *Czech journal of Food Science*, 72, Special Issue, s. 336-368.
- FDA (2006): Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 000065: August 2005. Washington, D.C.: Department of Health and Human Services. Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-g065.html>.
- FUQUAY J. W., FOX P. F., McSWEENEY P. L. H. (2011): *Encyclopaedia of Dairy Science*, 2nd Edition, Academia Press, NL, Amsterdam, ISBN 0-1237-4407-5.
- GÁLVEZ A., ABRIQUEL H., LÓPEZ R. L., BEN OMAR N. (2007): Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120, s. 51-70.
- HAVLÍKOVÁ Š., KVASNIČKOVÁ E., NĚMEČKOVÁ I. (2016): The testing of protective strains against late blowing in cheeses. Poster č. 67 + sborník abstrakt. IDF Parallel Symposia, 11. - 13. 4. 2016, Dublin, Irsko.
- CHRAMOSTOVÁ J., HAVLÍKOVÁ Š., PURKRTOVÁ S., NĚMEČKOVÁ I., ROUBAL P. (2014): Potenciál mikroorganismů při kažení mléka a mlékařských produktů. *Mlékařské listy*, 147, s. 17-20.

KLEIN C., ENTIAN K. D. (1994): Genes involved in self-protection against the lantibiotic subtilin produced by *Bacillus subtilis* ATCC 6633. *Applied and Environmental Microbiology* 60, s. 2793-2801.

KUNOVÁ G., SEDLAŘÍK V., KLIMEŠOVÁ M., RAŠKOVÁ Z., HYRŠLOVÁ I., ŠALAKOVÁ A., DRÁB V. (2014): Využití syrovátky jako růstového média pro nisin produkční kmeny laktokoků. *Mlékařské listy*, 146, s. 1-4.

McAULIFFE O., ROSS R. P., HILL C. (2001): Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action. *FEMS Microbiology Reviews*. 25, s 285-308.

SARIS P. E. J., IMMONEN T., REIS M., SAHL H-G. (1996): Immunity to lantibiotics. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 69, s. 151-159.

Korespondující autor:

Ing. Šárka Havlíková,

Sýrařské oddělení, Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.,
Soběslavská 841, 390 02 Tábor, ČR,
s.havlikova@vum-tabor.cz

Přijato do tisku: 13. 3. 2017

Lektorováno: 31. 3. 2017

VLIV SANITAČNÍCH ROZTOKŮ NA KVASINKY KONTAMINUJÍCÍ MLÉKÁRENSKÉ PROVOZY A NA JEJICH BIOFILMY

Irena Němečková¹, Zdeňka Hlaváčková¹,
Tereza Šebková¹, Jana Smolová¹, Vladislav Strmiska¹,
Šárka Horáčková²

¹ Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

² Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Influence of sanitation solutions on yeasts contaminating dairy plants and on their biofilms

Abstrakt

Kvasinky patří mezi významné původce kažení mlékárenských výrobků. A přestože např. v medicíně byla již jejich schopnost tvořit biofilmy, jakožto zdroje kontaminace, prostudována, v mlékárenství tyto poznatky dosud chybějí. Jak ukázala detekce biofilmů na mikrotitračních destičkách pomocí krystalové violeti, intenzita tvorby biofilmu kvasinkami je kmenově specifická. Schopnost tvořit biofilm zůstává zachována i u kvasinek přeživších sanitaci, přičemž snížení denzity kvasinek procesem sanitace může přispět ke zpomalení tvorby biofilmu. Jestliže jsou sanitační roztoky přítomny pouze ve velmi nízké koncentraci, mohou tvorbu biofilmu kvasinek jak stimulovat, tak inhibovat. Na tomto efektu mohla spolupůsobit řada faktorů. Rozdíly mezi sanitačními roztoky byly zjištěny i z dalších úhlů pohledu. Nejsilnější antimikrobiální účinek měly roztoky na bázi alkylypolyglykosidů, nejslabší roztoky na bázi kyselin. Při odstraňování biofilmů kvasinek byly nejúčinnější roztoky na bázi hydroxidů či chlornanů, nejméně účinné roztoky na bázi kyselin. Tato studie může