

- ČERNÁ E., MERGEL M. (1971): Laboratorní kontrolní metody v mlékařství. SNTL. ISBN 04-811-71.
- ČSN EN 1134 (1996): Ovocné a zeleninové šťávy – Stanovení obsahu sodíku, draslíku, vápníku a hořčičku atomovou absorpční spektrometrií (AAS). ČNI.
- ČSN ISO 5492 (2009): Senzorická analýza – Slovník. ÚNMZ.
- ISO/TS 17996 (2006): Cheese – Determination of rheological properties by uniaxial compression at constant displacement rate.
- LAZÁRKOVÁ Z., ŠOPÍK T., TALÁR J., PUREVDORJ K., SALEK R. N., BUŇKOVÁ L., ČERNÍKOVÁ M., NOVOTNÝ M., PACHLOVÁ V., NĚMEČKOVÁ I., BUŇKA F. (2021): Quality evaluation of white brined cheese stored in cans as affected by the storage temperature and time. *International Dairy Journal*, 121, 105105.
- NĚMEČKOVÁ I., HAVLÍKOVÁ Š., FOREJT J., ŠVANDRLÍK Z. (2020): Re-formulace čerstvých netermizovaných sýrů snižováním obsahu soli. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 179, s. 18-22.

Korespondující autor: Ing. Irena Němečková, Ph.D.,
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a,
160 00 Praha 6, e-mail: nemeckova@milcom-as.cz.

Přijato do tisku: 3. 11. 2021
Lektorováno: 15. 11. 2021

VLIV NEBAKTERIÁLNÍCH PŮVODCŮ MASTITID NA TECHNO- LOGICKÉ VLASTNOSTI MLÉKA – PRODUKCE LYTICKÝCH ENZYMŮ

Marcela Klimešová¹, Oto Hanuš¹, Hana Nejeschlebová¹,
Monika Morávková², Ivana Kucharovičová²,
Romana Bačová³, Petr Roubal¹, Růžena Seydlová¹,
Ludmila Nejeschlebová¹

¹ Výzkumný ústav mlékárenský, s.r.o., Praha

² Státní veterinární ústav, Jihlava

³ Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno

INFLUENCE OF NON-BACTERIAL MASTITIS PATHOGENS ON TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF MILK – PRODUCTION OF LYTIC ENZYMES

Abstrakt

Byla sledována tvorba lytických enzymů u nebakteriálních mikroorganismů *Candida* spp., *Pichia* spp., *Kluveromyces marxianus*, *Yarrowia lipolytica* a *Prototheca* spp. Testované kmeny byly očkovány na povrch Tributyrin Agar a GTK agaru s přísadkou sušeného mléka a kultivovány při 25 °C po dobu 1 až 5 dnů. Intenzita lytické zóny byla hodnocena pomocí stupňové škály. Všechny testované kmeny vykazovaly tvorbu lipolytických enzymů, vyjma *C. famata* a 50 % kmenů *P. kudriavzevii*. Produkce proteolytických enzymů byla detekována jen u kmenů *Y. lipolytica*, *C. famata*, *C. albicans* a *K. marxianus*.

Klíčová slova: kravské mléko; mikrořasy; kvasinky; proteolýza; lipolýza

Abstract

The formation of lytic enzymes in non-bacterial microorganisms *Candida* spp., *Pichia* spp., *Kluveromyces marxianus*, *Yarrowia lipolytica* and *Prototheca* spp. was monitored. The tested strains were inoculated on the surface of Tributyrin Agar and GTK agar with the addition of milk powder and cultivated at 25 °C for 1 to 5 days. The intensity of the lytic zone was evaluated using a scale. All tested strains showed production of lipolytic enzymes, except *C. famata* and 50% *P. kudriavzevii* strains. Production of proteolytic enzymes was detected only in strains of *Y. lipolytica*, *C. famata*, *C. albicans* and *K. marxianus*.

Keywords: cow milk; microalgae; yeast; proteolysis; lipolysis

Úvod

Proteolýza a lipolýza v syrovém mléce jsou důležitými faktory senzorické kvality a udržitelnosti mléčných výrobků i bezpečnosti mléčného potravinového řetězce. Syrové kravské mléko přijímá z epitelu mléčné žlázy, krve a somatických buněk menší množství enzymů (nativní enzymy), které mohou negativně ovlivňovat průběh technologických procesů. Vedle těchto enzymů jsou v mléce přítomné i enzymy mikrobiálního původu, které se vyznačují větší odolností vůči vyšším teplotám a mnohem vyšší aktivitou i při nižším pH (Pijanowski a kol., 1977; Driesen 1989; Fox a Stepaniak 1993; Hanuš a kol., 2016). Enzymy můžeme rozdělit do skupin podle typu katalyzované reakce. K nejdůležitějším skupinám enzymů v mléce patří hydrolázy, kam se řadí lipázy, proteázy, fosfatázy, amylázy a další.

V technologické praxi mají nejvýznamnější vliv na kvalitu mléka psychrotrofní mikroorganismy s tvorbou lytických enzymů. Převážnou většinu tvoří rod *Pseudomonas* a *Alcaligenes* (Muir a kol., 1979; Vyletětlová a kol., 1999; Vyletětlová a kol., 2000a; Baur a kol., 2015). Vedle výše zmíněných bakterií byly popsány i další druhy s lytickou aktivitou, jako např. *Bacillus cereus*, *B. licheniformis*, *B. weihenstephanensis*, *B. subtilis*, *Serratia marcescens*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* (Vyletětlová a kol., 2001; Parkash a kol., 2007). Výchozí koncentrace mikroorganismů s lytickými vlastnostmi a teplota skladovaného mléka má zásadní vliv na stabilitu mléčného tuku. Vyletětlová a kol. (2000b) determinovali pro *Pseudomonas fluorescens* hranici lipolytických změn chuťových vlastností mléka při překročení kritické hodnoty obsahu volných mastných kyselin (VMK) 49 mmol/kg. Výchozí koncentrace *P. fluorescens* v testovaných vzorcích byla $1,5 \times 10^5$ a $2,8 \times 10^6$ KTJ/ml a vzorky byly uchovávány při teplotě 6,5 a 14 °C. Vzorky při teplotě 14 °C dosahovaly této hranice po 56 a 64 hodinách (při srovnání nižší a vyšší výchozí koncentrace) a vzorky s nižší skladovací teplotou 6,5 °C až po 90 a 140,5 hodinách (nižší a vyšší koncentrace).

Mezi producenty lytických enzymů mikrobiálního původu se řadí také kvasinky rodu *Candida*, *Kluyveromyces*, *Pichia* a *Yarrowia*. Enzymatická aktivita byla zjištěna i u kmenů mikrořasy *Prototheca zopfii* izolovaných z mastitidního mléka dojníc. Předpokládá se, že tato enzymatická aktivita je možným faktorem virulence a faktorem podporujícím invazi prototék (Krukowski a kol., 2012). Pozitivní tvorba proteázy a fosfolipázy byla u kvasinek potvrzena u rodu *Candida* a druhu *Y. lipolytica* (Roostita a Fleet, 1996; Lanciotti a kol., 2005; de Souza-Ramos a kol., 2015; Elsharawy a kol., 2019).

Cílem této studie bylo sledování tvorby lytických enzymů nebakteriálních původců mastitid (kvasinky a řasy), izolovaných z bazénových vzorků syrového kravského mléka.

Materiál a metoda

Výběr kultivačních pūd

a) Lipolytické enzymy

Pro potvrzení schopnosti tvorby lipolytických enzymů byly testovány následující kultivační pūd:

- Tributyrin Agar (Oxoid)
- GKCH agar s přidavkem tributyrinu do výsledné 1% obj. koncentrace (Milcom Tábor + tributyrin Sigma Aldrich)
- GTK agar s přidavkem tributyrinu do výsledné 1% obj. koncentrace (Milcom Tábor + tributyrin Sigma Aldrich)

Pro následnou analýzu byl vybrán jako nejvhodnější Tributyrin Agar.

b) Proteolytické enzymy

Pro potvrzení schopnosti tvorby proteolytických enzymů byly testovány následující kultivační pūd:

- SkimMilk Agar (HiMedia)
- GTK (Milcom, Tábor) + MilkPowder (Oxoid). GTK agar byl nejdříve sterilizován při teplotě 105 °C/10 minut, vychlazen na 55 °C a pak bylo přidáno sušené mléko tak, aby jeho výsledná koncentrace byla 2,8 % (dle předpisu pro SkimMilk Agar).

Lepší výsledky vykazoval agar GTK s obsahem mléka.

Postup zkoušky

Celkem bylo testováno 136 kmenů kvasinek a 7 kmenů řas, izolovaných z bazénových vzorků syrového kravského mléka: *Kluyveromyces marxianus* (dříve *C. kefyri*; n = 26), *C. inconspicua* (n = 10), *Pichia kudriavzevii* (dříve *C. krusei*; n = 20), *Pichia fermentans* (dříve *C. lambica* (n = 11), *C. parapsilosis* (n = 20), *C. albicans* (n = 7), *C. rugosa* (n = 8), *C. guilliermondii* (n = 4), *C. tropicalis* (n = 11), *C. famata* (n = 3), *C. lusitaniae* (n = 4), *C. glabrata*

(n = 2), *Yarrowia lipolytica* (n = 10), *Prototheca bovis* (dříve *P. zopfii* gen. 2; n = 5) a *P. blaschkeae* (n = 1).

Vybrané kmeny byly pomnoženy v BHI bujonu při teplotě 25 °C/24 hodin. Poté byly očkované na povrch GKCH media a opět kultivovány při teplotě 25 °C po dobu 1-3 dnů (*Prototheca*) a max. 5 dnů (kvasinky). Jako kontrolní kmeny byly použity *P. fluorescens* (vlastní sbírkový kmen LM 23) a *Pseudomonas aeruginosa* (CCM 3955). Kmeny byly následně očkované kličkou (křížový rozřer) na povrch vybraných pūd (Tributyrin Agar a GTK agar s přidavkem sušeného mléka) a opět kultivovány při 25 °C po dobu 1 až 5 dnů. Intenzita projasnění (lytická zóna) byla hodnocena pomocí stupňové škály (+), ++, +++ a ++++. Kmeny bez tvorby lytických enzymů byly označeny jako negativní.

Výsledky a diskuse

Výsledky produkce a intenzity tvorby lytických enzymů jsou uvedeny v Tabulce 1. Všechny testované kmeny vykazovaly tvorbu lipolytických enzymů, vyjma *C. famata*. V případě *P. kudriavzevii* bylo 50 % negativních a 50 % slabě pozitivních kmenů. Nejintenzivnější tvorba byla potvrzena u kmenů *Y. lipolytica*, dále pak poloviční intenzitu (ve srovnání s kmeny *Y. lipolytica*) vykazovaly kmeny *P. bovis* i *P. blaschkeae*, *C. rugosa*, *C. tropicalis* a *C. albicans*. Pozitivní tvorba proteolytických enzymů byla detekována jen u kmenů *Y. lipolytica* (80 %), *C. famata* (100 %), dále pak u 1 kmene *C. albicans* (16,6 %) a 16 kmenů *K. marxianus* (61,5 %). Nejintenzivnější tvorba byla potvrzena opět u kmenů *Y. lipolytica* (Tabulka 1).

Produkce lytických enzymů u kvasinek byla potvrzena již v dřívějších studiích. De Souza-Ramos a kol. (2015)

Tab. 1 Výsledky testování lytických enzymů

n	kmen	lipolýza					proteolýza				
		neg.	(+)	+	++	++++	neg.	(+)	+	++	++++
26	<i>K. marxianus</i> (<i>C. kefyri</i>)		26				10	9	5	2	
10	<i>C. inconspicua</i>		6	3		1	10				
20	<i>P. kudriavzevii</i> (<i>C. krusei</i>)	10	10				20				
11	<i>P. fermentans</i> (<i>C. lambica</i>)			11			11				
20	<i>C. parapsilosis</i>		2	18			20				
7	<i>C. albicans</i>			3	4		6		1		
8	<i>C. rugosa</i>				8		8				
4	<i>C. guilliermondii</i>			4			4				
11	<i>C. tropicalis</i>			1	10		11				
3	<i>C. famata</i>	3						1	1	1	
4	<i>C. lusitaniae</i>			4			4				
2	<i>C. glabrata</i>			2			2				
10	<i>Y. lipolytica</i>					10	2	1	1		6
5	<i>P. bovis</i> (<i>P. zopfii</i> gen. 2)				5		5				
1	<i>P. blaschkeae</i>				1		1				

Vysvětlivky: n = počet kmenů; neg. = negativní tvorba enzymů

detekovali ve shodě s naším sledováním přítomnost proteolytických enzymů u kmenů *C. albicans* (100 %) a *C. famata* (63,6 %). Na rozdíl od našich výsledků byla však pozitivní tvorba identifikována i u kmenů *C. tropicalis* (66,7 %) a *C. parapsilosis* (93,8 %). Shodná lipolytická aktivita s naší studií byla jen u kmenů *C. albicans* a *C. famata* (v obou případech 100 %). Seydlová a kol. (2009) potvrdili nárůst volných mastných kyselin (VMK) a aminokyselin (AMK) u vzorků mléka v závislosti na koncentraci *C. lusitaniae* ve vzorcích syrového kravského mléka. Nejvyšší rozdíly mezi výchozí a nejvyšší koncentrací *C. lusitaniae* byly zjištěny v případě AMK u fenylalaninu, leucinu a isoleucinu. V případě VMK došlo také k jejich mírnému nárůstu, ale rozdíl mezi výchozí a nejvyšší koncentrací *C. lusitaniae* nebyl tak výrazný.

Technologický význam mají kvasinky *Y. lipolytica*, které se osvědčily i jako významný kmen při zrání sýrů. Potenciál tohoto druhu jako zdroje proteáz nebo jako činidla pro zrychlené zrání sýrů popsali např. v roce 1998 Guerzoni a kol. Ve své studii potvrdili, že zrání sýrů naočkovaných *Y. lipolytica* bylo hodnoceno příznivě i z hlediska senzoričských vlastností. Lanciotti a kol. (2005) testovali vliv kmenů *Y. lipolytica* na mikrobiologické a biochemické vlastnosti sýrů a zjistili, že kmeny byly schopné překonat i přirozeně se vyskytující jiné kvasinky a byly kompatibilní s bakteriemi mléčného kvašení. Pozitivní vliv měly i testované kmeny *Y. lipolytica* při zrání sýru holandského typu. Szoltysik a kol. (2013) potvrdili, že přítomnost *Y. lipolytica* urychlila jejich proces zrání.

Seydlová a kol. (2009) ve své práci sledovali lytické schopnosti *P. zopfii* a potvrdili, že svojí enzymatickou činností, tj. snižováním obsahu tuku, bílkovin a nárůstem obsahu volných AMK a VMK, poškozují původní složení syrového kravského mléka. Prototěky se nedávno ukázaly také jako významný původce bovinní mastitidy. Jagielski a kol. (2019) analyzovali 400 vzorků kravského mléka. Nejčastějšími mastitidními patogeny byly bakterie rodu *Streptococcus* spp. a *Staphylococcus* spp., na třetím místě pak *Prototheca* spp. Celková prevalence prototěkové mastitidy byla 8,3 %, přičemž většina (75,8 %) případů měla subklinický průběh a všechny kromě jednoho výsledku byly identifikovány jako *P. zopfii* genotyp 2 (*P. bovis*). Krukowski a kol. (2012) uvádějí ve své práci seznam lytických enzymů produkovaných *P. zopfii* (fosfatázy, leucin arylamidázy, naftol-AS-BI-fosfohydrolázy, esterázy, lipázy esterázy, valin arylamidázy, alkalické fosfatázy a lipázy C 14). Shodně s našimi výsledky identifikovali lipolytické enzymy. Na rozdíl od negativní tvorby proteolytických enzymů v naší studii, potvrdili i výskyt některých enzymů, podílejících se na rozkladu aminokyselin, což nebylo v naší studii předmětem sledování.

Závěr

Přítomnost mikroorganismů s lytickými vlastnostmi nebo jejich termostabilních enzymů v mléce má zásadní

vliv na senzoričskou kvalitu a údržnost mléčných výrobků. Kromě bakterií mohou produkovat výše zmíněné enzymy i kvasinky či řasy. Na základě naší studie, lipolytická aktivita byla u sledovaných kmenů kvasinek a řasy *Prototheca* spp. výraznější než proteolytická. Nejvyšší lipolytickou i proteolytickou aktivitu jsme podle očekávání sledovali u *Y. lipolytica*. Tyto nebakteriální agens jsou též zdrojem kontaminace mléčné žlázy a lze je izolovat i z různých zdrojů prostředí prvovýroby mléka. Kvasinky se dobře pomnožují v mléčných produktech a ovlivňují senzoričské vlastnosti převážně fermentovaných a slazených produktů. Z toho důvodu je při výrobě mléčných produktů důležitá kontrola zdrojového mléka nejen na přítomnost mikroorganismů s lytickými vlastnostmi, ale i na aktivitu enzymů po tepelném ošetření mléka.

Poděkování:

Příspěvek vznikl za podpory projektů MZe ZEMĚ QK1910092 a MZe RO1421.

Literatura

- BAUR C., KREWINKEL M., KRANZ B., NEUBECK M., WENNING M., SCHERER S., STOECKEL M., HINRICHS J., STRESSLER T., FISCHER L. (2015): Quantification of the proteolytic and lipolytic activity of microorganisms isolated from raw milk. *International Dairy Journal*, 49, s. 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.04.005>
- DE SOUZA-RAMOS L., BARBEDO L.S., BRAGA-SILVA L.A., DOS SANTOS A.L., PINTO M.R., SGARBI D.B. (2015): Protease and phospholipase activities of *Candida* spp. isolated from cutaneous candidiasis. *Revista Iberoamericana Micología*, 32 (2), s. 122–125. doi: 10.1016/j.riam.2014.01.003
- DRIESSEN F.M. 1983. Lipases and proteinases in milk. Occurrence, heat inactivation, and their importance for the keeping quality of milk products. Ph.D. Diss., Agricultural University Wagen-ingen, Netherlands, ps. 23.
- ELSHARAWY T., MOHAMED H., ELBARBARY H.A., SALEM R.M., EL-DIASTY E.M. (2019): Incidence of fungi in kareish cheese from raw milk and trials to control them. *Benha Veterinary Medical Journal*, 37, s. 97–101. DOI:10.21608/bvmj.2019.16978.1091
- FOX P.F., STEPANIÁK L. (1993): Enzymes in cheese technology. *International Dairy Journal*, 3 (4-6), s. 509–530. doi.org/10.1016/0958-6946(93)90029-Y
- GUERZONI M.E., VANNINI L. LOPEZ, C.CH. (1998): Yarrowia lipolytica as potential ripening agent in milk products. *International Dairy Federation*, ps. 184. ISBN 92 9098 027 X. ps. 184.
- HANUŠ O., HEGEDUŠOVÁ Z., JEDELSKÁ R., KOPECKÝ J. (2016): Vybrané aspekty lipolýzy a proteolýzy v syrovém kravském mléce s ohledem na jeho kvalitu ve vztahu k výskytu mastitid a ketózy. Přednáška. Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha, 3.11.2016 Hustopeče (ČMSCH a.s.)
- JAGIELSKI T., KRUKOWSKI H., BOCHNIARZ M., PIECH T., ROESKE K., BAKUŁA Z., WLAZŁO L., WOCH P. (2019): Prevalence of *Prototheca* spp. on dairy farms in Poland – a cross-country study. *Microbial Biotechnology*, 12 (3), s. 556–566. doi:10.1111/1751-7915.13394
- KRUKOWSKI H., LISOWSKI A., NOWAKOWICZ-DEBEK B., WLAZŁO Ł. (2012): Enzymatic activity of *Prototheca zopfii* strains isolated from cows with mastitis. *Polish Journal of Microbiology*, 61 (3), s. 217–218. PMID: 29334050
- LANCIOTTI R., VANNINI L., LOPEZ C.CH., GOBBETTI M., GUERZONI M.E. (2005): Evaluation of the ability of *Yarrowia lipolytica* to impart strain-dependent characteristics to cheese when used as a ripening adjunct. *Dairy Technology*, 58 (2), s. 89–99. doi.org/10.1111/j.1471-0307.2005.00197.x
- MUIR D.D., PHILLIPS J.D., DALGLEISH D.G. (1979): The lipolytic and proteolytic activity of bacteria isolated from blended raw milk, *Journal of Dairy Technology*, 32, s. 19-23.

- PARKASH M., RAJASEKAR K., KARMEGAM. N. (2007): Bacterial population of raw milk and their proteolytic and lipolytic activities. *Research Journal of Basic and Applied Sciences*, 3, s. 848–851.
- PIJANOWSKI E. (1977): Základy chémie a technológie mliekarstva. Vydala Príroda, vydavateľstvo kníh a časopisov, n.p. 1977, ps. 506.
- ROOSTITA R., FLEET G.H. (1996): Growth of yeasts in milk and associated changes to milk composition. *International Journal of Food Microbiology*, 31 (1–3), s. 205–219. DOI: 10.21608/bvmj.2019.16978.1091
- SEYDLOVÁ R., SNÁŠELOVÁ J., SOUKUPOVÁ A. (2009): Vliv obsahu *Prototheca zopfii* a *Candida lusitanae* na kvalitu syrového mléka. *Mlékařské listy-zpravodaj*, 112, s. 15–22.
- SZOŁTYSIK M., DĄBROWSKA A., BABIŃ K., POKORA M., ZAMBROWICZ A., POLOMSKA X., WOJTATOWICZ M., CHRZANOWSKA J. (2013): Biochemical and microbiological changes in cheese inoculated with yarrowia lipolytica yeast. *Food Science Technology Quality*. 20.10.15193/zntj/2013/89/049-064.
- VYLETĚLOVÁ M., HANUŠ O., PÁČOVÁ Z., ROUBAL P., KOPUNECZ P. (2001): Frequency of *Bacillus* bacteria in raw cow's milk and its relation to other hygienic parameters. *Czech Journal of Animal Science*, 46 (6), s. 260–267.
- VYLETĚLOVÁ M., HANUŠ O., URBANOVÁ E., KOPUNECZ P. (2000a): The occurrence and identification of psychrotrophic bacteria with proteolytic and lipolytic activity in bulk milk samples at storage in primary production conditions. *Czech Journal of Animal Science*, 45, s. 373–383.
- VYLETĚLOVÁ M., FICNAR J., HANUŠ O. (2000b): Effects of lipolytic enzymes *Pseudomonas fluorescens* on liberation of fatty acids from milk fat. *Czech Journal of Food Sciences*, 18 (5), s. 175–182.
- VYLETĚLOVÁ M., HANUŠ O., URBANOVÁ E. (1999): Occurrence and identification of proteolytic and lipolytic psychrotrophic bacteria in bulk samples of cow's milk. *Veterinářství*, 11 (49), s. 480–482.

Korespondující autor:

doc. RNDr. Marcela Klimešová, Ph.D.,
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a,
160 00 Praha 6, e-mail: marcela.vyletelova@seznam.cz

Přijato do tisku: 25. 10. 2021

Lektorováno: 15. 11. 2021

DRUHOVÉ ZASTOUPENÍ MIKROORGANISMŮ V PEKAŘSKÝCH KVASECH

Olga Bazalová, Jaromír Cihlář, Vladimír Dráb,
Markéta Markvartová, Miloslava Kavková
Výzkumný ústav mlékárenský, s.r.o., Tábor

MICROBIAL SPECIES COMPOSITION OF THE SOURDOUGHS

Abstrakt

Kvasy představují heterogenní a živné prostředí pro řadu mikroorganismů. Druhové složení bakterií a kvasinek kolonizujících kvasy je ovlivněno mnoha faktory. U souboru 13 kvasů jsme sledovali základní vlastnosti jako je pH, typ používané mouky či prostředí, ve kterém je kvas zpracováván. Z kvasů jsme získali přibližně 500 izolátů, které byly zařazeny do 17 druhů bakterií mléčného či octového kvašení a 11 druhů

kvasinek. V analyzovaných vzorcích se společně vyskytovaly nejčastěji tři druhy bakterií spolu s jedním až dvěma druhy kvasinek. Nejčastěji zastoupeným bakteriálním druhem byl *Lactiplantibacillus plantarum*, v případě kvasinek to pak byla kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*. Statistická analýza získaných výsledků pak ukázala, že důležitým faktorem ovlivňujícím druhovou rozmanitost našeho souboru kvasů je pouze druh používané mouky.

Klíčová slova: kvas, bakterie mléčného kvašení, kvasinky

Abstract

The sourdough comprise heterogenic and nutritive environment for many microorganisms such as bacteria and yeasts. The microbial composition of the sourdough is affected by many factors. In our study we evaluated 13 sourdoughs, which varied in pH, the type of flour, and their origin. Totally, 500 isolates of 17 lactic or acetic acid bacteria species and 11 yeast species were isolated, cultured and identified by phenotypic and molecular methods. *Lactiplantibacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* were identified as the most abundant bacteria and yeast species, respectively. Statistical analysis revealed the type of flour is the main factor determining the microbial variability in obtained sourdough samples.

Keywords: sourdough, lactic acid bacteria, yeasts

1. Úvod

Pekařské výrobky, především pak chléb, patří mezi základní lidské potraviny. Použití kvasné technologie pro výrobu chleba se traduje od doby před více než šesti tisíci lety. Dodnes patří kváskový chléb k vyhledávaným pekařským produktům, u nás i v zahraničí, především pro své nutriční a organoleptické vlastnosti a v neposlední řadě pro svoji chuť (De Vuyst a Neysens, 2005; Poutanen, Flander a Katina, 2009; Galle a Arendt, 2014; Gänzle, 2014; Landis *et al.*, 2021). Kvas či kvásek představuje heterogenní a živné prostředí pro řadu mikroorganismů jako jsou bakterie a kvasinky.

Druhové složení bakterií a kvasinek v kvasu je ovlivněno mnoha faktory, jako jsou například druh používané mouky, pH, teplota a technologický postup zpracování kvasu (Meroth, Hammes a Hertel, 2003; Vogelmann *et al.*, 2009; Vrancken *et al.*, 2010, 2011; Minervini *et al.*, 2012; Lin a Gänzle, 2014). Dále ale také faktory, které jsou kontrolovatelné pouze do určité míry. Mezi ně patří například kontaminace mikroorganismy z prostředí, ve kterém je kvas zpracováván (De Vuyst *et al.*, 2009; Di Cagno *et al.*, 2014).

Nejčastějšími mikroorganismy, které se v kvasech vyskytují, jsou bakterie mléčného kvašení (BMK), nejčastěji druhy *Fructilactobacillus sanfranciscensis* a *Lactiplantibacillus plantarum*. Velmi častými jsou také bakterie z rodů *Leuconostoc*, *Weissella* a *Pediococcus*,