

INFLUENCE OF THE RIPENING ONTO THE GROWTH OF SELECTED PROBIOTIC CULTURES IN LOW – COOKED CHEESE

Viera Lovayová, Eva Dudriková, Radomíra Nemcová, Kvetoslava Rimárová

ABSTRACT

The work describes changes in numbers of selected probiotic cultures in the cheese during its ripening. The technology to manufacture semi-hard low-scaled cheeses used probiotic cultures *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* 96. Sampling took place each month from January to June 2009. Samples of cheese were microbiologically analyzed by standard microbiological methods for the numbers ingested probiotic cultures throughout the period. Physico-chemical parameters (fat content, dry matter content of sodium chloride, titratable acidity, and pH and in the last month and lactic acid and protein content) were followed selected during four months of ripening. For each sample analyzed, and the center region of the cheeses. Achieved values observed physico-chemical parameters were significantly changed during the reporting period and amounted to the value required by the applicable legislation for the cheese. The results of microbiological analysis showed that in all evaluated selected probiotic cheeses was observed during a six month minimum storage period of therapy, which sets the value of micro-organisms at the end of the storage order of 10^6 cfu.ml⁻¹

Keywords: probiotic, parameter, cheese, sampling, ripening

ÚVOD

Mlieko, mliečne výrobky, a teda aj syry majú významné miesto vo výžive všetkých skupín obyvateľstva. Ich každodenný príjem je odporúčaný zdravotníkmi organizáciami a mnohými odborníkmi.

Syry ako také patria medzi najatraktívnejšie mliečne výrobky a celosvetovo sa na ich výrobu spotrebováva cca 46 % všetkého mlieka. Napriek stále zvyšujúcej sa spotrebe syrov u nás, máme oproti krajinám EÚ ešte veľkú rezervu a možnosť jej zvyšovania. Hoci u nás je spotreba syrov už vyše 9 kg/obyvateľa a rok, celoeurópsky priemer je cca 19 kg/osobu a rok, čo je spotreba vyše dvojnásobná a pritom niektoré syrárske krajiny majú spotrebu aj vyše 20 kg/osobu a rok (Nemecko, Grécko, Francúzsko). Syry vyrobené na Slovensku majú dobrý kvalitatívny štandard a niektoré syrárske špeciality majú už svoju tradíciu a sú známe i v zahraničí (Herian, 2005).

Syry sa vyznačujú bohatým výskytom esenciálnych živín ako sú bielkoviny, tuky, minerálne látky, vitamíny a podobne. Spracovaním mlieka na syr sa usposobujú niektoré jeho základné zložky na lepšiu stráviteľnosť ako aj na to, aby sa syr stal vhodnou potravou pre diabetikov, pre ľudí trpiacich intoleranciou laktózy, aby bol vhodný na konzumáciu pre chorých a rekonvalescentov a aby ho mohli bez problémov konzumovať rovnako deti, ako aj dospelí (Palo, 2004).

Syr môže ponúknuť určité výhody ako nosič probiotických mikroorganizmov. S vyšším pH, ako tradičné probiotické potraviny (napr. jogurty a fermentované mlieka), môže poskytovať stabilnejšie prostredie, ktoré podporuje ich dlhodobé zretie. Okrem toho jeho relatívne vysoký obsah tuku môže poskytnúť ochranu probiotických baktérií počas prechodu zažívacím traktom. Avšak, medzi najdôležitejšie kritériá pri posudzovaní syra ako probiotickej potraviny je,

MATERIÁL A METÓDY

Mlieko v množstve 400 litrov sa spracovávalo v laboratórnych priestoroch na Ústave mikrobiológie a gnotobiológie UVFL v Košiciach. Proces výroby polotvrdých syrov prebiehal na prístroji Polyfood model SI - 050 (Inventa Agri, Taliansko). Boli vyrobené polotvrdé syry s nízkodohrievanou syreninou, ktoré zreli po dobu 6

že mikroorganizmy sú schopné prežiť pomerne dlhé doby zrenia v dĺžke najmenej 6 mesiacov. Podľa Chapmana a Sharpea (1981) v období dozrievania syrov, spravidla pri teplote 2 až 16 °C, počet nepatogénnych baktérií, predovšetkým laktobacilov (*Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, *L. brevis*) a pediokokov (*Pediococcus pentosaceus*) stúpa rýchlejšie ako u čerstvých syrov.

Mnohé z týchto baktérií mliečného kvasenia majú zložité proteolytické systémy, ktoré sú spojené s procesom zrenia. V dôsledku toho boli laktobacily s definovanými proteolytickými systémami vedome pridávané ako doplnky do mlieka na výrobu syrov s cieľom ovplyvniť zrenie syrov (Lynch et al., 1996).

V súčasnej dobe sa veľké množstvo probiotických mikroorganizmov používa na zlepšenie chuti a sú komerčne dostupné aj v syroch, vrátane syrov holandského typu a syrov čedar. Existuje pomerne málo správ o syroch ako nosičoch probiotických organizmov.

Dinakar a Mistry (1994) pridali *Bifidobacterium bifidum* do syrov typu čedar ako probiotický doplnok. Tento kmeň prežil aj v syroch, ktoré boli uchovávané po dobu 6 mesiacov, kde ich hodnoty dosahovali 23. 10⁷ CFU.g⁻¹ syra, bez toho, aby sa nepriaznivo ovplyvnila chuť, konzistenciu či vzhľad syra. Tento príklad je jasnou ukázkou, že v syroch by mohlo byť vhodné prostredie pre zachovanie probiotických mikroorganizmov vo vysokých počtoch po dlhú dobu.

Cieľom práce bolo vyrobiť polotvrdé syry s nízkodohrievanou syreninou s použitím probiotických kultúr *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus plantarum* 96 ako doplnkových kultúr a zistiť ich prežívanie v priebehu zretia syrov, ich vplyvu na fyzikálno-chemické a senzorké vlastnosti finálneho výrobku počas zretia.

mesiacov. Po samotnej výrobe sa syry rozdelili do 4 skupín, z ktorých tri skupiny syrov obsahovali tri vybrané probiotické kultúry, štvrtá skupina syrov bola kontrolná. V každej skupine sa nachádzali tri bochníky syrov o priemernej hmotnosti 3273 g. Vzorky syrov sa následne označili ako:

S1 - skupina obsahujúca *Lactobacillus acidophilus*

S2 - skupina obsahujúca *Lactobacillus casei*
 S3 - skupina obsahujúca *Lactobacillus plantarum* 96
 Sk - kontrolná skupina

Na prípravu 3 skupín probiotických syrov s vybranými probiotickými kultúrami uvedenými vyššie sa použila kultúra mikroorganizmov distribuovaná z jedného objemu do fermentorov v jednej operácii tak, že bola zaručená rovnorodosť, ochrana pred kontamináciou a stabilita. Do pripraveného média bola pridaná príslušná probiotická kultúra o množstve 10U/100l mlieka. Po premiešaní sa na zariadení zobrazila hodnota pH inokula. Do fermentorov sa pridali magnetické miešadlá a po uzavretí sa fermentory vložili do termostatu pri teplote **39 °C - 40 °C**. Inokulum sa sledovalo v pravidelných časových intervaloch (**3-6 hodín**), pričom sa odoberali vzorky o množstve 50 ml a sledovalo sa pH inokula.

Prvé dva týždne po výrobe boli syry skladované pri teplote **14 - 15 °C** pričom sa pravidelne otáčali. Potom sa teplota upravila na 10 °C. Keď sa na syroch vytvorila kôra, syry sa nalakovali a navoskovali. Takto upravené syry zreli pri teplote 10 °C.

Odber vzoriek sa uskutočňoval jedenkrát za mesiac v období január až jún 2009. Po každom odbere sa jednotlivé

VÝSLEDKY

Najvyšší obsah tuku počas sledovaných období bol zaznamenaný u skupiny syrov obsahujúcich probiotickú kultúru *Lactobacillus acidophilus* (S1) v priemere **31,12 %** a **30,48 %** v skupine syrov obsahujúcich probiotickú kultúru *Lactobacillus casei* (S2). Najnižší obsah tuku bol u syrov poslednej tretej skupiny obsahujúcej probiotické kmene *Lactobacillus plantarum* 96 (S3) - **28,67 %**, pričom na začiatku zrecieho obdobia sa pohybovali hodnoty tuku v priemere **20,79 %**.

Pri hodnotení množstva tuku v syroch jednotlivých experimentálnych skupín možno konštatovať, že jedným z rozhodujúcich kvalitatívnych znakov syrov je konzistencia a teda, že ani v jednej sledovanej skupine syrov nepresiahla stanovená hodnota obsahu tuku pre výrobu nízkodohrievaných syrov 31,5 %.

Priemerná hodnota sušiny pre polotvrde syry z nízkodohrievanou syreninou je 54 %, pre beztukovú sušinu **54 % - 63 %** a tuku v sušine **45 % - 60 %**. Sušina ako aj ostatné namerané hodnoty (beztuková sušina a tuk v sušine) mali po celé sledované obdobie vo všetkých troch skupinách iba veľmi mierne kolísavý charakter.

Kyslosť syra podstatne ovplyvňuje odtok srvátky a tým aj obsah sušiny syra. Titračná kyslosť u sledovaných skupín probiotických syrov stúpala počas obdobia zretia u skupiny S1 o 2,2 °SH, u skupiny S2 až o 5,6 °SH a u tretej skupiny S3 o 2,6 °SH na konci zrecieho obdobia. Priemerné hodnoty aktívnej kyslosti pH sa pohybovali od **4,93 do 5,27** pH. Hodnoty pH prostredia syrov klesali v závislosti od hromadenia sa kyseliny mliečnej v syroch.

Obsah soli v syroch má vplyv na chuť syrov a tiež nepriamy vplyv na štruktúru syrového cesta. Priemerné hodnoty soli by sa mali v syroch pohybovať v rozpätí od **1,5 % - 3 %**. V jednotlivých skupinách syrov hodnoty soli stúpali počas celého zrecieho obdobia, ale ani jedna vzorka syrov nepresiahla hodnotu 3 %. Tým sa zabezpečila požadovaná sušina a konzistencia syrov.

Fermentáciou laktózy vzniknutá kyselina mliečna výraznou mierou ovplyvňuje nielen chuť syrov, ale

vzorky syrov analyzovali mikrobiologicky, pričom sa sledovala životaschopnosť jednotlivých probiotických kultúr v syroch počas zretia. Izolácia a počet baktérií rodu *Lactobacillus* sa stanovoval na *Lactobacillus* selektívnom agare (Imuna, Slovensko) pri inkubácii v termostate pri teplote 37 °C po dobu 72 hodín (STN 56 0094).

Fyzikálno-chemické parametre (obsah tuk, sušiny, obsah chloridu sodného, titračná kyslosť a pH) sa sledovali počas vybraných štyroch mesiacov. V poslednom mesiaci (jún) sa vo vzorkách syrov zisťovalo aj množstvo kyseliny mliečnej a obsah bielkovín. U každej vzorky sa analyzoval stred a kraj syrov.

Na štatistické porovnanie výsledkov jednotlivých experimentov sa použili štatistické metódy spracovania a vyhodnocovania hromadných číselných údajov, ktoré boli spracované do tabuliek a grafov (MS Excel 2007). Z parametrických testov bola použitá analýza rozptylu ANOVA a metódy indukčnej štatistiky – párového t-testu pre testovanie rovnosti priemerov medzi závislými parametrami, korelačný chí koeficient pre zistenie tesnosti vzťahu medzi dvoma nominálnymi premennými (SPSS, GaphPad Prism 5).

zabezpečuje ich trvanlivosť a hlavne nutričné a dietetické vlastnosti. Obsah kyseliny mliečnej u skupiny vzoriek syrov S1 stúpala počas zrecieho obdobia až na hodnotu 1,94 g/100g syra, v skupine S2 bola konečná hodnota mliečnej kyseliny 1,57 g/100g a najnižšia hodnota kyseliny mliečnej bola v tretej skupine 1,46 g/100g obsahujúcej probiotickú kultúru *Lactobacillus plantarum* 96. Kyselina mliečna vo všetkých skupinách stúpala úmerne so štiepením laktózy za súčasného enzymatického štiepenia bielkovín. Výsledky ukázali, že v polotvrdých syroch sa laktóza počas zrecieho obdobia úplne transformovala na kyselinu mliečnu.

Bielkoviny v syre a to najmä kazeín, svojou vápnikovou väzbou dávajú syru pevnosť, formu a stabilitu. Priemerné hodnoty bielkovín v poslednom mesiaci skladovania v jednotlivých skupinách vzoriek syrov boli u S1- **22,12 %**, S2 - **23,54 %** a S3 - **21,73 %**. Pri štiepení bielkovín počas zrenia vzoriek syrov vznikali látky, ktoré v jednotlivých skupinách vytvárali typickú chuť a vôňu syrov.

Vyhodnotenie jednotlivých výsledkov fyzikálno-chemických parametrov párovým t-testom nedokázalo preukázať rozdiely v stredných hodnotách. To znamená, že namerané hodnoty neovplyvnili kvalitu skladovaných vzoriek syrov.

Z vyhodnotenia kvantitatívnych priemerných hodnôt sledovaných probiotických kultúr u jednotlivých vzoriek vyplýva, že medzi počtom jednotlivých sledovaných probiotických kultúr boli rozdiely tak na začiatku skladovania syrov ako aj na konci skladovacieho - zrecieho obdobia (obr. 1).

Zo štatistického hodnotenia výsledkov na základe testovacích charakteristík uvedených v tabuľke 1 vyplýva, že v odobratých vzorkách syrov boli zistené štatisticky významné rozdiely v skupine syrov obsahujúcich *Lactobacillus acidophilus* na hladine významnosti $p < 0,0001$ pri 95 % intervale významnosti. Počty kultúr *Lactobacillus acidophilus* na začiatku skladovacieho obdobia sa pohybovali radovo $2,47 \cdot 10^7$ KTJ.g⁻¹ a klesali až do 4. mesiaca skladovania na hodnotu $0,45 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹.

Posledný mesiac skladovania hodnoty začali stúpať na konečných $0,41 \cdot 10^7$ KTJ.g⁻¹. Rozdiel medzi počiatočným rastom a konečným rastom probiotickej kultúry bol $2,06 \cdot 10^7$ KTJ.g⁻¹.

Pri porovnaní rastu kultúr *Lactobacillus acidophilus* medzi jednotlivými mesiacmi počas zrecieho obdobia bola preukázaná štatistická významnosť medzi všetkými obdobiami, ale najväčšia významnosť bola zistená medzi mesiacmi február a apríl, a to $p < 0,0005$ na hladine významnosti 95 %.

Pri porovnaní výsledných počtov probiotických kultúr *Lactobacillus casei* s ostatnými sledovanými probiotickými kultúrami možno konštatovať, že boli najvyššie. Na začiatku zrecieho obdobia sa pohybovali radovo až $4,75 \cdot 10^7$ KTJ.g⁻¹, pričom polovičný počet radovo 10^7 si udržiavali až do tretieho mesiaca. V priebehu

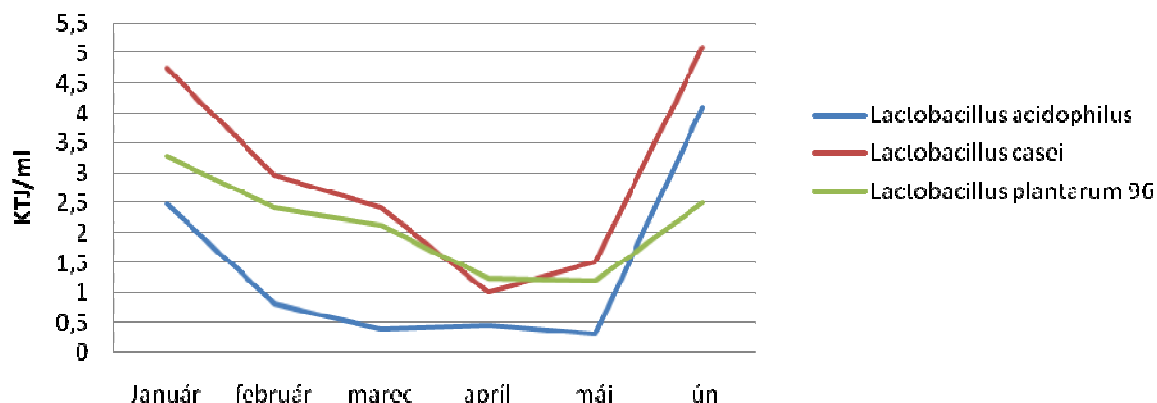
$0,51 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹. Významný rozdiel bol zaznamenaný pri porovnaní mesiacov január - apríl ($p < 0,0079$), január - máj ($p < 0,0116$), január - jún ($p < 0,0195$), február - apríl ($p < 0,0181$), február - máj ($p < 0,0409$) a apríl - jún ($p < 0,0296$) na 95 % intervale spoľahlivosti. Pri celkovom porovnaní mesiacov, počas ktorých syry zreli bola zistená hladina významnosti $p < 0,0086$ na 95 % intervale spoľahlivosti.

Počty probiotickej kultúry *Lactobacillus plantarum* 96 sa pohybovali počas celého skladovacieho obdobia radovo až 10^8 KTJ.g⁻¹. Pri celkovom hodnotení počtu *Lactobacillus plantarum* 96 počas celého obdobia skladovania sa preukázala štatistická významnosť na hladine $p < 0,0001$ pri 95 % intervale spoľahlivosti. Najvyššie významnosti na hladine $p < 0,0001$ boli zaznamenané medzi mesiacmi február - marec, február - apríl a február - máj. Medzi

Tabuľka 1 Priemerný počet jednotlivých probiotických kultúr v experimentálne vyrobených syroch počas zrecieho obdobia a ich korelačná závislosť

| Probiotické kultúry | KTJ.g ⁻¹ | | | | | | Korelačná závislosť |
|-----------------------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| | január | február | marec | apríl | máj | jún | |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | $2,47 \cdot 10^7$ | $0,82 \cdot 10^7$ | $0,39 \cdot 10^7$ | $0,45 \cdot 10^6$ | $0,32 \cdot 10^6$ | $0,41 \cdot 10^7$ | 0,0001 *** |
| <i>Lactobacillus casei</i> | $4,75 \cdot 10^7$ | $2,41 \cdot 10^7$ | $2,96 \cdot 10^7$ | $0,10 \cdot 10^8$ | $0,15 \cdot 10^8$ | $0,51 \cdot 10^8$ | 0,0086 ** |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> 96 | $3,27 \cdot 10^6$ | $2,42 \cdot 10^7$ | $0,21 \cdot 10^8$ | $0,12 \cdot 10^8$ | $0,12 \cdot 10^8$ | $0,25 \cdot 10^8$ | 0,0001 *** |

KTJ - kolónie tvoriace jednotky



Obr. 1 Porovnanie rastu probiotických kultúr v experimentálne vyrobených syrov počas zrecieho obdobia

ďalších troch mesiacov experimentu sa počty *Lactobacillus casei* zvýšili až na konečnú hodnotu. Mikrobiologickým vyšetrením sa zistilo, že kultúry *Lactobacillus plantarum* 96 sa na začiatku skladovacieho to až o dva rady na konečnú hodnotu $0,28 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹. Počty probiotických baktérií boli vyššie ako 10^6 KTJ.g⁻¹, počas celého obdobia skladovania experimentálne vyrobených syrov.

U všetkých skupín syrov, kde boli použité vybrané probiotické kultúry sa dosiahli hodnoty radovo až 10^8 KTJ.g⁻¹. Tým bol splnený limit legislatívneho a terapeutického minima pre výrobky obsahujúce probiotické baktérie určené na ľudskú výživu.

V obr. 2 je znázornená závislosť rastu jednotlivých probiotických kultúr v stredových častiach vzoriek experimentálne vyrobených syrov. Počty jednotlivých probiotických kultúr v stredovej časti vzoriek syrov

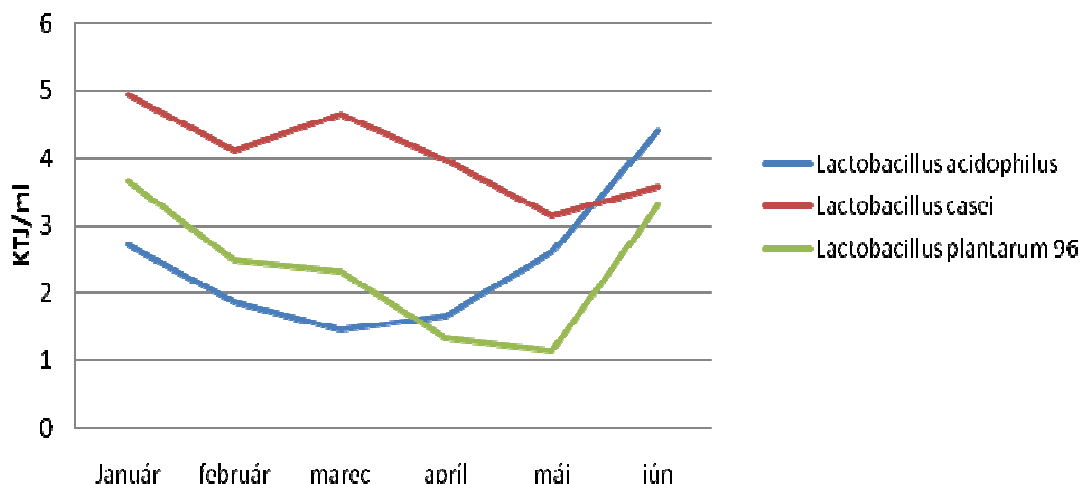
ostatnými sledovanými obdobiami sa štatistické významnosti pohybovali na hladinách $p < 0,001$ a $p < 0,05$. obdobia pohybovali radovo $3,27 \cdot 10^6$ KTJ.g⁻¹ pričom počty tejto kultúry sa zvyšovali až do konca zrecieho obdobia, a v priebehu zretia do 4. mesiaca klesali, kedy došlo k miernemu ustáleniu počtu kultúr, ale od 5. mesiaca probiotické kultúry začali intenzívne rásť ($p < 0,01$) až na priemerné hodnoty $0,45 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹. Výnimku tvoril len probiotický kmeň *Lactobacillus casei*, ktorý v začiatkoch zrenia prudko rástol až do hodnoty $4,64 \cdot 10^7$ KTJ.g⁻¹. Rovnako aj u tohto kmeňa, došlo k ustáleniu jeho počtov v priebehu 5. mesiaca zretia. Na konci zrecieho obdobia počty probiotickej kultúry *Lactobacillus casei* sa prudko zvyšovali na konečnú hodnotu $0,57 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹.

Pri porovnaní okrajových častí vzoriek jednotlivých experimentálne vyrobených syrov sa zistil štatisticky

významný rozdiel $p < 0,05$ medzi vybranými probiotickými kultúrami.

Z obr. 3 vyplýva, že na začiatku zrenia boli počty jednotlivých probiotických baktérií odobratých z okrajových častí experimentálnych syrov vyššie v porovnaní so vzorkami odobratými zo stredových častí vzoriek syrov. Dôvodom tohto rozdielu mohlo byť pravdepodobne nepravidelné rozloženie probiotických

kultúr v zrejúcich syroch. Počty jednotlivých kultúr v okrajovej časti syrov až do 4. - 5. mesiaca klesali, ale nie pod hodnotu nižšiu ako 10^6 KTJ.g⁻¹. V priebehu ďalších mesiacoch zrenia počty probiotických kultúr mierne rástli až na priemernú hodnotu $0,31 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹. Výnimku tvoril kmeň *Lactobacillus casei*, ktorý od 4. mesiaca prudko rástol na konečnú hodnotu $0,43 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹.

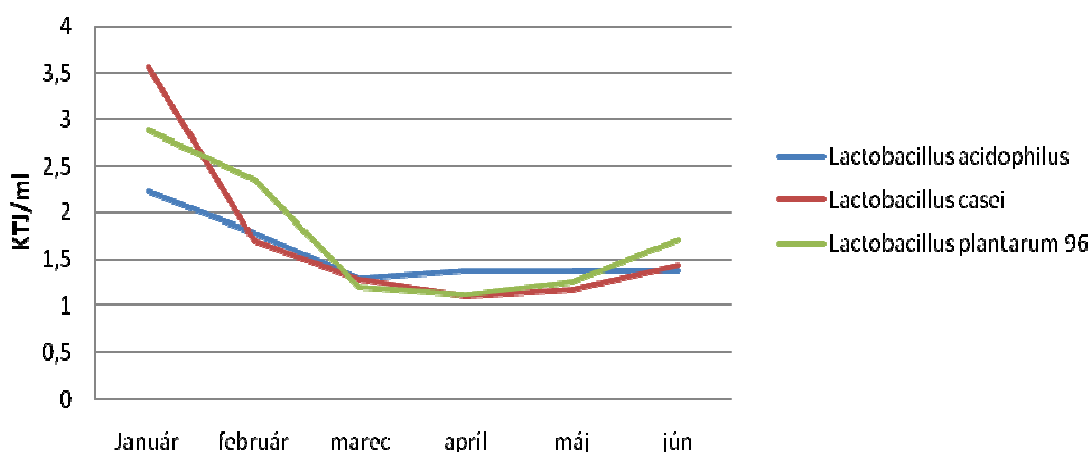


Obr. 2 Rast probiotických kultúr v stredových častiach experimentálne vyrobených syrov počas zrecieho obdobia

Bola zistená štatistická významnosť v intervale 95 % ($p < 0,05$) v raste vybraných probiotických kultúr medzi stredovou a okrajovou časťou experimentálne vyrobených syrov. Pri porovnaní stredových a okrajových vzoriek syrov bola v poslednom mesiaci zrenia zistená štatistická významnosť na hladine $p < 0,05$ v raste vybraných probiotických kultúr, pričom počty kmeňa *Lactobacillus casei* v porovnaní s kmeňmi *Lactobacillus acidophilus* a *Lactobacillus plantarum* 96 boli podstatne vyššie

($p < 0,01$) v stredových častiach experimentálnych syrov ako v okrajových častiach.

Uvedené rozdiely obsahu jednotlivých probiotických kultúr mohli byť spôsobené rozdielnymi nárokmi na podmienky vnútorného prostredia v stredových a okrajových častiach vzoriek experimentálne vyrobených syrov, čím mohla byť ovplyvnená ich rozmnožovacia schopnosť.



Obr. 3 Rast probiotických kultúr v okrajových častiach experimentálne vyrobených syrov počas zrecieho obdobia

DISKUSIA

Zrenie syrov zahŕňa mikrobiologické, resp. biochemické zmeny podmieňujúce vývoj arómy a textúry charakteristické pre určitý typ prírodného syra. Počas zrenia syrov dochádza k mliečnemu kvaseniu, ktoré

zaisťujú hlavne enzýmy baktérií mliečného kvasenia použitých čistých kultúr. V experimentálne vyrobených probiotických syroch dochádzalo hlavne k heterofermentatívnemu mliečnemu kvaseniu, ktoré je charakteristické pre rody *Leuconostoc* a ktoré produkujú

okrem kyseliny mliečnej aj oxid uhličitý a kyselinu octovú.

Štartovacie kultúry sa radia medzi užitočné mikroorganizmy, ktorých enzýmy uskutočňujú dôležité biochemické premeny v priebehu výrobného procesu a sú do mlieka pri výrobe syrov zámerné pridávané. Podľa **Görnera a Valíka (2004)** sa pri výrobe syrov s nízkodohrievanou syreninou uplatňujú najmä mezofilne kultúry baktérií mliečného kysnutia *Lactococcus lactis* spp. *lactis*, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* a *Leuconostoc mesenteroides* spp. *cremoris*. V syroch s nízkodohrievanou syreninou sa okrem základnej mezofilnej kultúry, vyskytujú aj ďalšie druhy baktérií mliečného kysnutia. Ako uvádza **Walstra et al. (1993)** môžu to byť laktobacily, ktoré sa používajú ako doplnková kultúra alebo non-starter lactic acid bacteria (NSLAB). Vo všetkých druhoch a typoch syrov, ktoré zrejú dlhšie ako 14 dní, sa rozmnožujú rôzne mezofilné laktobacily (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* a iné). Ich množstvo dosahuje hodnoty 10^6 až 10^8 KTJ.g⁻¹ syra (**Albenzio et al., 2004**).

Počty kultúr *Lactobacillus acidophilus* v experimentálnych vzorkách syrov sa na začiatku pohybovali radovo 10^7 KTJ.g⁻¹ a tieto počty sa udržiavali až do konca skladovacieho obdobia (6 mesiacov). Naylor a Sharpe (1958) pozorovali polotvrde syry, v ktorých sa počty laktobacilov v 1g syra sa pohybovali radovo 10^0 až 10^4 po desiatich dňoch skladovania. Na dvadsiaty deň skladovania syrov sa počty laktobacilov zvýšili na hodnoty 10^6 až 10^7 .g⁻¹ a na šesťdesiaty deň už počty dosahovali hodnoty 10^7 až 10^8 .g⁻¹ syra. Podobná práca (**Johnston et al., 2002**) uvádza počiatkové počty laktobacilov v 1 mililitri kravského mlieka medzi 10^4 až 10^6 a v pasterizovanom mlieku 10^2 až 10^4 . Tieto počty laktobacilov prudko rástli u syrov vyrobených z kravského mlieka na hodnoty 10^6 až 10^7 .g⁻¹ a v syroch vyrobených z pasterizovaného mlieka boli počty laktobacilov 10^5 až 10^6 .g⁻¹.

V experimentálne vyrobených syroch obsahujúcich probiotickú kultúru *Lactobacillus casei* sa počty pohybovali na začiatku skladovania radovo 10^7 KTJ.g⁻¹ a od tretieho mesiaca skladovania nadobúdali hodnoty 10^8 KTJ.g⁻¹. **Naylor a Sharpe (1958)** dospeli k názoru, že základnú mikroflóru zrejúcich syrov na začiatku zrejúceho

obdobia tvorili homofermentatívne kultúry *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus casei*. Avšak počas dozrievania (po 60 dňoch skladovania) základná mikroflóra syrov bola čiastočne nahradená heterofermentatívnymi druhmi, najmä *Lactobacillus brevis*, ktorý v syroch zotrval až do konca skladovacieho obdobia (180 dní).

Kultúra *Lactobacillus casei* je vhodná ako doplnková probiotická kultúra, pretože je rezistentná voči kyselinám a preživa v zrejúcich syroch vo vysokých počtoch (**Antosson et al., 2002**). Tieto tvrdenia korešpondujú aj s našimi výsledkami, kedy kultúra *Lactobacillus casei* si udržiavala počty radovo 10^8 KTJ.g⁻¹. Pri sledovaní počtu *Lactobacillus casei* v syroch typu čedar si podľa **Foxa et al., (1998)** tieto mikroorganizmy zachovávali hodnoty 10^7 KTJ.g⁻¹ syra. To potvrdzuje aj práca **Ong et al., (2006)** kde počet *Lactobacillus casei* v sledovaných probiotických čedarských syrov dosiahol hodnotu až 10^9 KTJ.g⁻¹.

Počet *Lactobacillus plantarum* 96 sa na začiatku skladovacieho obdobia experimentálnych syrov pohyboval radovo 10^6 KTJ.g⁻¹. V priebehu druhého a tretieho mesiaca zretia sa počet *Lactobacillus plantarum* 96 zvýšil na 10^8 KTJ.g⁻¹. Podobné výsledky zaznamenal aj **Songisepp et al. (2004)**, ktorý sledoval polotvrde probiotické syry obsahujúce *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus plantarum*. V kontrolnej skupine syrov ako aj v probiotickej skupine syrov obsahujúcej *Lactobacillus plantarum* sa jeho počet pohyboval radovo 10^8 KTJ.g⁻¹. zatiaľ, čo pri syroch obsahujúcich *Lactobacillus casei* bol počet baktérií mierne nižší, radovo 10^7 KTJ.g⁻¹. Počas zrenia sa počet obidvoch sledovaných kultúr ustálil na hodnote 10^7 KTJ.g⁻¹ (po 66 dňoch skladovania).

Pri porovnaní vzoriek okrajových častí syrov so stredovými vzorkami jednotlivých probiotických syrov boli zistené priemerné počty jednotlivých kultúr v okrajových častiach na začiatku zretia vyššie. Predpokladáme, že príčinou tohto rozdielu mohlo byť nepravidelné rozloženie probiotických kultúr v zrejúcich syroch, resp. rozdiely v obsahu jednotlivých probiotických kultúr mohli byť spôsobené rozdielnymi nárokmi mikroorganizmov na podmienky vnútorného prostredia v stredových a okrajových častiach experimentálne vyrobených syrov, čím mohla byť ovplyvnená ich rozmnožovacia schopnosť.

ZÁVER

Cieľom práce bolo sledovanie kvantitatívnych zmien vybraných probiotických mikroorganizmov v polotvrdých syroch s nízkodohrievanou syreninou po dobu 6 mesiacov zretia. Pri výrobe syrov boli pridané vybrané probiotické kultúry *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus plantarum* 96.

Zo získaných výsledkov **fyzikálno - chemických** parametrov neboli zaznamenané preukazné rozdiely v stredných hodnotách a teda neovplyvnili kvalitu skladovaných vzoriek syrov. Z vyhodnotených kvantitatívnych hodnôt sledovaných vybraných probiotických kultúr u jednotlivých vzoriek boli medzi počtom sledovaných probiotických kultúr rozdiely tak na začiatku skladovania syrov ako aj na konci skladovacieho obdobia.

Najvyššie hodnoty u všetkých probiotických kultúr boli zaznamenané v mesiacoch február a marec v priemere

$2,60 \cdot 10^7$ KTJ.g⁻¹ syra. Opačne, najnižšie hodnoty vykazovali jednotlivé probiotické kultúry v mesiaci apríl, a to v priemere $0,12 \cdot 10^8$ KTJ.g⁻¹ syra.

Pri porovnaní výsledkov počtov probiotických kultúr *Lactobacillus casei* s ostatnými sledovanými probiotickými kultúrami možno konštatovať, že boli najvyššie. Počty probiotickej kultúry *Lactobacillus plantarum* 96 sa pohybovali od tretieho mesiaca skladovania radovo až 10^8 KTJ.g⁻¹.

Rozdiel medzi okrajom a stredom predložených vzoriek syrov bol mierne štatisticky významný, kde vyšší rast vybraných probiotických kultúr bol v stredových častiach než v okrajových častiach jednotlivých skupín syrov.

U všetkých skupín syrov, kde boli použité vybrané probiotické kultúry sa dosiahli hodnoty radovo až 10^8 KTJ.g⁻¹. Tým bol splnený limit legislatívneho a terapeutického minima pre výrobky obsahujúce probiotické baktérie určené na ľudskú výživu.

LITERATÚRA

- ALBENZIO, M., CAROPRESE, M., MARINO, R., SANTILLO, A., TAIBI, L., SEVI, A. 2004. Effects of somatic cell count and stage of lactation on the plasmid activity and cheese-making properties of ewe milk. In *Journal Dairy Science*, vol. 87, 2004, p. 533-542.
- ANTONSSON, M., ARDÖ, Y., NILSSON, B. F., MOLIN, G. 2002. Screening and selection of *Lactobacillus* strains for use as adjunct cultures in production of semi-hard cheese. *Journal Dairy Research*, vol. 69, 2002, p. 457-472.
- DINAKAR, P., MISTRY, V. 1994. Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar cheese. In *Journal Dairy Science*, vol. 77, 1994, p. 2854-2864.
- FOX, P. F., MCSWEENEY, P. L. H. 1998. Dairy chemistry and biochemistry. London: Blackie Academic and Professional, 1998, 478 pp. ISBN 0-412-72000-0.
- GÖRNER, F., VALÍK, G. 2004. Aplikovaná mikrobiológia potravín. Bratislava: Malé centrum. 2004, p. 26-30, ISBN 80-967064-9-7.
- HERIAN, K. 2005. Mliekarstvo na Slovensku z pohľadu EÚ a IDF. In: *Mliekarstvo*, vol. 36, 2005, no. 4, p. 2-5.
- CHAPMAN, H. R., SHARPE, M. E. 1981. Microbiology of cheese, In: R. K. Robinson (ed.), Dairy microbiology. Applied Science Publishers, London, United Kingdom, 1981, p. 157-243.
- JOHNSTON, D. E., O'HAGAN, M. BALMER, D. W. 2002. „Effects of high pressure treatment on the texture and cooking performance of half-fat Cheddar cheese“, In *Milchwiss.*, vol. 57, 2002, no. 4, p. 198-201.
- LYNCH, C. M., MCSWEENEY, P. L. H., FOX, P. F., COGAN, T. M., DRINAN, F. D. 1996. Manufacture of Cheddar cheese with and without adjunct lactobacilli under controlled microbiological conditions. In *International Dairy Journal*, vol. 6, 1996, p. 851-867.
- NAYLOR, J., SHARPE, M. E. 1958. *Lactobacilli* in Cheddar cheese. I. The use of selective media for isolation and of serological typing for identification. In *Journal Dairy Research*, 1958, vol. 25, p. 92.
- ONG, L., HENRIKSSON, A., SHAH, N. P. 2006. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. In *International Dairy Journal*, vol. 16, 2006, p. 446-456.
- PALO, V. 2004. Význam syrov vo výžive. In: *Mliekarstvo*, vol. 35, 2004, no. 3, p. 20-23.
- SONGISEPP, E., KULLISAAR, T., HÜTT, P., ELIAS, P., BRILENE, T., ZILMER, M., MIKELSAAR, M. 2004. A new probiotic cheese with antioxidative and antimicrobial activity. In *Journal Dairy Science*, vol. 87, 2004, p. 2017-2023.
- WALSTRA, P., NOOMEN, A., GEURTS, T. J. 1993. Dutch-type varieties. In Fox. Chemistry, Physics and Microbiology, Chapman and Hall, London, 1993, vol. 2, p. 577.
- STN 560094: 1988, Potravinárske výrobky. Stanovenie počtu baktérií rodu *Lactobacillus*.

Pod'akovanie: práca bola podporovaná z projektu VEGA 1/0638/09

Kontaktná adresa:

Ing. Viera Lovayová, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Institute of Hygiene and technology of milk, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, e-mail: viera.l@email.cz.

doc. MVDr. Eva Dudriková, PhD., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Institute of Hygiene and technology of milk, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, e-mail: dudrikova@uvm.sk

MVDr. Radomíra Nemcová, PhD., University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Department of Microbiology and genotobiology, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovakia, e-mail: nemcova@uvm.sk

MUDr. Kvetoslava Rimárová, CSc., Department of Public Health, Faculty of Medicine, University of P. J. Safarik in Košice, Šrobárova 2, 041 80 Košice, Slovakia, e-mail: kvetoslava.rimarova@upjs.sk