

- KŘÍŽOVÁ, L., HANUŠ, O., HADROVÁ, S., KUČERA, J., SAMKOVÁ, E., ROUBAL, P., VESELÝ, A. (2014): Composition, physical and technological properties of raw milk as affected by cattle breed, season and type of diet. *Annals of Animal Science*, 14, 3, s. 721-736.
- KVAPILÍK, J., HANUŠ, O., BARTOŇ, L., VYLETĚLOVÁ KLIMEŠOVÁ, M., ROUBAL, P. (2015): Mastitis of dairy cows and financial losses: an economic meta-analysis and model calculation. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21, 5, s. 1092-1105.
- KVAPILÍK, J., HANUŠ, O., ROUBAL, P., ŘÍHA, J., URBAN, P., JEDELSKÁ, R., SEYDLOVÁ, R., KLIMEŠOVÁ, M., KOPUNECZ, P. (2017): Somatic cells in bulk samples and purchase prices of cow milk. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 65, 3, s. 879-892.
- KVAPILÍK, J., HANUŠ, O., SYRŮČEK, J., VYLETĚLOVÁ KLIMEŠOVÁ, M., ROUBAL, P. (2014): The economic importance of the losses of cow milk due to mastitis: a meta-analysis. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20, 6, s. 1501-1515.
- KVAPILÍK, J., JEDELSKÁ, R., HANUŠ, O., URBAN, P., ŘÍHA, J., KOPUNECZ, P., SEYDLOVÁ, R., ROUBAL, P., ZLATNÍČEK, J., KLIMEŠ, M. (2016): Somatické buňky v mléce individuálních krav a vybrané ukazatele. *Mlékařské listy – zpravodaj*, 27, 158, 5, s. 5-12.
- MARTÍNEZ DE LA VARA, J. A., HIGUERA, A. G., ESTEBAN, M. R., ASENSIO, J. R., DELGADO, M. C., BERRUGA, I., MOLINA, A. (2018): Monitoring bulk milk quality by an integral traceability system of milk. *Journal of Applied Animal Research*, 46, 1, s. 784-790.
- PAPAJOVÁ, H. (1983): Vplyv počtu somatických buniek v mlieku na niektoré jeho technologické vlastnosti. Čiastková správa, Výskumný ústav mliekařenský, Žilina, 1983.
- PEREIRA, C. G., LUIZ, L. C., BELL, M. J. V., ANJOS, V. (2020): Near and Mid Infrared Spectroscopy to Assess Milk Products Quality: A Review of Recent Applications. *HSOA Journal of Dairy Research and Technology*, 3, s. 014, DOI: 10.24966/DRT-9315/100014.
- POLITIS, I. a NG-KWAI-HANG, K. F. (1988 a): Effects of somatic cell count and milk composition on cheese composition and cheese making efficiency. *Journal of Dairy Science*, 71, 7, s. 1711-1719.
- POLITIS, I. a NG-KWAI-HANG, K. F. (1988 b): Effects of somatic cell counts and milk composition on the coagulation properties of milk. *Journal of Dairy Science*, 71, 7, s. 1740-1746.
- RENEAU, J. K. (1986): Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *Journal of Dairy Science*, 69, s. 1708-1720.
- RENEAU, J. K., APPLEMAN, R. D., STEURNAGEL, G. R., MUDGE, J. W. (1983, 1988): Somatic cell count. An effective tool in controlling mastitis. *Agricultural Extension Service*, University of Minnesota, AGFO-0447.
- RYSANEK, D. a BABAK, V. (2005): Bulk tank milk somatic cell count as an indicator of the hygiene status of primary milk production. *Journal of Dairy Research*, 72, s. 400-405.
- RYSANEK, D., BABAK, V., ZOUHAROVA, M. (2007): Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw milk contamination with mastitis pathogens. *Veterinarni Medicina*, 52, 2007, 6, s. 223-230.
- SAMKOVÁ, E. et al. (2012): Mléko: produkce a kvalita. Vědecká monografie, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích. ISBN: 978-80-7394-383-7, s. 240.
- SAMKOVÁ, E., ŠPIČKA, J., HANUŠ, O., ROUBAL, P., PECOVÁ, L., HASONOVÁ, L., SMETANA, P., KLIMEŠOVÁ, M., ČÍTEK, J. (2020): Relationship between mid-infrared spectroscopy and gas chromatography results to determine the fatty acid profile of cow milk. *Animals*, 10, 6, 1095. <https://doi.org/10.3390/ani10061095>.
- SEYDLOVÁ, R. (2005): Dezinfekce v prvovýrobě mléka. *Náš chov*, 8, s. 6-8.
- SEYDLOVÁ, R. (1997): Nové poznatky a postupy snižování počtu somatických buněk v tradičních stájích. Problematika prvovýroby mléka XX, Sborník, s. 75-78.
- SHARIF, A., a MUHAMMAD, B. (2008): Somatic cell count as an indicator of udder health status under modern dairy production: a review. *Pakistan Veterinary Journal*, 28, 4, s. 194-200.
- SHOOK, G. E. (1982): Approaches to summarizing somatic cell count which improve interpretability. *National Mastitis Council*, Louisville, Kentucky, s. 1-17.
- SOYEURT, H., DARDENNE, P., DEHARENG, F., LOGNAY, G., VESELKO, D., MARLIER, M., BERTOZZI, C., MAYERES, P., GENGLER, N. (2006 a): Estimating fatty acid content in cow milk using mid-infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 89, 9, s. 3690-3695.
- SOYEURT, H., DARDENNE, P., GILLON, A., CROQUET, C., VANDERICK, S., MAYERES, P., BERTOZZI, C., GENGLER, N. (2006 b): Variation in fatty acid contents of milk and milk fat within and across breeds. *Journal of Dairy Science*, 89, 12, s. 4858-4865.
- SOYEURT, H., DEHARENG, F., GENGLER, N., MCPARLAND, S., WALL, E., BERRY, D. P., COFFEY, M., DARDENNE, P. (2011): Mid-infrared prediction of bovine milk fatty acids across multiple breeds, production systems, and countries. *Journal of Dairy Science*, 94, s. 1657-1667.
- ŠKARDA, J., HEMROVÁ-ŠEDINOVÁ, V., URBANOVÁ, E., ŠKARDOVÁ, O. (1990): Dynamika počtu somatických buněk v mléce dojníc. *Živočišná Výroba / Czech Journal of Animal Science*, 35, 1, s. 45-57.
- TICHÁČEK, A. et al. (2007): Poradenství jako nástroj bezpečnosti v prvovýrobě mléka. Agritec, Šumperk, ISBN 978-80-903868-0-8, s. 88.
- WENDT, K. et al. (1994): Zu hoher Zellgehalt in der Herdensammelmilch – wie kann geholfen werden? AG Melken und Melktechnik, Informationen WGM, e. V., s. 1-12.

Korespondující autor: prof. Ing. Oto Hanuš, Ph.D.
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a,
160 00 Praha 6, e-mail: hanus.oto@seznam.cz

Přijato do tisku: 11. 11. 2021

Lektorováno: 18. 11. 2021

MIKROBIOM NÁPOJŮ ZE SLADKÉ SYROVÁTKY

**Renáta Karpíšková^{1,5}, Tereza Gelbíčová^{1,5},
Alžběta Kalová², Eva Šviráková³, Leona Buňková⁴,
Irena Němečková⁵**

¹ Masarykova univerzita

² Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.

³ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

⁴ Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

⁵ Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Microbiome of drinks from sweet whey

Abstrakt

Tato práce se zabývá složením mikrobiomu a zdravotní mikrobiologickou bezpečností neochucených i ochucených nápojů ze sladké syrovátky. Metagenomická analýza byla zaměřena na stanovení diverzity mikrobiomu syrovátkových nápojů. Mikrobiom byl analyzován nekultivační metodou sekvenování celkové DNA extrahované ze vzorků. Tento přístup umožňuje detekci DNA širokého spektra bakterií, ale i dalších mikroorganismů, neposkytuje však informaci o životaschopných bakteriích. Metagenomická analýza je vhodným nástrojem umožňujícím také sledování změn mikrobiomu v průběhu technologického zpracování a skladování potravin a stanovení jejich optimální doby udržitelnosti. V této pilotní studii bylo prokázáno, že přírodní a ochucené syrovátky

kové nápoje ošetřené pasterací nejsou významným zdrojem bakterií čeledí *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae* a *Enterococcaceae*. Mikrobiologická kritéria pro syrovátkové nápoje nejsou stanovena, vyšetřované vzorky však splňovaly obecné legislativní limity pro mikrobiologickou bezpečnost potravin.

Klíčová slova: syrovátka; syrovátkové nápoje; mikrobiom; zdravotní mikrobiologická bezpečnost; technologická nezávadnost; metagenomická analýza

Abstract

This work deals with the composition of the microbiome and the health microbiological safety of unflavoured and flavoured sweet whey drinks. Metagenomic analysis of whey beverages was focused on the determination of the microbiome diversity. The microbiome was analyzed by a non-culture method by sequencing the total DNA extracted from the samples. This approach allows to detect DNA from a wide range of bacteria as well as other microorganisms, but does not provide information on the bacterial viability. Metagenomic analysis is a suitable tool allowing monitoring of microbiome changes during the technological processing and food storage including determination of the optimal shelf life. In this pilot study, it was shown that natural and flavored whey drinks treated with pasteurization are not a significant source of bacteria of the *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae* and *Enterococcaceae* families. Microbiological criteria for whey beverages are not set, but the examined samples met the general legislative limits of microbiological food safety.

Key words: whey; whey beverages; microbiome; health microbiological safety; technological harmlessness; metagenomic analysis

Úvod

Syrovátka je vedlejším produktem při výrobě sýrů, tvarohu a kaseinu. Syrovátky se dělí na sladké a kyselé v závislosti na technologických postupech používaných při koagulaci mléka. V potravinářství je využívána především syrovátka sladká, která vzniká po enzymatickém zasyření mléka při výrobě sýrů syřidlem; u sladké syrovátky se pH obvykle pohybuje v rozmezí 6,0-6,5 (Jelen, 2011). Kyselé syrovátka (pH nižší než 5,0) vzniká při koagulaci mléka zejména fermentací bakteriemi mléčného kvašení, případně přidáním anorganických nebo organických kyselin. Rozdíly mezi těmito dvěma typy syrovátky jsou nejen v hodnotách pH, ale také v obsahu popelovin a syrovátkových bílkovin (Yadav a kol., 2015). Dále sladká syrovátka obsahuje více laktózy, kyselé syrovátka má vyšší obsah popelovin a vápníku. Syrovátka obsahuje řadu vitaminů skupiny B, C, A, E, kyselinu pantotovou, kyselinu listovou, biotin, kobalamin a dále množství minerálních látek, např. fosforečných a vápenatých solí, železa, síry, hořčíku a draslíku. Nejdůležitější složkou

syrovátky jsou bílkoviny. Mezi hlavní složky syrovátkových bílkovin patří: β -laktoglobulin, α -laktalbumin, imunoglobuliny, glykomakropeptidy, sérový albumin a proteózo-peptonové frakce (tj. fragmenty β -kaseinu). K minoritním, nicméně významným, složkám syrovátkových bílkovin se řadí: laktoperoxidáza, lysozym a laktoferin (Kolářová-Rašková a kol., 2015). Syrovátkové bílkoviny jsou snadno stravitelné a velmi dobře nutričně využitelné, ve vyváženém poměru obsahují všechny esenciální aminokyseliny. Významnou složkou syrovátek je laktóza, která přirozenou cestou napomáhá při trávení a má pozitivní vliv na střevní mikrobiom (prebiotikum) (Smithers, 2015).

V posledních letech je syrovátka stále častěji využívána nejen pro krmné účely, ale také k dalšímu zpracování za účelem získání výrobků s vysokou nutriční hodnotou. V rámci biotechnologického zpracování se syrovátka používá jako substrát pro různé mikrobiální/enzymatické procesy za účelem získání cenných finálních výrobků, jako jsou bio proteiny, probiotika, organické kyseliny, enzymy, karotenové oleje, biologické konzervační látky, biologické gummy, exopolysacharidy a bioplasty (Yadav a kol., 2015). Zpracování syrovátky sušením má rozsáhlé využití v potravinářském průmyslu např. u pekařských výrobků, speciální výživy pro sportovce či rekonvalescenty. Průmyslová výroba nápojů na bázi syrovátky se datuje do 70. let 20. století a doposud byly vyvinuty různé výrobky (např. nefermentované i fermentované, alkoholické i nealkoholické, sycené i nesycené, ochucené i neochucené) (Zotta a kol., 2020).

Konzumace syrovátky má pozitivní vliv na zdraví člověka; vykazuje detoxikační účinky, příznivě ovlivňuje metabolismus a činnost střev. Je nízkokalorická, pozitivně ovlivňuje hladinu cholesterolu v krvi, reguluje hmotnost a vysoký krevní tlak, zvyšuje imunitu, je vhodná i pro diabetiky. Sladká syrovátka obvykle obsahuje nízké počty bakterií mléčného kvašení, přesto je z hlediska nutričního velmi zdravým nápojem. Ve Švýcarsku se nápoj, vyráběný z přírodní syrovátky pod názvem Rivella, dostal mezi národní kulturní dědictví. V posledních letech se velké oblíbenosti těší syrovátkové nápoje i v České republice, a to neochucené i ochucené. Sleduje se také možnost výroby nové generace syrovátkových nápojů, do kterých jsou přidávány probiotické kultury.

Cílem této pilotní studie bylo získání nových poznatků o složení mikrobiomu a zdravotní mikrobiologické bezpečnosti neochucených i ochucených nápojů ze sladké syrovátky.

Materiál a metody

Charakteristika syrovátky a technologie výroby syrovátkových nápojů

Pro výrobu syrovátkových nápojů, vyšetřovaných v této studii, byla použita syrovátka z výroby přírodních polotvrdých sýrů z lisované syřeniny od českého průmyslového výrobce. Mezi základní technologické

kroky výroby patří získání syrovátky, její pasterace a chlazení, míchání nápoje (u ochucených syrovátek), lahvování, značení a uskladnění. Pro výrobu sýrů, ze kterých byla syrovátka získána, je používáno plnotučné mléko od krav chovaných na pastvě. Syrovátka je tepelně ošetřena pasterací na teplotu minimálně 80 °C po dobu 15 min. Po pasteraci se syrovátka chladí na teplotu 4-7 °C. Doba spotřeby přírodní syrovátky byla výrobcem stanovena na čtyři dny od data výroby, u ochucené syrovátky na 14 dní od data výroby. Důvodem delší doby spotřeby u ochucené syrovátky je přidavek ovocného sirupu, kterým se sníží pH syrovátkového nápoje na hodnotu v rozmezí 3,8-4,4.

Vyšetřované vzorky

V rámci této pilotní studie byly vyšetřeny čtyři vzorky dvou druhů nápojů ze sladké syrovátky, různých šarží, od jednoho výrobce. Jednalo se o dva vzorky přírodních nápojů a dva vzorky ochucených nápojů (příchuť mango). První vzorek přírodního syrovátkového nápoje, získaný přímo od výrobce, byl vyšetřen 1. a 4. den po výrobě (konec doby spotřeby). Druhý vzorek přírodního syrovátkového nápoje, zakoupený v tržní síti, byl vyšetřen jen 4. den po výrobě. Jeden vzorek ochuceného nápoje byl vyšetřen 4. a 14. den po výrobě (tj. na konci doby spotřeby), a dále 19. den po výrobě. Poslední vzorek ochuceného syrovátkového nápoje byl vyšetřen pouze 19. den (cca týden po konci doby spotřeby). Před vyšetřením byly vzorky uchovávány v chladničce při teplotě 6 °C.

Mikrobiologická kultivační stanovení

Průkaz bakterií *Salmonella* spp. byl proveden dle ČSN EN ISO 6579-1 (2020).

Průkaz a stanovení počtu *Listeria monocytogenes* byl proveden dle ČSN EN ISO 11290-1, 2 (2018).

Stanovení počtu bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* bylo provedeno dle ČSN EN ISO 21528-2 (2021).

Stanovení počtu koagulázo-pozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a dalších druhů) bylo provedeno dle ČSN EN ISO 6888-1 (2000).

Metagenomická analýza

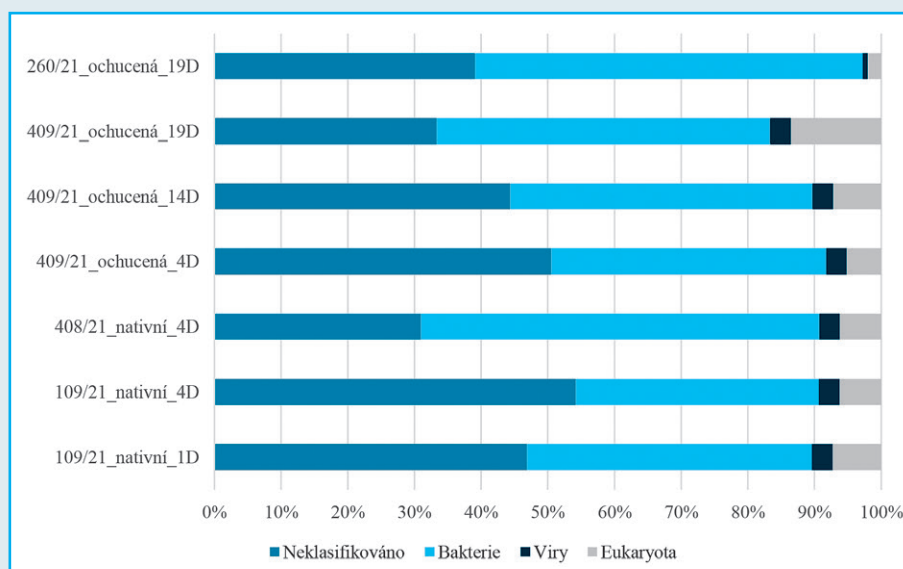
Metagenomická analýza byla zaměřena na stanovení složení mikrobiomu přírodního a ochuceného syrovátkového nápoje. Z každého vzorku bylo sterilně odebráno 50 ml syrovátky do zkumavky a syrovátka byla odstředěna (30 min/12 000 g/10 °C). Po slítí supernatantu byla peleta resuspendována v 5 ml pufru PBS (Phosphate Buffered Saline, Oxoid, GB). Ze vzniklé suspenze byl odebrán 1 ml do zkumavky

typu Eppendorf a vzorek byl odstředěn (10 min/8 000 g). Peleta byla poté ještě jednou promyta v 1 ml pufru PBS a odstředěna za stejných podmínek. Po odstranění supernatantu byla peleta resuspendována ve 180 µl komerčního pufru ATL (Qiagen, DEU), a při extrakci celkové DNA bylo pokračováno dle instrukcí výrobce s využitím kitu DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, DEU).

Sekvenace byla provedena na platformě Oxford Nanopore Technologies (ONT, GB). Knihovny pro MinION byly připraveny pomocí Rapid PCR Barcoding Kit a sekvenovány na #FLO-MIN106 flow cell. Hrubá sekvenační data ve formátu fast5 byla pomocí softwaru Guppy v 4.5.4+66c1a775 (ONT, GB) převedena do formátu fastq. V programu EPI2ME byla data rozdělena pomocí barcodů po jednotlivých vzorcích. Po kontrole kvality sekvenačních dat byly dále analyzovány pouze vzorky s ready se skóre > 7, počet readů na vzorek byl minimálně 100 000. Pro sekvenační data splňující požadavky kontroly kvality byla provedena taxonomická klasifikace mikrobiomu pomocí Kaiju (<http://kaiju.binf.ku.dk/server>) s využitím databáze NCBI BLAST nr +euk (dle přednastavených parametrů), která obsahuje non-redundantní proteinovou databázi bakterií, archeí, virů, hub a mikrobiálních eukaryot.

Výsledky a diskuse

Studie zabývající se složením mikrobiomu a bakteriální diverzitou syrovátek jsou vzácné. Bertani a kol. (2020) popsal bakteriální složení přírodní sladké syrovátky z výroby sýrů Parmigiano Reggiano, Wang a kol. (2018) složení kyselé syrovátky a Hayes a kol. (2012) složení sušené syrovátky. Při studiu byly použity různé metodické přístupy a k získání syrovátky byly použity různé technologické postupy. V naší studii byly syrovátky získány při výrobě přírodního polotvrdého sýra z pasterovaného kravského mléka. Mikrobiom vzorků syrovát-

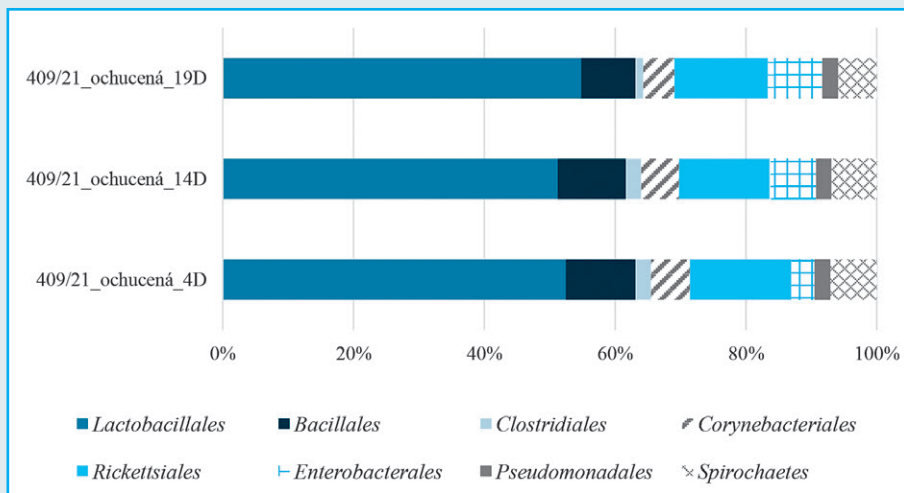


Obř. 1 Podíl neklasifikovaných organismů, eukaryot, bakterií a virů ve vyšetřovaných vzorcích syrovátek

kových nápojů byl vyšetřován nekultivační metodou sekvenování celkové DNA extrahované ze vzorku. Tento přístup umožňuje detekci DNA širokého spektra bakterií, ale i dalších mikroorganismů ve vzorku, ovšem neposkytuje informaci o životaschopných bakteriích. Bakteriální sekvence zastupovaly v průměru 46,0 % (35,0-48,0 %) sekvencí mikrobiomu vyšetřovaných vzorků. Rozmezí 2,0-13,0 % získaných sekvencí bylo klasifikováno jako eukaryota, rozmezí 0,8-3,0 % tvořily virové sekvence. Na základě použitých analytických nástrojů nebylo klasifikováno v průměru 41,0 % (30,0-52,0 %) získaných sekvencí (Obr. 1).

Dominantní skupinu bakterií ve vzorcích přírodní i ochucené syrovátky tvořil kmen *Terrabacteria*, který představoval v průměru 62,0 % ze všech identifikovaných zástupců bakterií (rozmezí 40,0-85,0 %). Druhým nejčastějším bakteriálním kmenem byly *Proteobacteria*, jejichž zástupci byli identifikováni v průměru u 24,0 % (rozmezí 6,0-48,0 %) detekovaných bakteriálních sekvencí. Metagenomická analýza je vhodným nástrojem umožňujícím sledování změn mikrobiomu v průběhu zpracování a skladování potravin a stanovení jejich optimální doby údržnosti. Porovnání identifikovaných bakteriálních řádů (představujících minimálně 1,0 % bakteriálních sekvencí) ve vzorku ochuceného syrovátkového nápoje od výroby až do konce doby spotřeby zobrazuje Obr. 2. Mezi vzorky vyšetřeny mi ve třech různých termínech po výrobě byly u většiny bakteriálních řádů zjištěny jen minimální rozdíly v jejich zastoupení, a to v rozmezí 1,0-4,0 %. Vyhodnocení změn mikrobiomu během doby údržnosti syrovátkových nápojů však vyžaduje větší soubor vzorků, protože jednotlivé výrobní šarže se mohou lišit v bakteriálním složení.

Z bakterií mléčného kvašení převažovaly ve vzorcích přírodních a ochucených syrovátkových nápojů bakterie čeledi *Lactobacillaceae* (2,0-48,0 %), *Streptococcaceae* (16,0-24,0 %) a *Enterococcaceae* (2,0-7,0 %). Zatímco ve vzorcích přírodní syrovátky byl podíl bakterií čeledi *Lactobacillaceae* v průměru 3,0 %, ve vzorcích ochucené syrovátky tvořily v průměru 25 % bakterií (Tab. 1). Ochucené syrovátky mají v důsledku přidavku ovocného sirupu nižší pH v rozmezí 3,8-4,4. Kyselé prostředí tak vytváří vhodnější podmínky pro množení laktobacilů ve srovnání s přírodní sladkou syrovátkou s pH v rozmezí hodnot 6,0-6,5. V nepasterované



Obr. 2 Zastoupení bakteriálních řádů detekovaných ve vzorku ochucené syrovátky během a na konci doby spotřeby (4. den, 14. den a 19. den) z celkového množství bakteriálních sekvencí, řády *Lactobacillales*, *Bacillales*, *Clostridiales*, *Corynebacteriales* se řadí mezi *Terrabacteria*, řády *Enterobacterales*, *Pseudomonadales* a *Rickettsiales* patří do kmene *Proteobacteria*, řád *Spirochaetes* patří do kmene *Spirochaetae*

přírodní syrovátce získané při výrobě sýrů Parmigiano Reggiano (Bertani a kol., 2020) byl na základě metody 16S rRNA sekvenování prokázán dominantní výskyt bakteriálních druhů *Lactobacillus helveticus* (50,0 %) a *L. delbrueckii* (34,0 %). Streptokoky byly detekovány v rozmezí 3,6-18,7 % (Bertani a kol., 2020). V jiné studii byl v kyselé syrovátce detekován podíl laktobacilů ještě vyšší, a to 63,1 % (Wang a kol., 2018). Rozdíly v zastoupení laktobacilů a streptokoků zjištěné v naší studii mohou být dány jednak technologií výroby sýra, zejména však pasterací syrovátkového nápoje a odlišnou metodou získání a analýzy sekvenčních dat.

Zajímavým nálezem byla detekce DNA bakterií čeledi *Anaplasmataceae*, obligátně intracelulárních bakterií přenášejících klíšťaty, které tvořily v průměru 12,0 % (5,0-17,0 %) bakterií. Vysvětlením přítomnosti těchto bakterií může být původ mléka používaného při výrobě sýrů od pastevně chovaných krav. Studie provedené u klíšťat v České republice prokázaly, že zástupci čeledi *Anaplasmataceae* se běžně vyskytují u klíšťat na našem území (Václavík a kol., 2021). Jiný způsob přenosu než prostřednictvím klíšťat nebyl doposud u zástupců *Anaplasmataceae* popsán a jejich výskyt v mléce a mléčných výrobcích tak není považován za riziko pro spotřebitele.

Tab. 1 Zastoupení čeledí bakterií mléčného kvašení v přírodní a ochucené syrovátce mezi detekovanými bakteriemi

| Vzorek | Označení vzorku | Vyšetřeno po výrobě | <i>Lactobacillaceae</i> | <i>Streptococcaceae</i> | <i>Enterococcaceae</i> |
|--------------------|-----------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| Přírodní syrovátka | 109/21 | 1. den | 2,0 % | 24,0 % | 6,0 % |
| | | 4. den | 2,0 % | 23,0 % | 7,0 % |
| | | 4. den | 5,0 % | 16,0 % | 4,0 % |
| Ochucená syrovátka | 409/21 | 4. den | 17,0 % | 22,0 % | 5,0 % |
| | | 14. den | 17,0 % | 21,0 % | 5,0 % |
| | | 19. den | 19,0 % | 20,0 % | 4,0 % |
| | | 260/21 | 19. den | 48,0 % | 20,0 % |

Z pohledu zdravotní mikrobiologické bezpečnosti byla u vyšetřovaných vzorků přírodních i ochucených syrovátkových nápojů sledována přítomnost salmonel, *L. monocytogenes*, počet bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* a koagulázopozitivních stafylokoků. Legislativní požadavky pro syrovátkové nápoje nejsou stanoveny. Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny uvádí v rámci kritérií výrobního procesu požadavky pouze na sušenou syrovátku, a to počty *Enterobacteriaceae* (limit 10 KTJ/g) a koagulázopozitivních stafylokoků (10-100 KTJ/g) ve výrobku na konci výrobního procesu. V tržní síti je pro sušené syrovátky z bakterií stanoven limit nulové přítomnosti salmonel. Vyšetřované vzorky syrovátkových nápojů uvedeným požadavkům pro sušenou syrovátku vyhovovaly. V žádném z vyšetřovaných vzorků nebyly prokázány salmonely. Počty bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* a koagulázopozitivních stafylokoků byly nižší než 10 KTJ/ml. Syrovátkové nápoje patří mezi potraviny k přímé spotřebě, takže se na ně v tržní síti vztahuje požadavek na počty *L. monocytogenes* do 100 KTJ/ml, kterému vyšetřované vzorky vyhověly. V žádném ze vzorků nebyla *L. monocytogenes* prokázána.

Závěr

Tato pilotní studie jako první předkládá informace o složení mikrobiomu syrovátkových nápojů vyrobených ze sladké syrovátky. Metagenomickou analýzou bylo prokázáno, že přírodní a ochucené syrovátkové nápoje ošetřené pasterací nejsou významným zdrojem bakterií čeledi *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae* a *Enterococcaceae*. Aby syrovátkové nápoje vykazovaly kromě vysoké nutriční hodnoty současně také probiotické účinky, je potřeba jejich obohacení o vhodné probiotické kultury. Metagenomická analýza vzorků syrovátek umožnila kromě přítomnosti DNA bakterií mléčného kvašení odhalit přítomnost dalších zástupců bakterií, např. DNA původců anaplazmózy přenášené klíšťaty, dostávajících se do syrovátky pravděpodobně z mléka pastevně chovaných krav. Přestože mikrobiologická kritéria pro syrovátkové nápoje nejsou stanovena, vyšetřované vzorky splňovaly legislativní limity na nepřítomnost salmonel, *L. monocytogenes*, bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* a koagulázopozitivních stafylokoků definovaných pro sušenou syrovátku.

Poděkování

Tato práce byla podpořena Ministerstvem zemědělství, Národní agenturou pro zemědělský výzkum, projektem QK1710156 (2017-2021, MZE/QK), v programu QK – Program aplikovaného výzkumu Ministerstva zemědělství na období 2017-2025 „ZEMĚ“, s dobou řešení projektu: 02/2017-12/2021.

Literatura

- BERTANI G., LEVANTE A., LAZZI C., BOTTARI B., GATTI M., NEVIANI E. (2020): Dynamics of a natural bacterial community under technological and environmental pressures: The case of natural whey starter for Parmigiano Reggiano cheese. *Food Res. Int.*, 129, 108860.
- ČSN EN ISO 6888-1 (2000): *Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda stanovení počtu koagulázopozitivních stafylokoků (Staphylococcus aureus a další druhy) – Část 1: Technika s použitím agarové půdy podle Baird-Parkera.*
- ČSN EN ISO 11290-1, 2 (2018): *Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu Listeria monocytogenes a Listeria spp. – Část 1: Metoda průkazu, Část 2: Metoda stanovení počtu.*
- ČSN EN ISO 6579-1 (2020): *Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda průkazu, stanovení počtu a sérotypizace bakterií rodu Salmonella – Část 1: Průkaz bakterií rodu Salmonella.*
- ČSN EN ISO 21528-2 (2021): *Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu bakterií čeledi Enterobacteriaceae – Část 2: Technika počítání kolonií.*
- HAYES M. M., HUGHES T. A., GREENE A. K. (2012): Bacterial diversity in dried colostrum and whey sold as nutraceutical products. *J. Food Sci.*, 77, M359-M363.
- JELEN P. (2011): Whey processing: Utilization and Products. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2, 731-737.
- KOLÁŘOVÁ RAŠKOVÁ Z., ŠALAKOVÁ A., SEDLAŘÍK V. (2015): Izolace proteinů ze syrovátky s antimikrobiálním účinkem pro kosmetické aplikace. *Mlékařské listy*, 132, I-IV.
- NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny ve znění Nařízení Komise (EU) 205/2020 ze dne 14. února 2020.
- SMITHERS W. (2015): Whey-ing up the options – yesterday, today and tomorrow. *Int. Dairy J.*, 48, 2-14.
- VÁCLAVÍK T., BALÁŽOVÁ A., BALÁŽ V., TKADLEC E., SCHICHOR M., ZECHMEISTEROVÁ K., ONDRUŠ J., ŠIROKÝ P. (2021): Landscape epidemiology of neglected tick-borne pathogens in central Europe. *Transbound. Emerg. Dis.*, 68, 1685-1696.
- YADAV J. S. S., YAN S., PILLI S., KUMAR L., TYAGI R. D., SURAMPALLI R. Y. (2015): Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnol. Adv.*, 33, 756-774.
- WANG Y., GUO J., HUANG A. (2018): Study on bacterial diversity in traditional sour whey of Yunnan province. *J. Food Process. Preserv.*, 42, e13553.
- ZOTTA T., SOLIERI L., LACUMIN L., PICOZZI C., GULLO M. (2020): Valorization of cheese whey using microbial fermentations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 104, 2749-2764.

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: 27. 10. 2021

Lektorováno: 21. 11. 2021