

Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Úřední věstník Evropské unie, 2005, L. 338, 22. 12. 2005, 12 s. (v platném znění)

Státní zemědělská a potravinářská inspekce. Výroční zpráva. 2023. <https://www.szpi.gov.cz/clanek/zprava-o-cinnosti-szpi-za-rok-2023.aspx>

SZPI, Potraviny na pranýři. Potravinářská inspekce letos zjistila mimořádně vysoké podíly nevyhovujících zmrzlin a ledů do nápojů, nevyhovělo 56 % hodnocených zmrzlin a 75 % vzorků ledů. 2022. <https://www.szpi.gov.cz/clanek/potravinarska-inspekce-letos-zjistila>

Vyhláška č. 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. Sbírka zákonů, Ministerstvo zemědělství. 2016, částka 162, 2016, 24 s.

Vyhláška č. 121/2023 Sb., o požadavcích na pokrm. Sbírka zákonů, Ministerstvo zemědělství. 2023, částka 63, 2023, 6 s.

Vyhláška č. 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. Sbírka zákonů, Ministerstvo zemědělství. 2016, částka 162, 2016, 24 s.

Yan, L., Pei, X. Y., Miao, J. J., Li, Y., Yang, S. R., Peng, Z. X., Yang, X. R., Mei, L. L., Yang, Q. W., Ren, H., Yang, D. J., Shi, H. M. Surveillance and examination of microbial contamination in ice cream in China. Food Quality and Safety, 2022, 6, fyac047

Korespondující autor:

doc. MVDr. Lenka Necidová, Ph.D.,

Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny

a ekologie, Veterinární univerzita Brno,

Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, ČR;

e-mail: necidova@vfu.cz

Přijato do tisku: 10. 2. 2025

Lektorováno: 11. 3. 2025

IZOLÁCIA, CHARAKTERIZÁCIA A RE-UTILIZÁCIA AUTOCH- TÓNNYCH KYSLOMLIEČNYCH BAKTÉRIÍ ZO SUROVÉHO KOZIEHO MLIEKA

Martin Tomáška¹, Maroš Drončovský¹, Miroslav Kološta¹,
Andrea Lauková²

¹ Výskumný ústav mliekárenský, a.s. Žilina

² Centrum biovied SAV v.v.i., Ústav fyziológie hospodárskych
zvierat, Košice

Isolation, characterisation and re-utilization of autochthonous lactic acid bacteria from raw goat's milk

Abstrakt

Pri výrobe syrov z kozieho mlieka sa odporúča mlieko pasterizovať kvôli riziku kliešťovej encefalitídy. Preto sa v procese výroby musia použiť štartovacie kultúry, či už komerčne dostupné alebo autochtónne s vhodnými technologickými vlastnosťami. Cieľom práce bolo preverenie

dvoch kmeňov laktokokov – *Lactococcus lactis* MK2/7 a MK 2/8 zo surového kozieho mlieka a kmeňa *Lactica-seibacillus paracasei* 21L10 v modelovej výrobe kozích polotvrdých zrejúcich syrov. Oba laktokoky, neprodukovali CO₂ a diacetyl, optimálne rástli pri teplote 30 °C a tolerovali prítomnosť NaCl (2,5 %) v modelových kultivačných médiách. Kmene dobre prekysávali na viacerých druhoch sterilných mliek. Vyrobené syry boli sensoricky prijateľné, pričom výsledný sensorický profil závisel od použitých kmeňov. Po 6. týždňoch zrenia bola mikrobiota syrov stále viabilná, pričom počty presumptívnych laktokokov a laktobacilov sa pohybovali rádovo na úrovni 10¹¹ KTJ/g.

Kľúčové slová: surové kozie mlieko, kyslomliečne baktérie, fermentácia, syr

Abstract

Pasteurizing cheeses from goat milk is recommended due to the risk of tick-borne encephalitis. Therefore, commercially available or autochthonous starter cultures with appropriate technological properties must be used in the processing. This study aimed to test two lactococci – *Lactococcus lactis* MK2/7 and MK 2/8 isolated raw goat milk, and *Lactica-seibacillus paracasei* 21L10, in model processing of semi-hard ripening goat cheeses. Both lactococci did not produce CO₂ and diacetyl, they grew optimally at a temperature of 30 °C and tolerated NaCl (2,5 %) in model culture media. The strains over-acidified well in several types of sterile milk. The cheeses produced were sensory acceptable, while the resulting sensory profile depended on the strains used. After 6 weeks of ripening, the cheese microbiota was still viable, with presumptive lactococci and lactobacilli up to 10¹¹ CFU/g.

Keywords: raw goat's milk, lactic acid bacteria, fermentation, cheese

Úvod

Na Slovensku rastie popularita kozieho mlieka a výrobkov z neho. V roku 2022 bolo registrovaných 5 877 fariem, s celkovým počtom jedincov 20 721 kusov, pričom uvedené počty od roku 2016 viac-menej kontinuálne rástli. Najpočetnejším plemenom bola Biela koza krátkosrstá (Smetanka, 2022). K reálnemu počtu chovaných a hospodársky využívaných kôz treba ešte pripočítať drobných chovateľov, ktorí chovajú tieto zvieratá výlučne pre vlastnú potrebu a bez oficiálnej registrácie.

Na základe odporúčaní Štátnej veterinárnej a potravinovej správy sa neodporúča konzumovať kozie mlieko a výrobky z neho bez tepelného ošetrenia, pretože tu existuje značné riziko výskytu vírusu kliešťovej encefalitídy. Z toho dôvodu sa na výrobu kyslomliečnych výrobkov a syrov musia používať štartovacie kultúry, väčšinou univerzálne a komerčne dostupné, pretože pôvodná mikrobiota je devitalizovaná pasterizáciou.

Nebovinné mlieka prirodzene obsahujú celú škálu bakteriálnych druhov, vrátane prospešných kyslomliečnych baktérií. V predchádzajúcich štúdiách boli popísané viaceré vlastnosti takýchto kmeňov (Lauková et al., 2024 a,b). Pozornosť bola zameraná najmä na ich postbiotické schopnosti a schopnosť prežívať v prirodzenom prostredí. Tieto vlastnosti kmeňov sú (okrem vhodných technologických) žiaduce aj pri výrobe syrov, pretože majú ochranný účinok a dokážu pôsobiť počas celej doby spotreby. Využitie autochtónnych kmeňov kyslomliečnych baktérií ako originálnych štartovacích kultúr, má preto pri výrobe syrov svoje opodstatnenie a význam z pohľadu bezpečnosti a posilnenia funkčných vlastností (Munekata et al., 2022). Ich účinok dokáže ešte viac posilniť schopnosť bielkovín kozieho mlieka pôsobiť voči nežiaducim baktériám v tráviacom trakte človeka (Zamri et. al., 2017).

Z kozieho mlieka, resp. zo zmesi kozieho a ovčieho mlieka sa vyrábajú vo svete viaceré syry. Ich zloženie a senzorické vlastnosti sú rôzne, podľa druhu syra (Gámbaro et al., 2017). Prevládajú čerstvé, roztierateľné syry a takisto polotvrdé s typickým charakterom.

Cieľom prezentovaného príspevku je popísanie praktických skúseností s výrobou polotvrdého zrejúceho syra z pasterizovaného kozieho mlieka s využitím autochtónnych kyslomliečnych baktérií, ktoré boli charakterizované z pohľadu ich technologických vlastností.

Materiál a metódy

Na izoláciu laktokokov bolo použité surové kozie mlieko (kozia farma Ing. Matušeka, Dolný Hričov). Mlieko bolo nariadené štandardným mikrobiologickým riedením (STN EN ISO 6887-1) vo fyziologickom roztoku (pH 7,0) a naočkované na povrch Petriho misiek (PM) s obsahom selektívneho agaru M 17 (Merck, Nemecko). Naočkované PM boli kultivované aeróbne pri teplote 30 °C, po dobu 72 hodín. Následne boli odpichnuté typické kolónie, ktoré boli viacnásobne preočkované. Takto izolované kolónie boli identifikované sekvenčnou analýzou a boli určené ako kmene *Lactococcus lactis* MK 2/7 a 2/8. Kmeň *Lacticaseibacillus paracasei* 21L10 bol izolovaný, identifikovaný a charakterizovaný v predchádzajúcich pokusoch (Klapáčová et al., 2015, Tomáška et al., 2015) a tiež bol izolovaný z kozieho mlieka.

Produkcia CO₂ u testovaných laktokokov bola sledovaná počas kultivácie daných kmeňov v tekutom M17 médiu (Merck, Nemecko) s ponorenými Durhamovými skúmavkami počas 48 hodín pri teplote 30 °C.

Tvorba diacetylu bola sledovaná po kultivácii testovaných kmeňov na sterilnom kravskom mlieku (30 °C, 24 h) a po prídavku KOH a α -naftolu (Sigma-Aldrich, USA).

Vplyv teploty a prítomnosti NaCl bol sledovaný nasledovne: Kmene laktokokov boli kultivované v tekutom médiu M 17 pri teplotách 20 °C, 30 °C a 37 °C bez prídavku NaCl, resp. pri teplote 30 °C bez prídavku a s prídavkom 1,0 %, 2,5 % a 5,0 % NaCl. Pri analýzach boli testovacie média naočkované 1 % nočnej kultúry (kultúra

po 18 hodinách kultivácie). Rast bol sledovaný meraním absorpcie (A) pri vlnovej dĺžke 600 nm na turbidimetri Iris (Hanna Instruments, USA). Absorbancia bola meraná oproti destilovanej vode.

Fermentácia mliek kmeňmi laktokokov bola sledovaná meraním poklesu aktívnej kyslosti (pH) na pH metri 526 (WTW, Nemecko). Na pokusy sa použilo sterilné kravské, kozie a ovčie mlieko, ako aj kombinácia kozieho a ovčieho mlieka v pomere 1:1. Mlieko bolo naočkované 1 % nočnej kultúry pomnoženej v M-17 bujóne. Mlieka boli fermentované pri teplote 30 °C, staticky.

Na pokusné výroby polotvrdých syrov eidamského typu na báze kozieho mlieka boli použité izolované kmene laktokokov a kmeň zo zbierky Výskumného ústavu mliekárenského, a.s. (Žilina) *Lacticaseibacillus paracasei* 21L10. Pasterizované kozie mlieko (2 x 10 l) bolo zaočkované prevádzkovými zákvasmi (sterilizované kravské mlieko s aplikáciou kmeňov *Lactococcus lactis* MK 2/7, resp. *Lactococcus lactis* MK 2/8 a *Lacticaseibacillus paracasei* 21L10), v objemovom pomere zákvasov laktokokov ku laktobacilom 4:1. Pracovný postup výroby syrov bol nasledovný: Kozie mlieko sa spasterizovalo pri teplote 72 °C, 30 – 40 s a následne sa vychladilo na teplotu 32 °C. Do mlieka sa pridali 2 ml 36 % roztoku CaCl₂ na 10 l mlieka a prevádzkového zákvasu v objeme 1 %. Mlieko prekysávalo po dobu 15 minút pri teplote 32 °C a potom bolo pridané syridlo Fromase 220 XL (DSM Food Specialties, Holandsko) v množstve 2 ml na 10 l mlieka. Zrážanie mlieka prebiehalo pri tej istej teplote po dobu 35 – 40 minút, pričom syrenina sa krájala na kocky približne 3x3 cm, nechala sa odpočívať v kľude po dobu 10 minút, harfovala sa (drobila) po dobu 5 minút. Následne sa syrenina vytužovala, počas miešania pri teplote 33 °C až 35 °C po dobu 20 minút. Zo zmesi sa odčerpala srvátka – približne v množstve 30 % z objemu mlieka. Pridala sa vlašná voda s teplotou 45 °C v množstve 80 % z objemu odčerpanej srvátky, syrenina sa dohriala na teplotu 42 °C a dosušala sa pri tej istej teplote 40 minút. Potom sa syrenina plnila do foriem, mierne sa lisovala pod tlakom, obracala sa a nechala sa odkvapkať pri teplote 22 °C počas 3 hodín. Syrenina prekysávala v klimateckej komore pri teplote 20 °C do nasledujúceho dňa, keď bolo dosiahnuté pH 5,0 – 5,1. Po vybratí vyformovaných syrov sa tieto solili v 20 % roztoku jedlej soli (NaCl) po dobu 2 hodín. Po zaschnutí syrov sa syry zavoskovali syrárskym voskom (Skar, Slovensko) a zreli v klimateckej komore pri teplote 12 – 14 °C po dobu 6 týždňov.

Počty laktokokov boli zisťované po kultivácii na selektívnom agare M17 pri teplote 30 °C, po dobu 72 hodín a počty laktobacilov na MRS agare (Merck, Nemecko) pri teplote 37 °C, po dobu 72 hodín.

Výsledky a diskusia

Cieľom prác, výsledky ktorých sú popísané v tomto príspevku, bolo:

- i. Izolácia autochtónnych laktokokov zo surového kozieho mlieka a ich identifikácia,
- ii. charakterizácia izolovaných kmeňov laktokokov na ich základné technologické vlastnosti – rast pri rôznych teplotách a pri variabilnom obsahu NaCl, produkcia CO₂ a diacetylu,
- iii. testovanie kmeňov laktokokov na rast v rôznych druhoch mliek – kysacia aktivita,
- iv. výroba polotvrdého zrejúceho syra z pasterizovaného kozieho mlieka s aplikáciou autochtónnych kmeňov laktokokov a laktobacilov.

Zo surového kozieho mlieka boli izolované viaceré kmene autochtónnych laktokokov, z ktorých dva kmene *Lactococcus lactis* MK 2/7 a 2/8 boli ďalej charakterizované a použité na výrobu syrov spolu s kmeňom *Lactica-seibacillus paracasei* 21L10.

Ani jeden z kmeňov laktokokov neprodukoval CO₂. Z pohľadu výroby syrov môže byť produkcia tohto plynu v určitých prípadoch žiaduca, ak sa vyrábajú syry s tvorbou ôk a niektoré laktokoky túto schopnosť majú (Monnet et al., 2002).

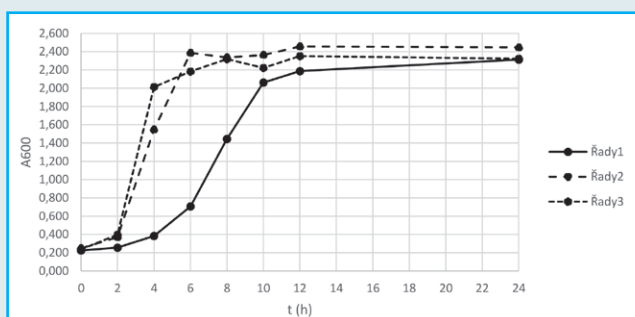
Produkcia diacetylu nebola prítomná ani u jedného kmeňa laktokokov. Diacetyl sa podieľa na rozvoji arómy najmä kyslomliečnych nápojov a smotán. Má však význam aj v syrárstve, napr. Le Bars a Yvon (2008) dospe- li k záveru, že kyslomliečne baktérie vrátane laktokokov, vykazujúce aktivitu glutamát dehydrogenázy aj vysokú aktivitu aspartát amino transferázy budú dobrými producentmi diacetylu počas zrenia syra pri pH blízkom 5.

Rast kmeňov laktokokov (ktoré sú súčasťou štartovacích kultúr) pri rôznych teplotách je dôležitý parameter,

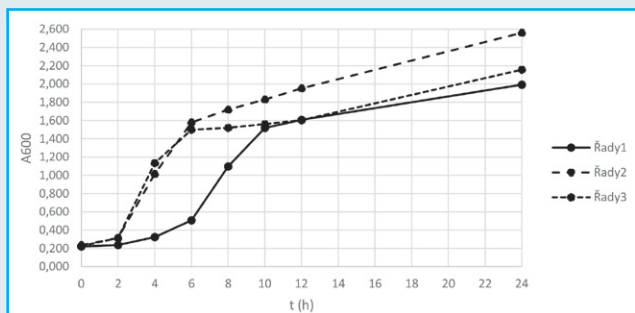
pretože pri výrobe syrov a počas ich zrenia sa teploty menia v určitom intervale. Teploty 30 °C a 37 °C sú dôležité pri predzrievaní mlieka, či prípadnom dohrievaní syreniny a teplota 20 °C zas pri jeho zrení. Na obr. 1 a 2 je zobrazený rast testovaných kmeňov laktokokov práve pri uvedených teplotách.

U oboch kmeňov laktokokov sa preukázalo, že najpomalšie rástli pri teplote 20 °C. Kmeň *Lactococcus lactis* MK 2/7 však dosahoval po 24 hodinovej kultivácii pri tejto teplote rovnakú koncentráciu buniek, ako pri teplotách 30 °C a 37 °C. Kmeň *Lactococcus lactis* MK 2/8 vykazoval pri všetkých testovaných teplotách odlišné rastové krivky ako kmeň *Lactococcus lactis* MK 2/7, ktorý rástol s minimálnymi rozdielmi optimálne pri teplotách 30 °C a 37 °C. Kmeň *Lactococcus lactis* MK 2/8 rástol viditeľne najlepšie pri teplote 30 °C, pričom rastová krivka mala zaujímavý priebeh aj v tom, že A sa zvyšovala aj po 10 hodinách, čo pri druhom kmeni nebolo tak výrazné. Okrem rastu v závislosti od teploty sa touto premennou mení aj produkčná rýchlosť tvorby kyseliny mliečnej. Chen et al. (2015) preukázali, že hoci kmene druhu *Lactococcus lactis* majú zvyčajne optimum rastu pri 30 °C, zvýšenie kultivačnej teploty na 38 °C zvýšilo rýchlosť fermentácie laktózy o 33%, pričom špecifická produkčná rýchlosť tvorby laktátu sa zvýšila o 12%.

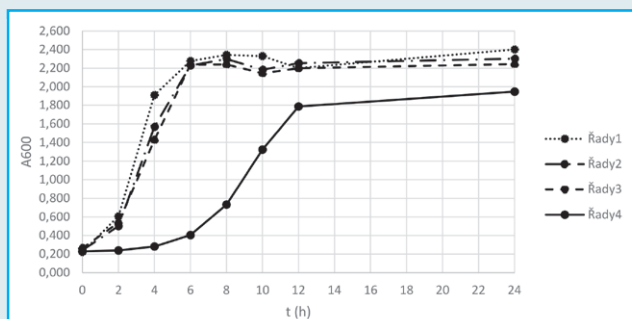
Laktokoky môžu prirodzene tolerovať vyššie koncentrácie NaCl, pričom samozrejme so zvyšujúcou koncentráciou tejto látky klesá metabolická aktivita kmeňov, pričom viac je ovplyvnená schopnosť ich rastu, ako



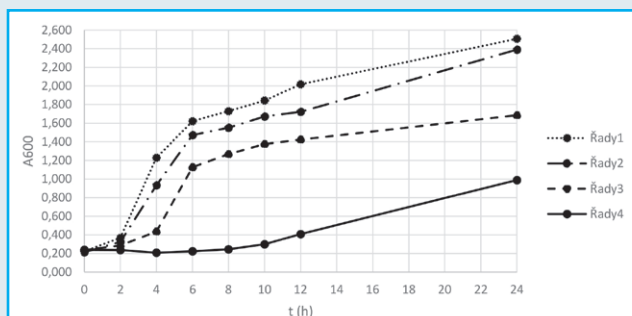
Obr. 1 Rast kmeňa *Lactococcus lactis* MK 2/7 v tekutom médiu M-17 pri teplotách 20 °C (rada 1), 30 °C (rada 2) a 37 °C (rada 3)



Obr. 2 Rast kmeňa *Lactococcus lactis* MK 2/8 v tekutom médiu M-17 pri teplotách 20 °C (rada 1), 30 °C (rada 2) a 37 °C (rada 3)



Obr. 3 Rast kmeňa *Lactococcus lactis* MK 2/7 v tekutom médiu M-17 v rôznych koncentráciách NaCl: bez obsahu NaCl (rada 1), 1 % NaCl (rada 2), 2,5 % (rada 3) a 5 % NaCl (rada 4)

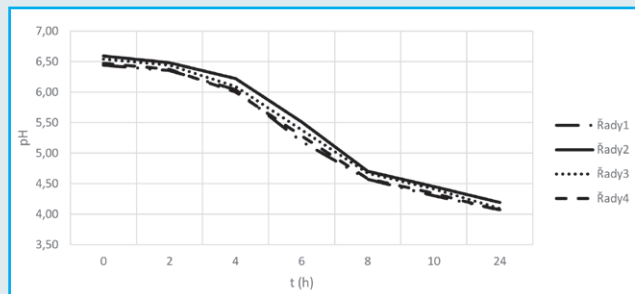


Obr. 4 Rast kmeňa *Lactococcus lactis* MK 2/8 v tekutom médiu M-17 v rôznych koncentráciách NaCl: bez obsahu NaCl (rada 1), 1 % NaCl (rada 2), 2,5 % (rada 3) a 5 % NaCl (rada 4).

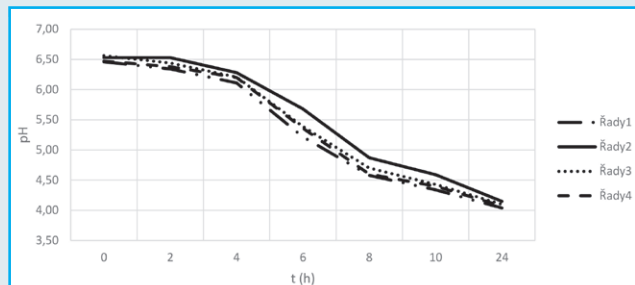
samotná viabilita (Kristensen et al., 2020). Pri sledovaní vplyvu NaCl na rast nami testovaných kmeňov laktokokov (Obr. 3 a 4) bolo preukázané, že prídavok 1 % NaCl inhiboval ich rast minimálne. Výraznejšia inhibícia sa prejavila až pri 2,5 % prídavku a najvyššia pri prídavku 5% NaCl. Kým pri kmeni *Lactococcus lactis* MK 2/7 sa aj pri najvyššom prídavku NaCl dosiahla po 24 hodinách kultivácie približne rovnaká A ako pri nižších prídavkoch, pri kmeni *Lactococcus lactis* MK 2/8 bola nižšia. Posledný menovaný kmeň mal podobné rastové charakteristiky ako pri sledovaní vplyvu teploty na rast, t.j. výraznejší nárast A aj po 10 hodinách kultivácie.

V predchádzajúcej práci (Kološta et al., 2014) bolo preukázané, že použitý kmeň *Lactocaseibacillus paracasei* 21L10 tiež neprodukoval CO₂ a diacetyl. Jeho optimálna teplota rastu bola 37 °C a rovnako dobre toleroval prostredie s prídavkom NaCl.

Pochopiteľne pri štartovacích kultúrach je najdôležitejšie, ako sú schopné rásť na mlieku a prekysávať laktózu na kyselinu mliečnu a iné metabolity, ktoré sa podieľajú na senzorickom profile vzniknutého koagulátu. Preto boli izolované kmene laktokokov testované na ich schopnosť rastu v mlieku pri kultivačnej teplote 30 °C. Príslušnú kysiacu aktivitu testovaných laktokokov zobrazujú kysacie krivky na obr. 5 a 6. Ako substrát bolo použité sterilné kozie mlieko a pre porovnanie aj kravské, ovčie mlieko a zmes kozieho a ovčieho mlieka v pomere 1:1 – práve zo zmesi uvedených mliek je vyrábaný aj syr Feta (Özer, 1999). Z uvedených obrázkov vyplýva, že kmene o niečo rýchlejšie prekysávali na ne-



Obr. 5 Pokles pH pri fermentácii sterilného kozieho (rada 1), kravského (rada 2), ovčieho (rada 3) a zmesi ovčieho a kozieho mlieka v pomere 1:1 (rada 4) kmeňom *Lactococcus lactis* MK 2/7



Obr. 6 Pokles pH pri fermentácii sterilného kozieho (rada 1), kravského (rada 2), ovčieho (rada 3) a zmesi ovčieho a kozieho mlieka v pomere 1:1 (rada 4) kmeňom *Lactococcus lactis* MK 2/8

bovinných mliekach, ako na mlieku kravskom, pričom nezáležalo aký kmeň bol použitý. Na konci experimentov (24 hodín) bolo pH kravského mlieka 4,2, u ostatných mliek 4,0 – 4,1. K najrýchlejšiemu poklesu pH dochádzalo medzi 4 a 8 hodinou kultivácie, pričom k zrazeniu mlieka došlo v 8. hodine. Vytvorený koagulát bol senzorycky hodnotený ako veľmi príjemný (chuť, vôňa) a kompaktný. Najpriaznivejšie senzorycké hodnotenie bolo zaznamenané pri zmesi kozieho a ovčieho mlieka. Zaujímavým poznatkom, najmä však z pohľadu výroby kyslomliečnych nápojov, bola skutočnosť, že zrazenina u kmeňa *Lactococcus lactis* MK 2/8 mala výrazný ťahavý charakter.

Kološta et al. (2014) publikovali kmeň *Lactocaseibacillus paracasei* 21L10, ktorý nemal výraznú aktivitu β-galaktosidázy, a preto prekysával na mlieku lepšie v ko-kultivácii práve s laktokokmi, ako samostatne. Preto bol pri výrobe syrov použitý ako doplnková kultúra spolu s popísanými laktokokmi.

Po otestovaní základných technologických vlastností izolovaných autochtónnych kmeňov laktokokov bola realizovaná výroba dvoch polotvrdých syrov z pasterizovaného kozieho mlieka. Okrem dvoch uvedených kmeňov sa na výrobu použil aj termofilný kmeň *Lactocaseibacillus paracasei* 21L10, pričom v použitých prevádzkových zákvasoch bol pomer laktokokov a laktobacilov 4:1. Koncentráciu laktokokov a laktobacilov, hodnoty pH použitého prevádzkového zákvasu uvádza tab. 1.

Sledované ukazovatele v jednotlivých štádiách výroby polotvrdých syrov (zmeny pH, počty viabilných laktokokov, laktobacilov) sú uvedené v tabuľkách 2 a 3.

Tab. 1 Prevádzkový zákvas (pH, počty laktokokov, laktobacilov) na výrobu polotvrdých syrov (eidamský typ)

Kmeň	pH	KTJ/g
<i>Lactococcus lactis</i> MK 2/7	4,18	7,4x10 ¹²
<i>Lactococcus lactis</i> MK 2/8	4,34	4,6x10 ¹²
<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> 21L10	4,26	6,3x10 ¹¹

Tab. 2 Zmeny pH počas výroby polotvrdého kozieho syra (eidamský typ)

Fáza výroby	<i>Lactococcus lactis</i> MK 2/7 + <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> 21L10	<i>Lactococcus lactis</i> MK 2/8 + <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> 21L10
mlieko pred výrobou	6,42	6,42
mlieko pred syrením	6,28	6,32
syr po odkvapkaní	5,76	5,92
syr pred solením	5,07	5,18
syr po 1 týždni zrenia	5,09	5,21
syr po 2 týždňoch zrenia	5,12	5,22
syr po 3 týždňoch zrenia	5,07	5,17
syr po 4 týždňoch zrenia	5,09	5,18
syr po 6 týždňoch zrenia	5,09	5,16

Tab. 3 Zmeny počtov laktokokov a laktobacilov (KTJ/g) počas výroby polotvrdého kozieho syra (eidamský typ)

Fáza výroby	Počty laktokokov		Počty laktobacilov	
	Druh zákvasu		Druh zákvasu	
	MK 2/7 + 21L10	MK 2/8 + 21L10	MK 2/7 + 21L10	MK 2/8 + 21L10
mlieko pred výrobou	--	--	--	--
mlieko pred syrením	5,7x10 ⁷	5,3x10 ⁷	5,6x10 ⁶	4,1x10 ⁶
syр po odkvapkani	5,7x10 ¹¹	3,8x10 ¹¹	9,6x10 ¹⁰	8,1x10 ¹⁰
syр pred solením	4,3x10 ¹²	2,6x10 ¹²	2,7x10 ¹¹	2,4x10 ¹¹
syр po 1 týždni zrenia	5,9x10 ¹²	4,2x10 ¹²	5,7x10 ¹¹	3,2x10 ¹¹
syр po 2 týždňoch zrenia	5,7x10 ¹²	3,92x10 ¹²	2,7x10 ¹²	1,6x10 ¹²
syр po 3 týždňoch zrenia	5,1x10 ¹²	3,6x10 ¹²	4,1x10 ¹²	2,8x10 ¹²
syр po 4 týždňoch zrenia	3,2x10 ¹²	2,7x10 ¹²	2,7x10 ¹²	1,6x10 ¹²
syр po 6 týždňoch zrenia	8,4x10 ¹¹	6,1x10 ¹¹	9,6x10 ¹¹	7,3x10 ¹¹

Z uvedených údajov (tab. 2) vyplýva, že syр s aplikáciou *Lactococcus lactis* MK 2/7 + *Lactocaseibacillus paracasei* 21 L10 prekysával rýchlejšie, čo dokumentuje dynamika poklesu pH v jednotlivých fázach výroby. Potvrdzujú sa tým výsledky namerané v predchádzajúcich experimentoch.

Najvyššie počty viabilných laktokokov na úrovni 10¹² KTJ/g (tab. 3) boli zistené pred solením (po prekysnutí), pričom tieto počty sa udržiavali až do 6 týždňa zrenia. Počty laktobacilov boli po prekysnutí na úrovni 10¹¹ KTJ/g, následne v jednotlivých štádiách zrenia dosahovali koncentráciu 10¹² KTJ/g. Dosiahnuté výsledky poukázali na dostatočnú viabilitu použitých kmeňov kyslomliečnych baktérií. Počty laktokokov a laktobacilov boli pomerne vysoké, ako v prevádzkovom zákvasu, tak aj v samotných syroch. Tento fenomén bol pozorovaný aj u iných kmeňoch kyslomliečnych baktérií, ktoré boli izolované zo surového kozieho mlieka (Drončovský et al., 2025). Dobrú viabilitu laktokokov a laktobacilov možno vysvetliť aj tým, že pred zaočkovaním prevádzkového zákvasu, boli kmene viacnásobne preočkované v príslušných syntetických tekutých médiách (M 17 a MRS).

V jednotlivých fázach výroby sa vyrobené polotvrdé syry komisionálne hodnotili z hľadiska ich senzorických vlastností (vôňa, farba, chuť) a konzistencie. Syry sa vyznačovali príjemnou kyslomliečnou vôňou a chuťou, pričom u syra s aplikáciou kmeňa *Lactococcus lactis* MK 2/7 bola v prvých fázach zrenia (do 4 týždňa) konštatovaná výraznejšia kyslomliečna chuť, čo korešpondovalo s rýchlejším poklesom pH (viď tab. 2). Farba syrov bola typická pre syry z kozieho mlieka - svetlejšia krémová. Konzistencia syrov zodpovedala jednotlivým fázam výroby, t.j. bola pevnejšia v prvých 3 týždňoch zrenia. Následne s postupujúcim zrením boli syry mäkšie, vláčnejšie, čo možno pripísať skutočnosti, že syry zreli pod voskom, čím sa zabránilo ich rýchlemu vysychaniu.

Záver

Predkladaná práca poukazuje na to, že prístup reutilizácie autochtónnych kyslomliečnych baktérií pri výrobe syrov má svoj význam. Pomocou týchto kmeňov

je možné vyrobiť syry s veľmi dobrými senzorickými vlastnosťami štandardným spôsobom. O to dôležitejšie je to pri kozom mlieku, ktoré je vhodné konzumovať iba po tepelnom ošetrení, čím je potrebné použiť pri výrobe syrov štartovacie, resp. doplnkové kultúry.

Podakovanie

Tento príspevok vznikol vďaka podpore v rámci projektu APVV-20-0204 „Metóda pre hodnotenie mikrobiologickej kvality surového kozieho mlieka a aplikácia autochtónnych kyslomliečnych baktérií pri spracovaní nebovinných mliek.“

Použitá literatúra

- DRONČOVSKÝ, M., KOLOŠTA, M., LAUKOVÁ, A., TOMÁŠKA, M. (2025) Výroba čerstvých syrov z kozieho mlieka s využitím autochtónnych laktokokov. *Bezpečnosť a kvalita potravín. Zborník vedeckých prác*, s. 177–180, Garmond Nitra, <https://doi.org/10.15414/2025.sqf25-psp>
- GÁMBARO, A., GONZÁLEZ, V., JIMÉNEZ, S., ARECHAVALETA, A., IRIGARAY, B., CALLEJAS, N., GROMPONE, M., VIEITEZ, I. (2017): Chemical and sensory profiles of commercial goat cheeses. *International Dairy Journal*, 69, s. 1–8, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.01.009>
- CHEN, J., SHEN, J., INGVAR HELLGREN, L., JENSEN, P.R., SOLEM, CH. (2015): Adaptation of *Lactococcus lactis* to high growth temperature leads to a dramatic increase in acidification rate. *Scientific Report*, 5, 14199, <https://doi.org/10.1038/srep14199>
- KLAPÁČOVÁ, L., GREIF, G., GREIFOVÁ, M., TOMÁŠKA, M., HANUŠ, O., DUDRIKOVÁ, E. (2015): Antimicrobially active lactobacilli from goats' milk that do not produce biogenic amines. *Journal of Food and Nutrition Research*, 54 (3), s. 270–274, ISSN 1336-8672
- KOLOŠTA, M., SLOTTOVÁ, A., DRONČOVSKÝ, M., KAPÁČOVÁ, L., KMEŤ, V., BUJŇÁKOVÁ, D., LAUKOVÁ, A., GREIF, G., GREIFOVÁ, M., TOMÁŠKA, M. (2014): Characterisation of lactobacilli from ewe's and goat's milk for their further processing re-utilisation. *Potravinárstvo*, 8(1), s. 130–134, <https://doi.org/10.5219/354>
- KRISTENSEN, L.S., SIEGUMFELDT, H., LARSEN, N., JESPERSEN, L. (2020): Diversity in NaCl tolerance of *Lactococcus lactis* strains from DL-starter cultures for production of semi-hard cheeses. *International Dairy Journal*, 105, 104673, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104673>
- LAUKOVÁ, A., CHRASTINOVÁ, L., PLACHÁ, I., FOCKOVÁ, V., ZÁBOLYOVÁ, N., BINO, E., GREŠÁKOVÁ, L., ŽITŇAN, R., FORMELOVÁ, Z., ŠČERBOVÁ, J., BELZECKI, G., MILTKO, R., POGÁNY SIMONOVÁ, M. (2024a): Dairy-derived and bacteriocin-Producing strain *Lactiplantibacillus plantarum* LP17L/1: An assessment of its safety and effect using broiler rabbits. *Frontiers in Biosciences-Elite*, (16) 3, 21, <https://doi.org/10.31083/j.fbe1603021>
- LAUKOVÁ, A., ZÁBOLYOVÁ, N., BINO, E., POGÁNY SIMONOVÁ, M. (2024b): Autochtónne postbioticky aktívne kmene *Lactococcus lactis*, ich stabilita a prežívanie v jogurtoch z kozieho mlieka. *Sborník přednášek 18 Symposia Společnosti pro probiotika a prebiotika* (ed.: Musilová, Š., Vlková, E.), s. 28, Praha 16.4.2024, Česká zemědělská univerzita v Praze, ISBN: 978-80-213-3373-4
- LE BARS, D., YVON, M. (2008): Formation of diacetyl and acetoin by *Lactococcus lactis* via aspartate catabolism. *Journal of Applied Microbiology*, 104 (1), s. 171–177, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03539.x>
- MONNET, Ch.C., EL ATTAR, A., CORRIEU, G. (2002): Production of carbon dioxide by *Lactococcus lactis* strains with attenuated lactate dehydrogenase activity, in pure cultures and in mixed cultures with an acidifying strain. *Lait*, 2002, 82 (3), s. 267–279, [ff10.1051/laite:2002009ff](https://doi.org/10.1051/laite:2002009ff), fflal-02676552f

MUNEKATA, P.E.S., CHAVES-LOPEZ, C., FERNANDEZ-LOPEZ, J., VIUDA-MARTOS, M., SAYAS-BARBERA, M.E., PEREZ-LVAREZ, J.A. (2022): Autochthonous Starter Cultures in Cheese Production – A Review. *Food Reviews International*, (39) 8, s. 5886–5904, <https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2097691>

ÖZER, B.H. (1999): CHEESE | Microflora of White-brined Cheeses. In *Encyclopedia of Food Microbiology*, s. 397–403. Dostupné na: <https://doi.org/10.1006/rwfm.1999.0315>

SMETANKA, A. (2022): Vývoj a budúcnosť početných stavov kôz chovaných na Slovensku. Agroporadenstvo [online]. Dostupné na: <https://www.agroporadenstvo.sk/zivocisna-vyroba-kozy?article=2758>

STN EN ISO 6887-1 (2017) Mikrobiológia potravinárskeho reťazca. Úprava analytických vzoriek, príprava základnej suspenzie a desaťnásobných riedení na mikrobiologické skúšanie. Časť 1: Všeobecné pokyny na prípravu základnej suspenzie a desaťnásobných riedení (ISO 6887-1: 2017). Úrad pre normalizáciu a metrológiu SR.

TOMÁŠKA, M., DRONČOVSKÝ, M., KLAPÁČOVÁ, L., SLOTTOVÁ, A., KOLOŠTA, M. (2015): Potential probiotic properties of lactobacilli isolated from goat's milk. *Potravinárstvo*, 9 (1), s. 66–71, <https://doi.org/10.5219/434>

ZAMRI, N. A., MOHD ISHAK, N. F., ABDULLAH, N., WAN SULAIMAN, W. S. (2017): Effects of Goat Milk and Its Products on Human Pathogenic Bacteria: A Systematic Review. *Advanced Science Letter*, 23, s. 4686–4691, <https://doi.org/10.1166/asl.2017.8949>

Kontaktná adresa: Ing. Martin Tomáška, PhD.,

Výskumný ústav mliekárenský, a.s.,

Dlhá 95, 010 01 Žilina, Slovensko,

e-mail: tomaska@vumza.sk

Předáno do tisku: 20. 2. 2025

Lektorováno: 11. 3. 2025

DOPORUČENÍ ŘEŠENÍ MIKROBIOLOGICKÝCH ANALÝZ SYROVÉHO KOZÍHO MLÉKA PŘI PŘERUŠENÍ TEPLOTNÍHO ŘETĚZCE

Marcela Klimešová, Hana Nejeschlebová, Oto Hanuš, Ludmila Nejeschlebová

Výzkumný ústav mliekárenský, Praha

Recommendations of solution for microbiological analysis of raw goat milk in case of interruption of the temperature chain

Abstrakt

Byl vyhodnocen vliv zvýšení teploty vzorků mléka během jeho svozu do laboratoře, a to z 8 °C na teplotu 11, 14, 17, 20 a 25 °C při různé době expozice 0,5 až 4 hodiny. Vzorky kozího mléka byly uchovány v termostatech při dané teplotě a analyzovány po 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3 a 4 hodinách. Po každé analýze byly vzorky uloženy do lednice při teplotě 8 °C a znovu analyzovány po 3 a 24 hodinách. Z výsledků a mezi reprodukovatelnosti byla vyhotovena doporučení, při které teplotě a době expozice jsou výsledky mikrobiologických vyšetření věrohodné.

Klíčová slova: koza; nekonzervované mléko; mezofilní mikroorganismy; psychrotrofní mikroorganismy; koliformní bakterie; *Staphylococcus aureus*

Abstract

The effect of increasing the temperature of the milk samples during their transport to the laboratory, from 8 °C to 11, 14, 17, 20 and 25 °C with different exposure times of 0.5 to 4 hours, was evaluated. Goat milk samples were kept in thermostats at a given temperature and analyzed after 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 and 4 hours. After each analysis, the samples were stored in a refrigerator at 8 °C and reanalyzed after 3 and 24 hours. Based on the results and reproducibility limits, recommendations were made at which temperature and exposure time the results of microbiological examinations are reliable.

Keywords: goat; nonpreserved milk; mesophilic microorganisms; psychrotrophic microorganisms; coliforming bacteria; *Staphylococcus aureus*

Úvod

Kvalita kozího mléka je legislativně podchycena v nařízení ES č. 853/2004, kde se však uvádí pouze limitní ukazatel pro celkový počet mezofilních mikroorganismů CPM < 1 500 000 KTJ/ml (pro syrové mléko) a ≤ 500 000 KTJ/ml (mléko určené pro výrobu produktů ze syrového mléka postupem, který nezahrnuje tepelnou úpravu). V některých zemích (např. Francie, Španělsko, Řecko) je zohledňován pro proplácení mléka počet somatických buněk na základě smlouvy mezi dodavatelem a zpracovatelem mléka (Pirisi a kol., 2007). Výsledky ostatních ukazatelů, jako výskyt koliformních a psychrotrofních bakterií nejsou, jak u nás ani v ostatních zemích EU, v kozím mléce legislativně kontrolovány.

Podle nařízení ES č. 853/2004 musí být mléko zchlazeno na 8 °C a tato teplota musí být podle normy ČSN EN ISO 707 dodržena i během transportu do laboratoře, pro jeho následné mikrobiologické vyšetření. Práce je zaměřena na stanovení a kontrolu celkového počtu mezofilních mikroorganismů (CPM), psychrotrofních mikroorganismů (CPP), koliformních mikroorganismů (Koli) a *Staphylococcus aureus* (SA) v syrovém nekonzervovaném kozím mléce při porušení chladového režimu během svozu vzorků mléka do mikrobiologické laboratoře.

Materiál a metody

Původ vzorků

Byla analyzována celkem tři bazénová mléka, u kterých byly stanoveny mezofilní, psychrotrofní a koliformní mikroorganismy. Vzorky mléka byly odebírány vždy po ranním dojení a vychlazené na teplotu 6 ± 1 °C. Pro stanovení *S. aureus*, byly pro jeho analýzu zakoupeny tři různé šarže pasterovaného kozího plnotučného mléka (České