

- 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*,

méně častými jsou pak bakterie z rodu *Lactococcus*, *Enterococcus* a *Streptococcus* (De Vuyst a Neysens, 2005; De Vuyst a Vancanneyt, 2007; Savić *et al.*, 2007; Gänzle a Ripari, 2016; Landis *et al.*, 2021). Nejčastějšími kvasinkami, které jsou v kvasech identifikovány, jsou kvasinky z rodu *Saccharomyces*, nejčastěji *Saccharomyces cerevisiae*. Jako další jsou z kvasů izolovány kvasinky z rodu *Candida*, *Kazachstania* a *Pichia*, méně často pak *Hanseniaspora*, *Wickerhamomyces* či *Naumovozyma* (Corsetti *et al.*, 2001; Gullo *et al.*, 2003; Lhomme *et al.*, 2016; Gaglio, Alfonso a Francesca, 2017; Landis *et al.*, 2021).

Bakterie a kvasinky jsou v současné době určovány převážně na základě morfologických vlastností jejich kolonií na pevné matrici (půdě), či buněk v mikroskopickém obraze. Dále se rody a druhy určují dle fenotypových vlastností, chemotaxonomie a v neposlední řadě také za použití molekulárně-biologických metod. Mezi nejčastěji používané molekulární metody patří identifikace organismu na základě nukleotidové sekvence DNA, či RNA za použití polymerázové řetězové reakce (PCR). Pomocí univerzálních, nebo specifických sad primerů je amplifikován příslušný úsek genu (či genů), který je následně sekvencován. K přesnému určení druhu je u bakterií nejčastěji používána sekvence části 16S rDNA

genu, u kvasinek pak Internal Transcribed Spacer (ITS) (Weisburg *et al.*, 1991; Schoch *et al.*, 2012).

Cílem této studie bylo vyhodnotit a vzájemně porovnat druhovou diverzitu mikrobiálního složení u souboru tuzemských kvasů. Odlišné složení vzhledem k typu mouky, různému pH a původu kvasu byly hlavními parametry, u kterých jsme předpokládali, že budou druhové spektrum bakterií a kvasinek v kvasech ovlivňovat. V neposlední řadě nás zajímalo, zda je celková druhová rozmanitost v kvasu ovlivněna stejnými parametry.

## 2. Materiál a metody

### 2.1. Soubor použitých kvasů

Kvasy (souhrn v tabulce 4) byly získány na základě poptávky naší laboratoře z malých pekáren (AM, BAK, DNV, DR, MK, PENO), či od jednotlivců (DUA, DVZ, DZU, MAT, PEM, REL, SAL). Část kvasu byla zamrazena (cca 20 g) v  $-70$  °C pro případné budoucí použití. Navážka 2 g kvasu byla odebrána pro mikrobiologickou kontrolu a izolaci mikroorganismů a část kvasu (cca 5 g) byla použita pro stanovení hodnot pH. Pokud kvas nebyl aktivní, došlo k jeho oživení dle postupu uvedeného dodavatelem a odběry byly učiněny poté, co byl kvas v dobré kondici.

Tab. 1 Půdy použité pro izolaci bakterií a kvasinek z kvasů

Skupina MO	Půda	Složení/zdroj	Suplement	Kultivace
bakterie	FHN	Proteose pepton (Oxoid) 10 g, Lab lemco (Oxoid) 10 g, Kvasn. autolyzát 1 g, manitol 20 g, MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O 0,1g, MnSO <sub>4</sub> x 4H <sub>2</sub> O 0,1 g, Tween 80 1 ml, 1M acetátový pufr (pH 5,4) 200 ml (1M CH <sub>3</sub> COOH 29 ml + 1M CH <sub>3</sub> COONa 171 ml), agar 15 g, destil. voda 990 ml	vancomycine (50 mg/L) kyselina nalidixová (40 mg/L)	30 °C, anaerobní, 5 dní
	GM17	M17 agar (Oxoid)	glukóza (1 % wt/vol) sacharóza (5 % wt/vol) pimaricin (18 U/ml)	25 °C, aerobní, 5 dní
	HiCrome Nickels and Leesment	Himedia		25 °C, aerobní, 5 dní
	Lactic Bacteria Differential Broth	Himedia		30 °C, anaerobní, 5 dní
	MRS - MFR	MRS agar (Merck)	maltóza, fruktóza, ribóza (vše 1 % wt/vol)	30 °C, anaerobní, 5 dní
	MRS - FGGM	Proteose tryptone (Oxoid) 10 g, Lab lemco (Oxoid) 10 g, Kv. extrakt 4 g, K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 2g, MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O 0,1g, MnSO <sub>4</sub> x 4H <sub>2</sub> O 0,1 g, Tween 80 1 ml, NH <sub>4</sub> citrát 2g, destil. voda 900 ml, pH 5,6, agar 12 g	fruktóza, glukóza, maltóza, (každý 0,7 % wt/vol) a glukonát sodný (0,2 % wt/vol)	30 °C, anaerobní, 5 dní
	M103	APT broth (Himedia) 46,2 g, Maltosa 7 g, Fruktosa 7 g, Glukonát sodný 2 g, agar 12 g, destil.voda 1000 ml, pH 6,3	pimaricin (18 U/ml) cystein HCL (0,05 % wt/vol)	30 °C, anaerobní, 5 dní
	M225	Malt extrakt (Merck) 25 g, Kvasn.extrakt 3 g, Čerstvý kvasn. extrakt 15 ml, Tween 80 0,3 ml, Trypton 6 g, agar 12 g, destil. voda 1000 ml, pH 5,6		30 °C, anaerobní, 5 dní
	SACH	Tryptone 10 g, Lab lemco(Oxoid) 8 g, Kv. extrakt 4 g, K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 2 g, Tween 80 1 ml, NH <sub>4</sub> citrát 2 g, Octan sodný 5 g, MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O 0,2 g, MnSO <sub>4</sub> x 4H <sub>2</sub> O 0,04 g, agar 12 g, pH 6,8, destil. voda 900 ml	sacharóza (5 % wt/vol)	30 °C, anaerobní, 5 dní
WYD	Wheat peptone (Sigma Aldrich 93492) 10 g, Kvasničný extrakt 5 g, glukóza 20 g, agar 12 g, destil. voda 1000 ml		30 °C, anaerobní, 5 dní	
kvasinky	MEA	Himedia		25 °C, aerobní, 5 dní
	SDA	Trypton 5 g, masový pepton 5 g, glukóza 40 g, agar 15 g, pH 5,6	chloramfenikol (20 µg/ml)	25 °C, aerobní, 5 dní
	WYD	Wheat peptone (Sigma Aldrich 93492) 10 g, Kvasničný extrakt 5 g, glukóza 20 g, agar 12 g, destil. voda 1000 ml	chloramfenikol (20 µg/ml)	25 °C, aerobní, 5 dní
	WYM	Wheat peptone (Sigma Aldrich 93492) 10 g, Kvasničný extrakt 5 g, maltóza 10 g, agar 12 g, destil. voda 1000 ml	chloramfenikol (20 µg/ml)	25 °C, aerobní, 5 dní

## 2.2. Izolace bakterií a kvasinek

Dva gramy kvasu určeného pro izolaci mikroorganismů v něm obsažených byly zpracovány dle následujícího protokolu: do sterilní váženky byl navážen vzorek a dále ve sterilní třecí misce homogenizován v 18ml roztoku citronanu sodného (2 % wt/vol). Po homogenizaci a přípravě ředící řady vzorku byla provedena izolace a stanovení počtu mikroorganismů (KTJ/g) na vybraných živných půdách vhodných pro bakterie, či kvasinky (tabulka 1). Tři až deset kolonií z každého druhu živné půdy bylo vybráno na základě morfologických vlastností či dle preferencí laboratorního personálu. Jednotlivé kolonie byly pomocí sterilní kličky přeneseny do příslušného kultivačního media a inkubovány přes noc.

## 2.3. Identifikace mikroorganismů

Z narostlé suspenze byla část odebrána a zamrzena v glycerolu (2 x 200 µl) a zbytek kultury byl centrifugován 4000 rpm, 2 min a vzniklá peleta použita pro izolaci DNA. Taxonomická příslušnost jednotlivých izolátů byla určena na základě sekvence molekulárních markerů: 16 S SSU rDNA pro bakterie: primery fD1 (5' – AGAGTTTGATCCTGGCTCAG – 3') a rP2 (5' – ACG-GCTACCTTGTTACGACTT – 3') (Weisburg *et al.*, 1991), oblast zahrnující oba ITS regiony a 5.8S rDNA pro kvasinky: primery ITS1f (5' – CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A – 3') a ITS4 (5' – TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC – 3') (Gardes a Bruns, 1993; White *et al.*, 1990). Bakteriální DNA byla izolována pomocí DNeasy® UltraClean® Microbial Kit (Qiagen) podle pokynů uvedených v uživatelském návodu. Kvasinková DNA byla izolována následovně: do připravených mikrozkumavek obsahujících malé množství křemičitého písku bylo následně odebráno přibližně po 5 µl pelety pomocí mikropipety. Do každé mikrozkumavky bylo přidáno 20 µl 0,5 M NaOH a ty byly následně přeneseny na Mo Bio Vortex adapter. Po upevnění adaptéru k Vortexu byly vzorky v mikrozkumavkách homogenizovány (maximální výkon, 5 min.). Po ukončení homogenizace byly vzorky centrifugovány (12000 rpm, 2 min.), supernatanty odebrány do čistých mikrozkumavek a následně 10x ředěny pomocí 10 mM Tris-Cl (pH 8,5). Polymerázová řetězová reakce (PCR) byla prováděna za použití PPP Master mixu 2x konc. (Top-Bio), vody a příslušných primerů za následujících podmínek: 95 °C, 300 s; 35x (95 °C, 30 s; 55 °C, 30 s; 72 °C, 90 s); 72 °C, 300 s. Poté byla provedena kontrola amplifikace pomocí gelové elektroforézy v 1 % agarózovém gelu, jako marker byl použit GeneRuler™ DNA Ladder Mix. Elektroforéza probíhala při 80 V. Vzorky DNA určené pro sekvenaci byly ošetřeny pomocí ExoSAP-IT™ (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific) v poměru 1:10. K 15 µl této směsi byly pak přidány 2 µl sekvenačního primeru (příslušný forward primer) a odeslány k sekvenační analýze do Eurofins Genomic Germany GmbH (Ebersberg, Německo). Kvalita získaných sekvencí byla ověřena pomocí softwaru Geneious Prime (Biomatters,

USA) a získané sekvence byly porovnány s databází pomocí služby BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

## 2.4. Statistické zhodnocení

Získaná data byla zpracována a analyzována v programu Statistica Software verze 12.0. Při testování síly vlivu faktorů, jako jsou druh mouky a pH, byla použita analýza hlavních komponent. K testování variability mezi daty v případě různých druhů mikroorganismů z kvasů byla použita ANCOVA (analýza kovariance), kde pH hodnota kvasů byla brána jako kovariát. Data byla zpracována při hladině významnosti  $\alpha \leq 0,05$ .

## 3. Výsledky a diskuze

Z třinácti kvasů bylo izolováno cca 500 izolátů, ze kterých bylo následně identifikováno 17 různých druhů bakterií (tabulka 2) a 11 různých druhů kvasinek (tabulka 3). Nejčastěji izolovaným bakteriálním druhem byl *Lactiplantibacillus plantarum*, který se vyskytoval v devíti kvasech (69 %). Jako další v pořadí byl izolován *Fructilactobacillus sanfranciscensis* v šesti kvasech (46 %). Tyto výsledky korespondují s již publikovanými výsledky, kdy jsou tyto dva druhy v kvasech identifikovány nejčastěji (De Vuyst a Neysens, 2005; De Vuyst a Vancanneyt, 2007; Savić *et al.*, 2007; Gänzle a Ripari, 2016; Landis *et al.*, 2021). Dále byly izolovány bakterie *Levilactobacillus brevis* v 5 kvasech (38 %), *Companilactobacillus paralimentarius* a *Levilactobacillus zymae* oba ve třech kvasech (23 %). Ve dvou kvasech (15 %) jsme také identifikovali *Companilactobacillus mindensis*, *Furfurilactobacillus rossiae*, *Lacticaseibacillus paracasei* a bakterii patřící do

Tab. 2 Bakterie izolované z kvasů

druh	kvas
<i>Acetobacter malorum</i>	MAT, PEM
<i>Bombilactobacillus bombi</i>	PENO
<i>Companilactobacillus crustorum</i>	DVZ
<i>Companilactobacillus mindensis</i>	BAK, DR
<i>Companilactobacillus nantensis</i>	DUA
<i>Companilactobacillus paralimentarius</i>	AM, REL, SAL
<i>Fructilactobacillus sanfranciscensis</i>	BAK, DNV, MAT, MK, PEM, SAL
<i>Furfurilactobacillus rossiae</i>	DZU, PEM
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	AM, DR
<i>Lactiplantibacillus xiangfangensis</i>	SAL
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	AM, DNV, DR, DVZ, DUA, DZU, MK, PEM, REL
<i>Levilactobacillus brevis</i>	AM, DVZ, DUA, DZU, REL
<i>Levilactobacillus zymae</i>	BAK, MK, SAL
<i>Limosilactobacillus pontis</i>	PENO
<i>Staphylococcus epidermis</i>	MAT, SAL
<i>Staphylococcus warneri</i>	DVZ, MAT
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	DVZ

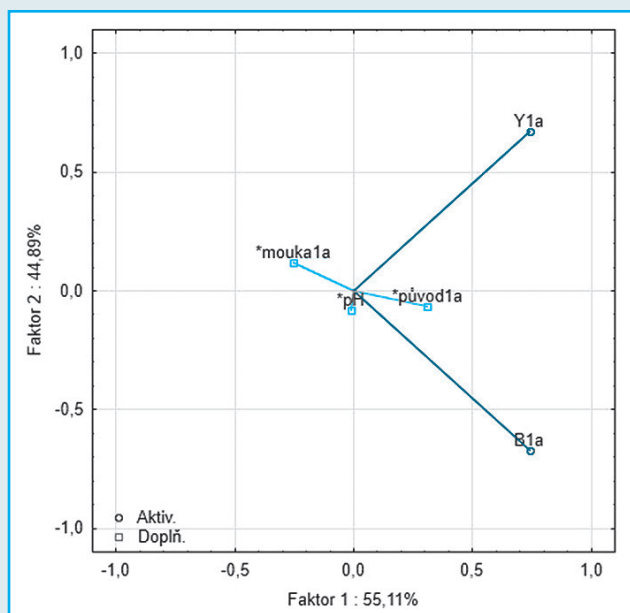
**Tab. 3** Kvasinky izolované z kvasů

druh	kvas
<i>Kazachstania humilis</i>	BAK, MAT, MK
<i>Kazachstania pseudohumilis</i>	MAT, PEM, SAL
<i>Kazachstania unispora</i>	AM, DNV, DUA
<i>Naumovozyma castelii</i>	AM
<i>Pichia fermentans</i>	DNV, DUA, REL
<i>Pichia membranifaciens</i>	AM
<i>Saccharomyces bayanus/pastorianus</i>	MAT
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	DR, DVZ, DZU, MAT, MK, PEM, PENO, REL, SAL
<i>Saccharomyces uvarum</i>	PEM
<i>Yamadazyma triangularis</i>	PENO

skupiny bakterií octového kvašení *Acetobacter malorum*, *Companilactobacillus crustorum*, *Companilactobacillus nantensis* a *Limosilactobacillus pontis* jsme izolovali vždy z jediného kvasu. Díky velkému počtu elektivních půd se nám dále podařilo izolovat v kvasu dosud neidentifikované *Bombilactobacillus bombi* a *Lactiplantibacillus xiangfangensis*. Ze tří kvasů jsme také izolovali bakterie z rodu *Staphylococcus*.

Ze souboru kvasů se nám podařilo izolovat 11 druhů kvasinek (tabulka 3). Dominujícím druhem byla *Saccharomyces cerevisiae*, která byla přítomna v devíti kvasích (69 %), což je ve shodě s již publikovanými výsledky (Boyaci-Gunduz a Erten, 2020). Dále jsme ve třech kvasích (23 %) identifikovali *Kazachstania humilis*, *Kazachstania pseudohumilis*, *Kazachstania unispora* a *Pichia fermentans*. Kvasinky *Naumovozyma castelii*, *Pichia membranifaciens* a *Saccharomyces uvarum* byly identifikovány vždy v jednom kvasu. Také se nám podařilo izolovat kvasinku z řádu *Saccharomycetales*. Určení přesného druhu této kvasinky by přesahovalo možnosti této studie, nejvyšší BLAST hit se shodoval se sekvencí ITS získané z kvasinky označené *Saccharomyces cf. bayanus/pastorianus* culture CBS:375, rozhodli jsme se pro jednodušší označení *Saccharomyces bayanus/pastorianus*.

Druhově nejrozmanitější byl kvas AM (tabulka 4). Nejvyšší počet různých druhů bakterií byl izolován z kvasu SAL a DVZ, ale k druhové rozmanitosti v těchto kvasích přispěly i dva zástupci kontaminující mikroflóry – *Staphylococcus epidermidis* v případě



**Obr. 1** Závislost druhového zastoupení mikroorganismů v kvasích na hlavních faktorech: pH, typ mouky, a původ (PCA – analýza hlavních komponent,  $p \leq 0,05$ ). B1a – druhová rozmanitost bakterií; Y1a – druhová rozmanitost kvasinek

kvasu SAL a *S. warneri* a *S. saprophyticus* v případě kvasu DVZ. Nejvíce různých druhů bakterií patřících do kvasné mikroflóry obsahovaly kvasy AM a PEM. Nejvíce

**Tab. 4** Informace o kvasích a souhrn výsledků

Původ (pekárna, místo)	Akronym	Mouka	pH	Počet druhů celkový počet (KTJ/g)	
				kvasinek	bakterií
Ambrosia (Tábor)	AM	ječná	3,80	3 1,0x10 <sup>7</sup>	4 1,0x10 <sup>9</sup>
Soukromá osoba (Jistebnice)	DZU	žitná, pšeničná	4,36	1 2,0x10 <sup>7</sup>	3 5,3x10 <sup>8</sup>
Pekárna Držkov (Držkov)	DR	žitná, pšeničná	4,00	1 1,0x10 <sup>6</sup>	3 1,0x10 <sup>8</sup>
Soukromá osoba (Český Krumlov)	DUA	žitná, pšeničná	3,80	2 3,5x10 <sup>7</sup>	3 2,9x10 <sup>9</sup>
Soukromá osoba (Hlincová Hora)	DVZ	žitná	3,71	1 1,3x10 <sup>8</sup>	5 2,5x10 <sup>9</sup>
Dýně na Vině (Tábor)	DNV	špaldová	3,70	2 1,0x10 <sup>6</sup>	2 1,0x10 <sup>8</sup>
Soukromá osoba (Praha)	MAT	žitná, pšeničná	3,83	3 1,8x10 <sup>7</sup>	3 1,0x10 <sup>9</sup>
Pekárna Ivanka (Moravský Krumlov)	MK	žitná	4,80	2 1,0x10 <sup>6</sup>	3 1,0x10 <sup>8</sup>
Pekařství Bayer, s.r.o. (Plzeň)	BAK	žitná	3,66	1 1,8x10 <sup>7</sup>	3 9,9x10 <sup>8</sup>
Pekárna Novosedly (Novosedly n. Nežárkou)	PENO	žitná	3,76	2 1,0x10 <sup>5</sup>	2 6,2x10 <sup>8</sup>
Soukromá osoba (Valašské Klobouky)	PEM	žitná	3,82	3 1,0x10 <sup>6</sup>	4 1,0x10 <sup>9</sup>
Soukromá osoba (Planá n. Lužnicí)	REL	žitná, pšeničná	3,99	2 1,1x10 <sup>8</sup>	3 5,1x10 <sup>9</sup>
Soukromá osoba (Boršov n. Vltavou)	SAL	žitná, pšeničná	3,73	2 4,7x10 <sup>7</sup>	5 8,5x10 <sup>9</sup>

různých druhů kvasinek bylo identifikováno v kvasech AM a PEM.

Dále jsme sledovali, zda je druhová rozmanitost ovlivněna třemi základními faktory – druhem používané mouky, pH a původem kvasu. Statistická analýza odhalila jako průkazný pouze faktor druh mouky ( $F_{(1,19)} = 2,2959$  pro bakterie a  $F_{(1-19)} = 4,57$  pro kvasinky), pH ( $F_{(1,19)} = 1,24$  pro bakterie a  $F_{(1-19)} = 1,24$  pro kvasinky) ani původ kvasu ( $F_{(1,19)} = 1,50$  pro bakterie a  $F_{(1-19)} = 1,48$  pro kvasinky) neměly statisticky průkazný vliv na druhovou rozmanitost kvasů (obrázek 1).

Naše výsledky podporují dříve publikované studie uvádějící použitý druh mouky jako důležitý faktor druhového zastoupení mikroorganismů v kvasech (Meroth, Hammes a Hertel, 2003; Vogelmann *et al.*, 2009; Vrancken *et al.*, 2010, 2011; Minervini *et al.*, 2012; Lin a Gänzle, 2014).

Je možné, že i přes použití vysokého počtu elektivních půd se nám z kvasů nepodařilo izolovat všechny druhy bakterií a kvasinek a naše výsledky tedy nemusí být zcela úplné. Stanovit skutečně celkový mikrobiom kvasu je technicky velice náročné, použití molekulárně-biologických metod by mohlo být možným řešením, například pomocí tzv. shotgun metagenomic sekvenování (Landis *et al.*, 2021), případně za použití ekonomičtější varianty PCR následované analýzou křivek tání (Pontonio *et al.*, 2017), ideálně kombinací několika technik, jelikož každá z metod nese určitá omezení či falešně pozitivní/negativní výstupy.

### Poděkování:

Práce vznikla za podpory Program aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství, projekty QK1910036 a QK19110024.

### Literatura

BOYACI-GUNDUZ, C. P. A. ERTEN, H. (2020): Predominant yeasts in the sourdoughs collected from some parts of Turkey, *Yeast*. doi: 10.1002/yea.3500.

DI CAGNO, R. *et al.* (2014): Diversity of the lactic acid bacterium and yeast microbiota in the switch from firm- to liquid-sourdough fermentation, *Applied and Environmental Microbiology*, 80(10), s. 3161–3172. doi: 10.1128/AEM.00309-14.

CORSETTI, A. *et al.* (2001): Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat (species *Triticum durum* and *Triticum aestivum*) sourdoughs of Southern Italy, *International Journal of Food Microbiology*, 64(1–2), s. 95–104. doi: 10.1016/S0168-1605(00)00447-5.

GAGLIO, R., ALFONZO, A. A. FRANCESCA, N. (2017): Combined approach for the investigation of dominant fermenting microbiota in two traditional sourdoughs produced in sicily, *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 9(2), s. 5–15.

GALLE, S. A. ARENDT, E. K. (2014): Exopolysaccharides from Sourdough Lactic Acid Bacteria, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(7), s. 891–901. doi: 10.1080/10408398.2011.617474.

GÄNZLE, M. G. (2014): Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation, *Food Microbiology*. Elsevier Ltd, 37, s. 2–10. doi: 10.1016/j.fm.2013.04.007.

GÄNZLE, M. A. RIPARI, V. (2016): Composition and function of sourdough microbiota: From ecological theory to bread quality, *International Journal of Food Microbiology*. Elsevier B.V., 239, s. 19–25. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.05.004.

GARDES, M. a BRUNS, T. D. (1993): ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts, *Molecular Ecology*, 2(2), s. 113–118. doi: 10.1111/j.1365-294X.1993.tb00005.x.

GULLO, M. *et al.* (2003): *Candida humilis* – Dominant species in sourdoughs for the production of durum wheat bran flour bread, *International Journal of Food Microbiology*, 80(1), s. 55–59. doi: 10.1016/S0168-1605(02)00121-6.

LANDIS, E. A. *et al.* (2021): The diversity and function of sourdough starter microbiomes, *eLife*, 10, s. 1–24. doi: 10.7554/eLife.61644.

LHOMME, E. *et al.* (2016): Sourdough microbial community dynamics: An analysis during French organic bread-making processes, *Food Microbiology*. Elsevier Ltd, 53, s. 41–50. doi: 10.1016/j.fm.2014.11.014.

LIN, X. B. A. GÄNZLE, M. G. (2014): Quantitative high-resolution melting PCR analysis for monitoring of fermentation microbiota in sourdough, *International Journal of Food Microbiology*. Elsevier B.V., 186, s. 42–48. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.010.

MEROTH, C. B., HAMMES, W. P. A. HERTEL, C. (2003): Identification and Population Dynamics of Yeasts in Sourdough Fermentation Processes by PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), s. 7453–7461. doi: 10.1128/AEM.69.12.7453-7461.2003.

MINERVINI, F. *et al.* (2012): Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of 19 sourdoughs used for traditional/typical Italian breads: Interactions ingredients and microbial species diversity, *Applied and Environmental Microbiology*, 78(4), s. 1251–1264. doi: 10.1128/AEM.07721-11.

PONTONIO, E. *et al.* (2017): Sourdough authentication: Quantitative PCR to detect the lactic acid bacterial microbiota in breads, *Scientific Reports*, 7(1). doi: 10.1038/s41598-017-00549-2.

POUTANEN, K., FLANDER, L. A. KATINA, K. (2009): Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective, *Food Microbiology*. Elsevier Ltd, 26(7), s. 693–699. doi: 10.1016/j.fm.2009.07.011.

SAVIĆ, D. *et al.* (2007): Profile of Lactic Acid Bacteria, *Journal of Culture Collections*, 5(September 2014), s. 38–45.

SCHOCH, C. L. *et al.* (2012): Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(16), s. 6241–6246. doi: 10.1073/pnas.1117018109.

VOGELMANN, S. A. *et al.* (2009): Adaptability of lactic acid bacteria and yeasts to sourdoughs prepared from cereals, pseudocereals and cassava and use of competitive strains as starters, *International Journal of Food Microbiology*. Elsevier B.V., 130(3), s. 205–212. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.01.020.

VRANCKEN, G. *et al.* (2010): Yeast species composition differs between artisan bakery and spontaneous laboratory sourdoughs: RESEARCH ARTICLE, *FEMS Yeast Research*, 10(4), s. 471–481. doi: 10.1111/j.1567-1364.2010.00621.x.

VRANCKEN, G. *et al.* (2011): Influence of temperature and backslipping time on the microbiota of a type I propagated laboratory wheat sourdough fermentation, *Applied and Environmental Microbiology*, 77(8), s. 2716–2726. doi: 10.1128/AEM.02470-10.

DE VUYST, L. *et al.* (2009): Biodiversity, ecological determinants, and metabolic exploitation of sourdough microbiota, *Food Microbiology*. Elsevier Ltd, 26(7), s. 666–675. doi: 10.1016/j.fm.2009.07.012.

DE VUYST, L. A. NEYSENS, P. (2005): The sourdough microflora: Biodiversity and metabolic interactions, *Trends in Food Science and Technology*, 16(1–3), s. 43–56. doi: 10.1016/j.tifs.2004.02.012.

DE VUYST, L. A. VANCANNEYT, M. (2007): Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria, *Food Microbiology*, 24(2), s. 120–127. doi: 10.1016/j.fm.2006.07.005.

Weisburg, W. G. *et al.* (1991) „Weisburg 1991”, 173(2), s. 697–703.

**Korespondující autor:** Mgr. Olga Bazalová, Ph.D.

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.,

Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6

pracoviště Tábor, Soběslavská 841, 390 02 Tábor,

email: o.bazalova@vum-tabor.cz

Přijato do tisku: 26. 10. 2021

Lektorováno: 3. 11. 2021