

Vliv vybraných parametrů na jakost kysaných mléčných výrobků

Bc. Monika Švandová

Diplomová práce
2022



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Monika Švandová
Osobní číslo: T20826
Studijní program: N0721A210004 Technologie potravin
Forma studia: Kombinovaná
Téma práce: Vliv vybraných parametrů na jakost kysaných mléčných výrobků

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Charakterizujte mléčné kultury pro výrobu kysaných mléčných výrobků, zaměřte se na funkce kultur během výroby, skladování a v rámci benefitu pro spotřebitele.
2. Popište technologii výroby kysaných mléčných výrobků.
3. Popište možnosti prodloužení trvanlivosti kysaných mléčných výrobků (snížení ztrát v důsledku znehodnocení mikrobiální kontaminací, možnosti ochrany výrobku použitou kulturou atd).

II. Praktická část

1. Sledujte vybrané parametry základní suroviny pro výrobu kysaných mléčných výrobků.
2. Vytvořte vzorky kysaných mléčných výrobků a založte skladovací experiment.
3. Vyhodnoťte a porovnejte sledované parametry vzorků, diskutujte je s literaturou a vyvoďte závěry.

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] MARTIN, N.H., P. TORRES-FRENZEL a M. WIEDMANN. Invited review: Controlling dairy product spoilage to reduce food loss and waste. *Journal of Dairy Science* [online]. 2021, **104**(2), 1251-1261
- [2] Robinson, R. K., Tamime, A. Y., 2007. *Tamime and Robinson's Yoghurt*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited
- [3] Saarela, M. 2007. *Functional Dairy Products, Volume 2*. Woodhead Publishing. Bylund, G., 2015. *Dairy processing handbook*. Lund: Tetra Pak Processing Systems AB

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Vendula Pachlová, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **13. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 18. února 2022

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se v teoretické části zabývá nejprve charakteristikou mléčných kultur pro výrobu kysaných mléčných výrobků. Daná kapitola se pak blíže věnuje funkcím kultur během výroby, skladování a jejich benefitu pro spotřebitele. Důraz je kladen především na ochrannou funkci mikrobiálních kultur. Dále je popsána technologie výroby kysaných mléčných výrobků. V poslední kapitole teoretické části jsou pak popsány možnosti prodloužení trvanlivosti kysaných mléčných výrobků. Hlavním cílem diplomové práce bylo sledování vlivu vybraných parametrů na kvalitu vzorků zakysané ochucené smetany. Experimentální část je tedy ve své úvodní části zaměřena na sledování vybraných parametrů základní suroviny pro výrobu kysaných mléčných výrobků. Dále se experimentální část věnuje porovnání a vyhodnocení vybraných parametrů vzorků kysaných mléčných výrobků, jež byly vyrobeny v mlékárně na území České republiky. U vzorků byla sledována mikrobiologická kvalita v souvislosti se zavedením několika ochranných technologických opatření. Na základě výsledků lze konstatovat, že použití ochranné kultury Delvo Guard mělo pozitivní vliv na mikrobiální kvalitu zakysané smetany. U druhu jahoda, vaječný likér a nugát došlo k eliminaci mikrobiální kontaminace. U druhu stracciatella a ochucená stracciatella bylo na základě výsledků zjištěno, že synergickým efektem působení ochranné kultury Delvo Guard a změny plnění kontejnerů ochucujících složek došlo k redukci mikrobiální kontaminace.

Klíčová slova: mikrobiální kultury, ochranné kultury, kysané mléčné výrobky, zakysaná smetana, mikrobiální kontaminace

ABSTRACT

The theoretical part of the thesis deals first with characterization of dairy cultures for fermented dairy production. Given chapter pays closer attention to functions of the cultures during production, storage and within the benefit for consumers. The emphasis is mainly on bioprotective function of microbial cultures. Further the technology of fermented dairy production has been described. In the last chapter of the theoretical part the possibilities of shelf-life extension of fermented dairy products has been described. The main aim of the thesis was to monitor the influence of selected parameters on quality of flavoured sour cream. So at the beginning the experimental part is focused on monitoring of selected parameters of raw material intended for fermented dairy production. Further the experimental part deals with comparison and evaluation of selected parameters of fermented dairy product samples, which have been produced in a dairy company in the Czech Republic. The microbiological quality of samples has been monitored in connection with implemented protective technological measures. On the basis of the results it can be said, that use of the bioprotective culture Delvo Guard had a positive effect on microbial quality of the sour cream. In the case of strawberry, egg nog and cocoa-nut flavoured sour cream the elimination of microbial contamination has been determined. On the basis of the results it can be said further, that use of the bioprotective culture Delvo Guard and parallel volume filling change of the flavouring containers had a synergistic positive effect on reduction of microbial contamination of stracciatella and flavoured stracciatella flavoured sour cream.

Keywords: microbial cultures, bioprotective cultures, fermented dairy products, microbial contamination

Touto cestou bych chtěla srdečně poděkovat všem, kteří se podíleli na vzniku mé diplomové práce. Největší poděkování patří vedoucí mé diplomové práce, paní doc. Ing. Vendule Pachlové, Ph.D., a to nejen za odborné vedení a cenné připomínky a rady, ale především také za její bezmeznou studijní podporu i přes veškeré naše studijní a osobní okolnosti.

Dále bych tímto velice ráda poděkovala paní jednatelce a svým kolegyním, které mi umožnily zpracování tématu diplomové práci v mlékárně a zároveň mi ochotně poskytly mnohé cenné informace pro zpracování diplomové práce.

V neposlední řadě srdečně děkuji své rodině a přátelům, kteří mi poskytovali psychickou podporu po celou dobu mého studia a zázemí pro jeho úspěšné zakončení.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 CHARAKTERISTIKA KULTUR PRO VÝROBU ZAKYSANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ	13
1.1 CHARAKTERISTIKA MEZOFILNÍCH A TERMOFILNÍCH KULTUR	13
1.1.1 Mezofilní bakteriální kultury	14
1.1.2 Termofilní bakteriální kultury	15
1.2 FUNKCE MIKROBIÁLNÍCH KULTUR.....	17
1.2.1 Technologická funkce	17
1.2.2 Ochranná funkce	19
1.2.3 Probiotická funkce	20
2 TECHNOLOGIE VÝROBY KYSANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ	23
3 MOŽNOSTI PRODLOUŽENÍ TRVANLIVOSTI KYSANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ	26
3.1 REDUKCE MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE SYROVÉHO MLÉKA V ZEMĚDĚLSKÉ PRVOVÝROBĚ	27
3.2 TECHNOLOGICKÉ PROCESY V MLÉKÁRNĚ PRO ELIMINACI MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE	28
3.3 ÚPRAVA RECEPTURY VÝROBKU – POUŽITÍ OCHRANNÝCH KULTUR	29
3.4 MONITORING SUROVIN A PROSTŘEDÍ A SLEDOVÁNÍ ZDROJŮ MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE PROSTŘEDNICTVÍM MOLEKULÁRNÍCH METOD	31
3.5 MATEMATICKÉ MODELOVÁNÍ TRVANLIVOSTI MLÉČNÝCH VÝROBKŮ	32
3.6 TECHNOLOGIE VÝROBNÍHO ZAŘÍZENÍ	33
II PRAKTICKÁ ČÁST	39
4 CÍL PRÁCE	40
5 MATERIÁL A METODY	41
5.1 SLEDOVÁNÍ VYBRANÝCH PARAMETRŮ ZÁKLADNÍ SUROVINY PRO VÝROBU ZAKYSANÉ OCHUCENÉ SMETANY	43
5.2 SLEDOVÁNÍ VYBRANÝCH PARAMETRŮ OCHUCUJÍCÍCH SLOŽEK	44
5.3 VÝROBA VZORKŮ ZAKYSANÉ OCHUCENÉ SMETANY	45
5.4 ODBĚR DEPARTÁŽNÍCH VZORKŮ FINÁLNÍCH VÝROBKŮ PRO SKLADOVACÍ EXPERIMENT	46
5.5 ZALOŽENÍ SKLADOVACÍHO EXPERIMENTU.....	47
6 VYHODNOCENÍ A POROVNÁNÍ SLEDOVANÝCH PARAMETRŮ VZORKŮ	50
6.1 VÝSLEDKY ANALÝZY VYBRANÝCH PARAMETRŮ ZÁKLADNÍ SUROVINY PRO VÝROBU ZAKYSANÉ OCHUCENÉ SMETANY.....	50

6.2	VÝSLEDKY ANALÝZY VYBRANÝCH PARAMETRŮ OCHUCUJÍCÍCH SLOŽEK	52
6.3	VÝSLEDKY ANALÝZY VYBRANÝCH PARAMETRŮ DEPARTÁŽNÍCH VZORKŮ ZAKYSANÉ OCHUCENÉ SMETANY	53
ZÁVĚR	80
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	83
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	89
SEZNAM OBRÁZKŮ	90
SEZNAM TABULEK	91

ÚVOD

Znehodnocování potravin a jejich plýtvání se v posledních letech stává stále palčivějším celosvětovým tématem. Dle Organizace pro výživu a zemědělství (FAO), specializované agentury Organizace spojených národů (OSN), jejímž cílem je zajištění dostatku potravin a pitné vody pro obyvatelstvo rozvojových zemí, se celosvětově vyhodí či znehodnotí celá jedna třetina vyprodukovaných potravin, což představuje přibližně 1,3 miliardy tun potravin. Společnost Glopolis k tomuto doplňuje závažnou informaci, že by toto množství nenávratně ztracených potravin dokázalo obživit téměř tři miliardy lidí, tedy přibližně třikrát více, než kolik je na světě lidí trpících hladomorem. K největším ztrátám na potravinách dochází v bohatých, rozvinutých zemích. Kupříkladu v Evropě připadá na jednoho člověka 95 až 115 kilogramů vyhozených potravin za rok, nýbrž v chudých, rozvojových zemích je toto množství dramaticky nižší. Odhaduje se, že průměrný obyvatel těchto zemí ročně vyhodí 8 až 11 kilogramů potravin, což představuje přibližně desetkrát nižší množství.

Cesta od surovin pro výrobu potraviny, přes samotnou výrobu potraviny, její distribuci na trh a prodej konečnému spotřebiteli, až po úchovu potraviny u konzumenta, je příliš dlouhá, a ke ztrátám na potravinách dochází v jakékoliv části tohoto řetězce. Zemědělství a průmysloví zpracovatelé nemohou nijak zvlášť ovlivnit zacházení s potravinami mimo svou oblast působení, mohou však ovlivnit nakládání s potravinami u nich samotných. Z pohledu těchto zpracovatelů dochází k potravinovým ztrátám ve smyslu znehodnocení potravin prostřednictvím mikrobiální kontaminace, jež je v dnešní době též velice zásadním tématem. Zpracovatelé se aplikací různých tradičních i nových řešení snaží předcházet či alespoň minimalizovat riziko mikrobiální kontaminace své produkce. Mezi tato preventivní opatření patří mimo jiné správná výrobní a hygienická praxe, úprava výrobní a zpracovatelské technologie, řízení chladírenského řetězce, implementace obalů s řízenou nebo modifikovanou atmosférou apod. I přes veškerý technologický pokrok a ochranné mechanismy například výrobci mléčných výrobků čelí znehodnocení jejich produktů na základě fungální kontaminace. Proto v posledních letech došlo k rozsáhlému vývoji ochranných technologií, jako jsou například bioprotektivní mikrobiální kultury. K implementaci bioprotektivních kultur se v nedávné době uchýlila i mlékárna, v níž byla zpracovávána tato diplomová práce. Mlékárna má zavedené vysoké výrobní a hygienické standardy, každý rok úspěšně obhájí jeden z nejnáročnějších potravinářských certifikátů, klade vysoké nároky na kvalitu a bezpečnost materiálu a surovin pro výrobu svých produktů,

přesto se taktéž potýká u departážních vzorků jednoho vybraného, specifického typu výrobku s mikrobiální kontaminací. Mlékárna implementovala několik ochranných opatření pro eliminaci tohoto mikrobiologického problému a v rámci této diplomové práce byla zkoumána úspěšnost zavedených opatření.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA KULTUR PRO VÝROBU ZAKYSANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

Mikrobiální kultury představují nezbytnou součást technologického postupu výroby fermentovaných potravin. Primární kultury, které jsou používány jako tzv. starterové kultury, iniciují proces fermentace, při kterém dochází k metabolické přeměně sacharidu na kyselinu mléčnou, čímž dochází k okyselení prostředí, a tedy snížení pH celého systému. Cílem procesu fermentace je zlepšení organoleptických vlastností a trvanlivosti daného produktu. Součástí primárních kultur jsou bakterie mléčného kvašení, uměle vytvořená skupina fylogeneticky více či méně příbuzných rodů bakterií, jež jsou schopny prostřednictvím obligátně homofermentativního, obligátně heterofermentativního či fakultativně heterofermentativního metabolismu přeměnit přítomný sacharid na kyselinu mléčnou, resp. další produkty mléčného kvašení, jako je oxid uhličitý, etanol, kyselina octová. Cílem použití sekundárních kultur je pak především tvorba senzorycky aktivních látek, dále využití protektivní či probiotické funkce mikrobiální kultury. (Doyle a Beuchat, 2007) a (Plocková, 2002)

1.1 Charakteristika mezofilních a termofilních kultur

Česká legislativa definuje kysaný nebo zakysaný mléčný výrobek jako mléčný výrobek získaný kysáním mléka, smetany, podmásli, syrovátky nebo jejich směsi za použití mikroorganismů uvedených v Tabulce 1, tepelně neošetřený po kysacím procesu. (Vyhláška č. 397/2016 Sb.)

Tabulka 1 - Mikrobiologické požadavky na jednotlivé mléčné výrobky a na druhy živých mikroorganismů mléčného kysání v kysaných mléčných výrobcích (Výňatek z Přílohy č. 1 Vyhlášky č. 397/2016)

Výrobek	Použité mikroorganismy
Kysané či zakysané mléčné výrobky dále neuvedené, např. kysané mléko, smetanový zákys, zakysané podmásli, zakysaná smetana, kysané mléčné nápoje	monokultury nebo směsné kultury bakterií mléčného kysání
Acidofilní mléko	<i>Lactobacillus acidophilus</i> a další mezofilní, příp. termofilní kultury bakterií mléčného kysání

Tabulka 1 (pokračování) Mikrobiologické požadavky na jednotlivé mléčné výrobky a na druhy živých mikroorganismů mléčného kysání v kysaných mléčných výrobcích (Výňatek z Přílohy č. 1 Vyhlášky č. 397/2016)

Jogurty včetně jogurtového mléka	symbiotická směs <i>Streptococcus thermophilus</i> a <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>
Kefír	zákys připravený z keřirových zrn nebo keřirové kultury, jehož mikroflóra se skládá z kvasinek zkvašujících i nezksvašujících laktózu a mezofilních a termofilních bakterií mléčného kysání, rostoucí ve vzájemném společenství
Keřirové mléko	zákys skládající se z kvasinkových kultur a mezofilních a termofilních kultur bakterií mléčného kysání rostoucí ve vzájemné symbióze
Kysaný mléčný výrobek s bifidokulturou	<i>Bifidobacterium</i> sp. v kombinaci s mezofilními a termofilními bakteriemi mléčného kysání

Primární bakteriální kultury lze rozdělit na dvě základní skupiny, a to dle optimální teploty růstu obsaženým mikroorganismů. První skupinu tvoří tzv. mezofilní kultury, jejichž optimální teplota růstu se pohybuje mezi 20 až 30 °C, druhou skupinu tvoří tzv. termofilní kultury, jejichž optimální teplota růstu se nachází mezi 40 až 45 °C. (Plocková, 2002)

1.1.1 Mezofilní bakteriální kultury

Mezi mikroorganismy obsažené v mezofilních bakteriálních kulturách se řadí mezofilní koky rodů *Lactococcus* a *Leuconostoc*. V kulturách pak naprosto převažují kyselinotvorné koky *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, a to až z více než 90 %. Minoritní podíl mikroorganismů v mezofilních kulturách pak tvoří aromatvorné koky, pro něž je kromě produkce kyseliny mléčné z laktózy charakteristický též rozklad citrátů. Rozkladem citrátů vzniká oxid uhličitý a směs sloučenin, z nichž diacetyl je nositelem typické chuti. Mezi aromatvorné koky patří homofermentativní *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* a heterofermentativní druhy *Leuconostoc lactis* a *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*. (Plocková, 2002) Rod *Lactococcus lactis* je uváděn jako nejvyužívanější rod bakterií mléčného kvašení ve výrobě fermentovaných potravin. (Hansen, 2004) Typickou mezofilní kulturou je smetanová kultura.

1.1.2 Termofilní bakteriální kultury

Termofilní kultury obsahují bakteriální rody *Lactobacillus*, resp. mléčné tyčinky, *Streptococcus* a *Bifidobacterium*. V mlékárenské praxi se běžně využívá druhů *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* či *Streptococcus thermophilus*. *Streptococcus thermophilus* je považován za druhý nejvyužívanější druh bakterií mléčného kvašení ve výrobě fermentovaných potravin. (Plocková, 2002) a (Hansen, 2004)

Druhy *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus* jsou součástí tzv. jogurtové kultury, jež je typickým zástupcem termofilních kultur. Laktobacily a streptokoky spolu působí symbioticky. Streptokoky stimulují růst laktobacilů produkcí kyseliny mravenčí, jež snižuje redoxně oxidační potenciál prostředí, zatímco laktobacily stimulují růst streptokoků uvolňováním aminokyselin při proteolýze mléčných bílkovin. (Plocková, 2002)

Dalším v potravinářství široce využívaným druhem bakterií mléčného kvašení je termofilní *Lactobacillus acidophilus*. Využívá se například pro výrobu acidofilních mlék, ale díky svým probiotickým vlastnostem i pro výrobu probiotických mléčných výrobků. (Hansen, 2004)

Co se týče rodu *Lactobacillus*, je nutné zmínit, že v roce 2020 navrhl Zheng a kol. (2020) taxonomickou reklasifikaci rodu *Lactobacillus* a jeho rozčlenění do 25 rodů, včetně samotného upravovaného rodu *Lactobacillus*. Mezi těchto 25 rodů se řadí skupina bakterií *Lactobacillus delbrueckii*, *Paralactobacillus* a 23 nově vytvořených rodů. V Tabulce 2 jsou přehledně uvedeny navrhované názvy všech 23 nových rodů. V Tabulce 3 jsou pak přehledně uvedeny příklady změn názvů druhů mléčných tyčinek, včetně uvedení původních názvů druhů. U druhů *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* a *Lactobacillus helveticus* k taxonomické změně nedošlo. (Zheng, 2020)

Tabulka 2 – Navrhované názvy nových rodů vyčleněných z původního rodu *Lactobacillus* (zpracováno dle Zheng a kol, 2020)

<i>Holzapfelia</i>	<i>Lacticaseibacillus</i>	<i>Limosilactobacillus</i>
<i>Amylolactobacillus</i>	<i>Latilactobacillus</i>	<i>Fructilactobacillus</i>
<i>Bombilactobacillus</i>	<i>Dellaglioia</i>	<i>Acetilactobacillus</i>

Tabulka 2 (pokračování) Navrhované názvy nových rodů vyčleněných z původního rodu *Lactobacillus* (zpracováno dle Zheng a kol, 2020)

<i>Companilactobacillus</i>	<i>Liquorilactobacillus</i>	<i>Apilactobacillus</i>
<i>Lapidilactobacillus</i>	<i>Ligilactobacillus</i>	<i>Levilactobacillus</i>
<i>Agrilactobacillus</i>	<i>Lactiplantibacillus</i>	<i>Secundilactobacillus</i>
<i>Schleiferilactobacillus</i>	<i>Furfurilactobacillus</i>	<i>Lentilactobacillus</i>
<i>Loigolactobacillus</i>	<i>Paucilactobacillus</i>	

Tabulka 3 – Příklady změn taxonomických názvů u mléčných tyčinek z roku 2020, významných v mlékárenském průmyslu (zpracováno dle Zheng a kol, 2020)

Nový název druhu mléčných tyčinek	Poznámka
<i>Lacticaseibacillus casei</i> (<i>Lactobacillus casei</i>)	izolován například z gastrointestinálního traktu člověka, zakysaných mléčných výrobků, zeleniny
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> (<i>Lactobacillus rhamnosus</i>)	izolován například z mléčných výrobků, ryb, zeleniny, lidského těla, klinického materiálu
<i>Latilactobacillus curvatus</i> (<i>Lactobacillus curvatus</i>)	izolován například z mléčných výrobků (mléko, sýry), rybích produktů
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> (<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>)	izolován například z mléčných výrobků, mlékárenského prostředí, siláže, kysaného zelí
<i>Levilactobacillus brevis</i> (<i>Lactobacillus brevis</i>)	izolován například z mléka, sýrů, kysaného zelí
<i>Lentilactobacillus kefir</i> (<i>Lactobacillus kefir</i>)	izolován z kefiru
<i>Companilactobacillus crustorum</i> (<i>Lactobacillus crustorum</i>)	izolován z kynutého těsta, mléčných výrobků a pícnin
<i>Companilactobacillus zhongbaensis</i> (<i>Lactobacillus zhongbaensis</i>)	izolován ze zakysaného mléčného výrobku (Tibet)
<i>Schleiferilactobacillus shenzhenensis</i> (<i>Lactobacillus shenzhenensis</i>)	izolován ze zakysaného mléčného nápoje (Čína)
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> (<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>)	izolován z mléčných výrobků, odpadních vod, siláže, lidského těla, klinického materiálu

Tabulka 3 (pokračování) Příklady změn taxonomických názvů u mléčných tyčinek z roku 2020, významných v mlékárenském průmyslu (zpracováno dle Zheng a kol, 2020)

<i>Ligilactobacillus salivarius</i> (<i>Lactobacillus salivarius</i>)	izolován například z lidských úst a gastrointestinálního traktu, křečků, kuřat, z mléčných výrobků
--	--

Vysvětlivky: V závorce je u všech nových druhů mléčných tyčinek uveden jejich basonym.

1.2 Funkce mikrobiálních kultur

Většina dostupné odborné literatury se shoduje v názoru, že mikrobiální kultury disponují třemi základními funkcemi. Jedná se o technologickou, ochrannou a probiotickou funkci. (Plocková, 2002)

1.2.1 Technologická funkce

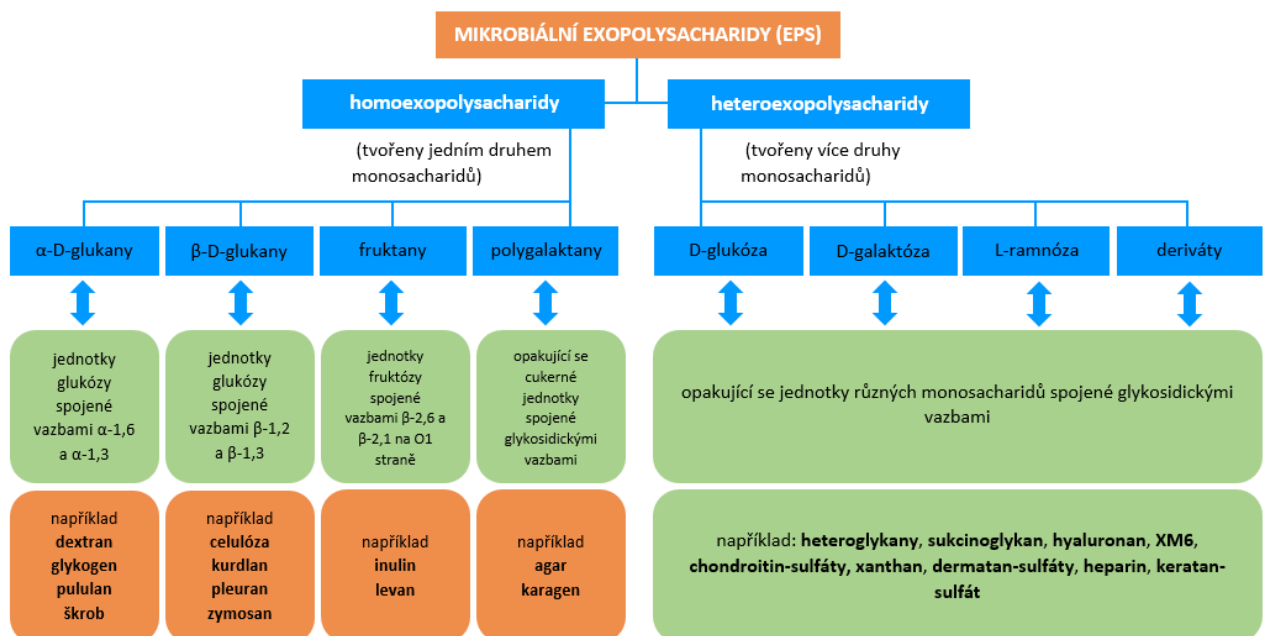
Podstatou technologické funkce kyselinotvorných kultur je jejich schopnost různými metabolickými drahami přeměňovat sacharidický substrát na kyselinu mléčnou a další technologicky významné metabolity. Produkci organických kyselin dochází k acidifikaci prostředí. Této technologické funkci se využívá jako základu pro výrobu fermentovaných potravin. Z technologického hlediska dále v rámci fermentačního procesu dochází rovněž k vývoji chutě, aroma, textury a výživových hodnot finálního výrobku. (Doyle a Beuchat, 2007), (Plocková, 2002) a (Hansen, 2004)

Základní technologickou funkci bakterií mléčného kvašení lze doplnit o další významný technologický aspekt. Některé druhy bakterií mléčného kvašení produkují tzv. exopolysacharidy (EPS). Jedná se o polysacharidy, jež jsou bakteriemi uvolňovány do extracelulárního prostředí, ať už ve formě kapslí nebo biofilmu, a jejichž úlohou je především ochrana bakteriálních povrchů, ochrana proti vnějšímu prostředí či strukturní stabilizace v biofilmu. Přibližně třicet druhů mléčných tyčinek bylo popsáno jako producenti EPS. Mezi nejznámější patří *Lacticaseibacillus casei* (do roku 2020 *Lactobacillus casei*), *Lactobacillus acidophilus*, *Levilactobacillus brevis* (do roku 2020 *Lactobacillus brevis*), *Latilactobacillus curvatus* (do roku 2020 *Lactobacillus curvatus*), *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* (do roku 2020 *Lactobacillus rhamnosus*) a *Lactiplantibacillus plantarum* (do roku 2020 *Lactobacillus plantarum*). Vedle vlastního ochranného charakteru vykazují EPS technologickou funkci,

jelikož jsou schopny pozitivně ovlivňovat reologické vlastnosti fermentovaných potravin, jako jsou například jogurty, mléčné dezerty, sýry apod. (Harutoshi, 2013) EPS jsou využívány jako přírodní zahušňovačidla, emulgátory, látky na tvorbu gelů, stabilizátory apod. (Fedorová a kol., 2018)

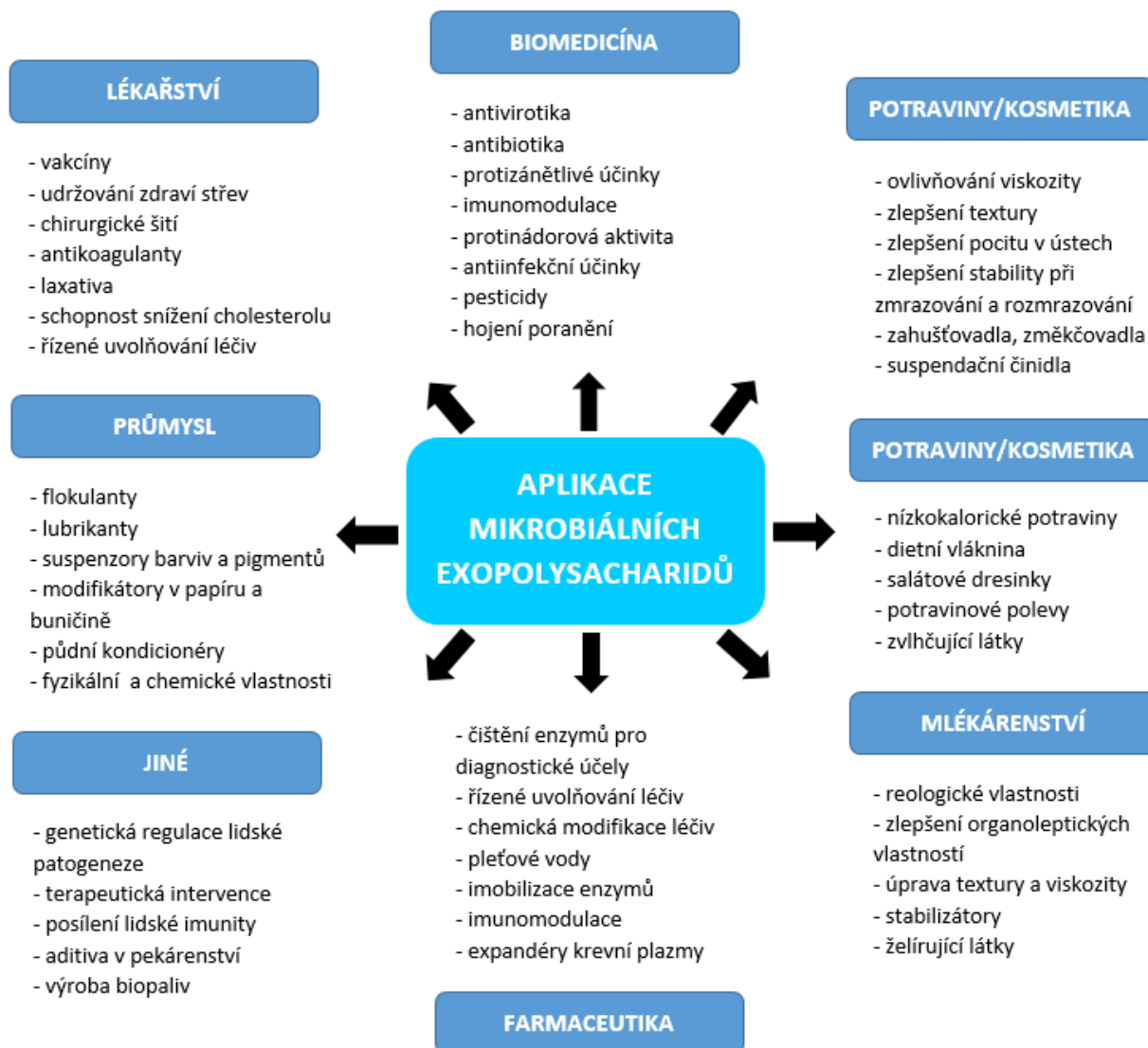
Exopolysacharidy lze rozdělit na dvě základní skupiny, a to homoexopolysacharidy a heteroexopolysacharidy, přičemž homoexopolysacharidy jsou tvořeny jedním druhem monosacharidu, zatímco heteroexopolysacharidy jsou tvořeny více druhy monosacharidů. (Fedorová a kol., 2018) Na Obrázku 1 je popsáno rozdělení mikrobiálních exopolysacharidů.

Obrázek 1 – Rozdělení mikrobiálních exopolysacharidů (zpracováno a přeloženo dle Bajpai a kol., 2015)



Jak již bylo řečeno, exopolysacharidy jsou v potravinářství využívány pro svou technologickou funkci. Některé bakteriální polymery jsou v potravinářství využívány jako aditiva pro řízení reologických vlastností potravin. Jedná se například o potravinářské aditivum gellan, kurdlan nebo xanthan. Pozornost si nicméně exopolysacharidy získaly i pro své zdravotní benefity. (Harutoshi, 2013) a (Fedorová a kol., 2018) Na Obrázku 2 jsou jednotlivé benefity exopolysacharidů rozděleny do oblastí jejich aplikace.

Obrázek 2 – Různé aplikace mikrobiálních exopolysacharidů v různých odvětvích (zpracováno a přeloženo dle Bajpai a kol., 2015)



1.2.2 Ochranná funkce

Prostřednictvím technologické funkce kultur, tedy acidifikací prostředí dochází ke snížení pH systému, čímž je dosaženo zároveň i ochranného efektu založeného na inhibici růstu nežádoucích mikroorganismů, včetně mikroorganismů způsobujících alimentární onemocnění. Ochranný efekt pak dále podporuje i utilizace laktózy bakteriálními kulturami, které tak prostřednictvím kompetice o substrát inhibují růst nežádoucích mikroorganismů. (Doyle a Beuchat, 2007), (Plocková, 2002) a (Hansen, 2004)

Inhibice růstu nežádoucích mikroorganismů ovlivněním pH systému ovšem není jedinou ochrannou funkcí mikrobiálních kultur, kterou disponují. Mnohé mikroorganismy

jsou schopny produkovat antimikrobní bakteriociny, jež též působí inhibičně. Prvním bakteriocinem, který byl objeven, je nisin, a to již ve 30. letech 20. století. Nisin je produkován více kmeny *Lactococcus lactis* a je využíván v potravinářství jako konzervant déle než 70 let. (Hansen, 2004) Ben Said a kol. (2019) uvádí tři základní mechanismy působení, jež ochranné kultury vykazují, a shrnuje tak výše popsané:

- nahrazení
- kompetice o nutrienty
- produkce metabolitů

Dalším ochranným metabolitem je například látka reuterin, jež je produkována bakteriemi *Limosilactobacillus reuteri* při metabolizaci glycerolu. (Cleusix a kol., 2007) Reuterin představuje nebílkovinnou organickou sloučeninu s nízkou molekulární hmotností a je známý jako antimikrobiální látka. (Tang a Lu, 2019) a (Cleusix a kol., 2007) Cleusix a kol. (2007) dále uvádí, že reuterin aktivně působí proti kvasinkám, plísním, enteropatogenům, virům a prvokům. Urrutia-Bacca a kol. (2018) zjistili, že reuterin dokáže snížit počet kolonií patogenů již při velice nízké koncentraci.

Ochranná funkce kultur je pak popsána dále v kapitole 3.3, která blíže popisuje mimo jiné dva druhy bioprotektivních kultur použitých v rámci experimentální části této diplomové práce.

1.2.3 Probiotická funkce

Přínos bakterií mléčného kvašení na lidské zdraví byl popsán ruským přírodovědcem Iljou Iljičem Mečnikovem již před více jak stoletím. Pozdější vědecké studie tento pozitivní zdravotní efekt potvrdily a o vlivu se začalo hovořit jako o probiotickém efektu. Termín *pro bios* pochází z řečtiny a znamená „pro život“ nebo „na podporu života“. Termín probiotický pak byl poprvé použit v roce 1965 autory Stillwellová a Lilly v jejich článku Probiotika: faktory podporující růst, produkováné mikroorganismy. (Hansen, 2004) a (Lilly a Stillwellová, 1965)

Dnes jsou probiotika popisována jako živé mikroorganismy, převážně lidského původu, které pozitivně působí na zdraví uživatele, jsou-li konzumovány v přiměřeném

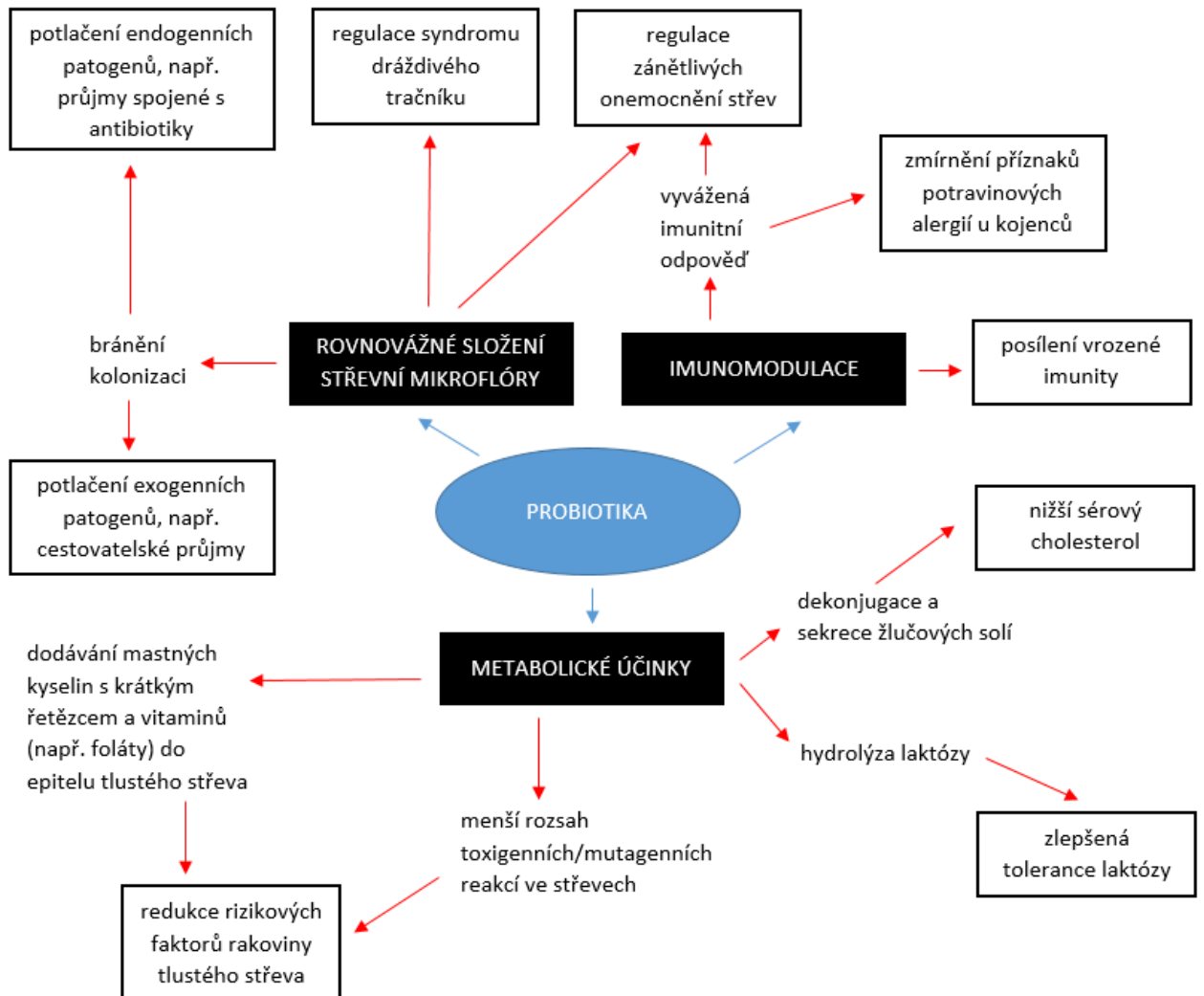
množství. (Hansen, 2004) Mnozí autoři se shodují na tom, že funkce probiotik spočívá v jejich podpoře rovnováhy mikroflóry. (Yang a kol., 2014) a (Horáčková a Šviráková, 2009) Probiotika jsou schopna přežít v gastrointestinálním traktu, Fuller (1989) dále doplňuje, že nevykazují žádnou patogenitu, ani toxicitu. Na Obrázku 3 jsou schematicky vyobrazeny příklady probiotických mikroorganismů.

Obrázek 3 – Příklady mikroorganismů s probiotickými vlastnostmi (zpracováno a přeloženo dle Morya a Aeron, 2017)

PROBIOTIKA			
rod <i>Lactobacillus</i>	příslušníci nových rodů vyčleněných z rodu <i>Lactobacillus</i> v roce 2020	rod <i>Bifidobacterium</i>	jiné druhy
<i>L. acidophilus</i> <i>L. delbrueckii</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. gallinarum</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i> <i>Limosilactobacillus reuteri</i> <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> <i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	<i>B. adolescents</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infants</i> <i>B. lactis</i> <i>B. longum</i>	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Saccharomyces boulardi</i>

Za příznivé účinky probiotik je nejčastěji označována antimikrobiální aktivita v souvislosti s různými druhy gastrointestinálních infekcí (akutní průjemové onemocnění, průjemové onemocnění spojené s užíváním antibiotik), zmírnění průběhu nespecifických střevních zánětů (např. Crohnova choroba, ulcerózní kolitida), léčba urovaginálních infekcí apod. (Yang a kol., 2014) Na Obrázku 4 jsou znázorněny různé funkce a zdravotní benefity probiotik.

Obrázek 4 - Grafické schéma funkcí a zdravotních benefitů probiotik (zpracováno a přeloženo dle Morya a Aeron, 2017)



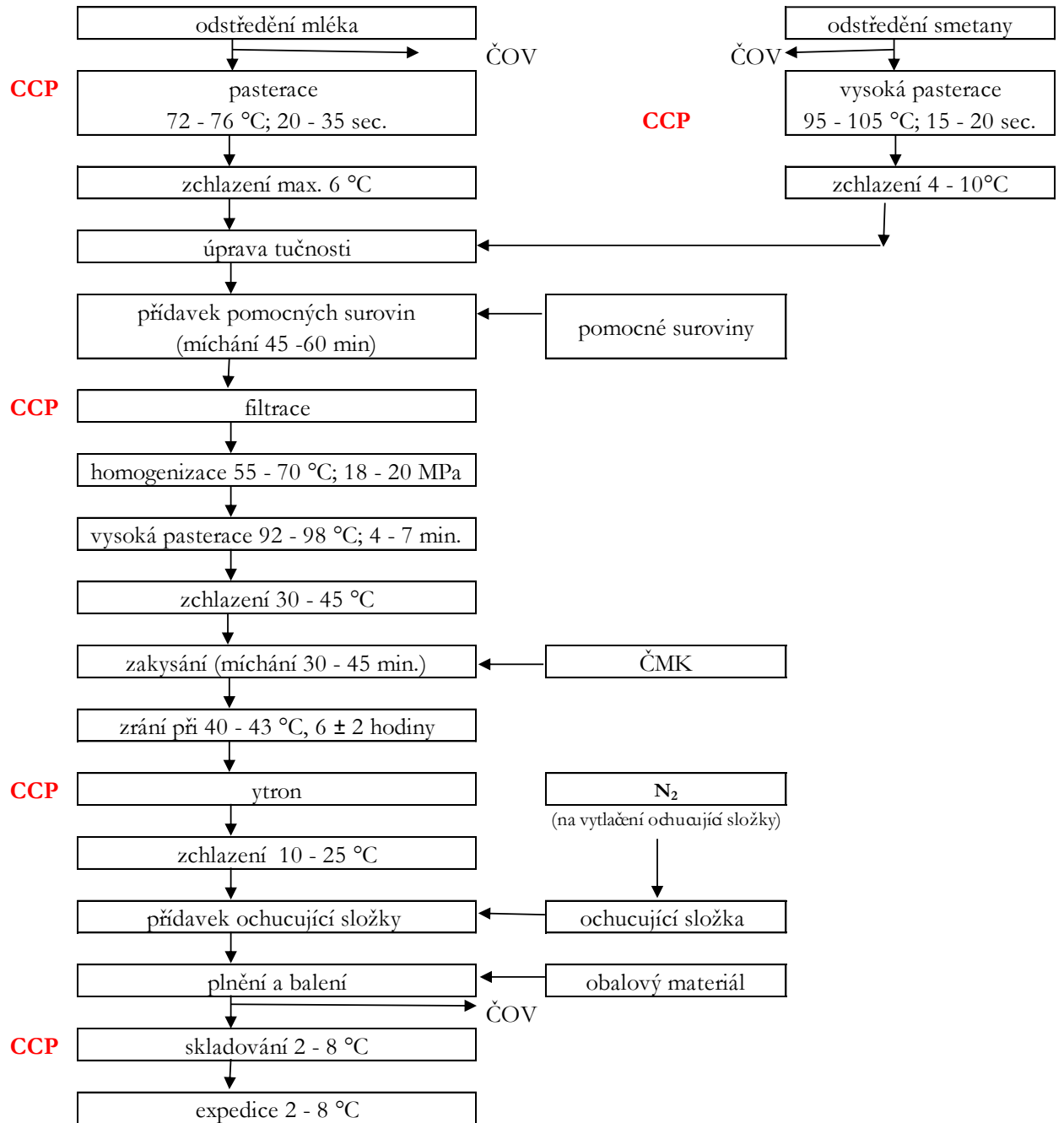
2 TECHNOLOGIE VÝROBY KYSANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

V této kapitole je popsána technologie výroby kysaných mléčných výrobků, které jsou vyráběny ve zpracovatelském subjektu, na který se zaměřuje praktická část této diplomové práce. Mlékárna se koncentruje na výrobu kysaných mléčných výrobků, především jogurtů a zakysaných smetan širokého spektra, zahrnující různou tučnost, ochucení, gramáž apod. V kapitole 1.1 byl definován kysaný mléčný výrobek dle platné české legislativy. Mlékárna ve svém HACCP definuje jogurt, konkrétně smetanový ochucený, jako zakysaný mléčný výrobek získaný ze syrového kravského mléka odstředěním mléka a smetany, pasterací mléka a smetany, zchlazením, standardizací, filtrací, homogenizací, pasterací, zchlazením, zakysáním, zráním, filtrací, zchlazením, přidáním ochucující složky a balením. (Anonym, 2021) Pro fermentaci tohoto typu jogurtu je používána termofilní, jogurtová kultura obsahující *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Dle technické specifikace se jedná o hlubokomraženou, vysoce koncentrovanou, kysací, kyselinu mléčnou produkující kulturu pro výrobu jogurtových výrobků s vysokou viskozitou a jemnou chutí. Kultura je hlubokomražená v peletové formě a inokuluje se přímo do mléka.

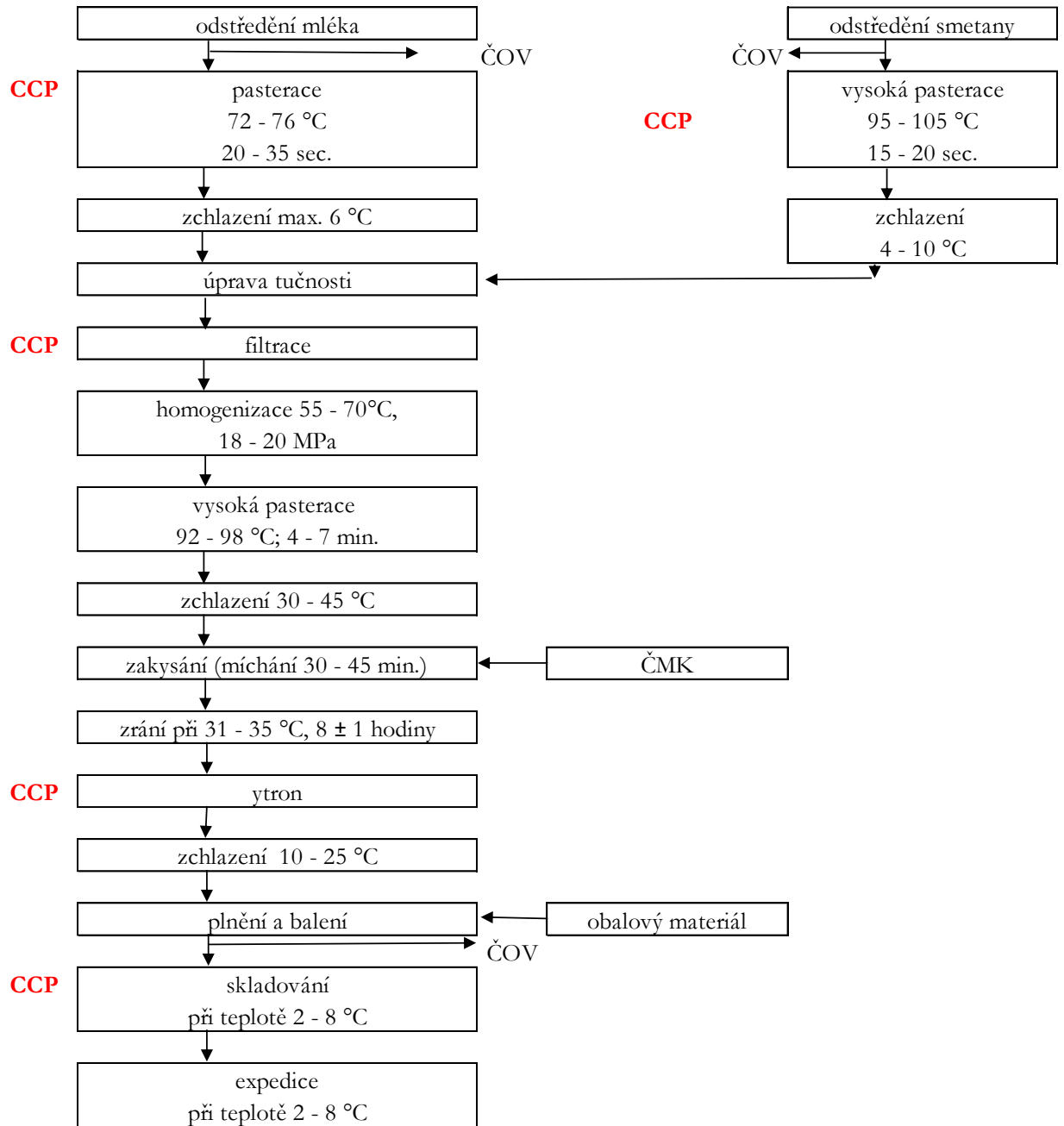
Zakysanou neochucenou smetanu mlékárna ve svém HACCP definuje jako zakysaný mléčný výrobek technologicky získaný analogickým způsobem jako výše uvedený jogurt ochucený smetanový, vyjma přidání ochucující složky. Zásadní technologický rozdíl výroby pak spočívá v použití mezofilní smetanové kultury. Kultura obsahuje *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Dle technické specifikace se jedná o homofermentativní kmeny zajišťující rychlou produkci kyseliny mléčné, mající vysokou odolnost vůči fágům a neprodukující CO₂. Kultura je hlubokomražená v peletové formě a inokuluje se přímo do mléka.

Výrobní diagram pro výrobu smetanového ochuceného jogurtu s použitou termofilní kulturou je zobrazen na Obrázku 5, výrobní diagram pro výrobu zakysané neochucené smetany s použitou mezofilní kulturou je zobrazen na Obrázku 6. Z Obrázků 5 a 6 je pak zjevný zásadní rozdíl v použití termofilní a mezofilní kultury. Základní surovinová skladba inokulovaná termofilní kulturou je ponechána v procesu zrání 6 ± 2 hodiny při teplotě 40 – 43 °C, zatímco základní surovinová skladba inokulovaná mezofilní kulturou je ponechána v procesu zrání 8 ± 1 hodiny při teplotě 31 – 35 °C.

Obrázek 5 – Výrobní diagram pro výrobu smetanového ochuceného jogurtu, použita termofilní jogurtová kultura.



Obrázek 6 - Výrobní diagram pro výrobu zakysané neochucené smetany, použita mezofilní smetanová kultura



3 MOŽNOSTI PRODLOUŽENÍ TRVANLIVOSTI KYSANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

Martin a kol. (2021) uvádí, že výrobní ztráty na potravinách, související s výrobním procesem nebo obecně plýtváním, způsobují dnes ve světovém měřítku velké znepokojení ve společnosti, přičemž mléčné výrobky představují jednu z nejvíce ztrátových oblastí. Martin a kol. (2021) pro srovnání uvádí, že jen ve Spojených státech amerických s cca 330 miliony obyvatel představuje ročně až jedna čtvrtina objemu mléčných výrobků ztráty na úrovni výroby, prodeje či u spotřebitelů. Z globálního hlediska je zásadní vyjádření Organizace pro výživu a zemědělství (FAO), specializované agentury Organizace spojených národů (OSN), jejímž cílem je zajištění dostatku potravin a pitné vody pro obyvatelstvo rozvojových zemí, a která tvrdí, že se celosvětově vyhodí či znehodnotí až celá jedna třetina vyprodukovaných potravin, což představuje přibližně 1,3 miliardy tun potravin. (FAO, 2011) Společnost Glopolis, obecně prospěšná společnost zabývající se především vědecko-výzkumnou a vzdělávací činností zaměřenou na globální, evropskou a českou politicko-ekonomickou situaci v oblasti udržitelného rozvoje, na informaci FAO navázala sdělením, že by toto množství nenávratně ztracených potravin dokázalo obživit téměř tři miliardy lidí, tedy přibližně třikrát více, než kolik je na světě lidí trpících hladomorem. (Glopolis, 2022)

Hlavním důvodem ztrát na mléčných výrobcích z pohledu výrobců a zpracovatelů je znehodnocení výrobků způsobené nežádoucí mikrobiální činností. Mikrobiální kontaminace se může objevit v různých úsecích výrobního procesu. (Martin a kol., 2021) Mezi nežádoucí mikroorganismy způsobující kažení potravin patří gramnegativní bakterie (např. *Pseudomonas*), grampozitivní bakterie (např. *Paenibacillus*) a široká řada plísní a kvasinek. (Ledenbach a Marshall, 2009) Tyto mikroorganismy rostou, často velice rychle, při chladírenských teplotách. Mechanizmy znehodnocení mléčných výrobků se liší s typem kontaminujícího mikroorganismu, nicméně je lze obecně rozdělit následovně:

- produkce extracelulárních enzymů způsobujících proteolýzu, lipolýzu, rozklad laktózy, vznik cizích pachů, cizích chutí a změnu textury (např. koagulace mléka)
- vizuálně detekovatelný růst (nejčastěji plísně a kvasinky)
- produkce pigmentů
- další metabolické procesy jako např. fermentace

Možnosti snížení objemu mikrobiálně znehodnocených mléčných výrobků jsou různého charakteru. Lze zmínit snížení kontaminace mléka jako suroviny v zemědělské prvovýrobě, samotné odstranění mikrobiálních kontaminantů, použití ochranných mikrobiálních kultur nebo využití pokročilých molekulárních mikrobiologických technik pro sledování a určení kontaminujících mikroorganismů. (Martin a kol., 2021)

Mikrobiální znehodnocení zakysaných mléčných výrobků

Zakysané mléčné výrobky bývají znehodnoceny nežádoucí mikrobiální činností odpovídající jejich charakteristickým vlastnostem, především nízkému pH, pohybujícímu se pod 4,6, při kterém dochází k inhibici růstu většiny bakterií. Proto bývá u zakysaných mléčných výrobků zjištěna kontaminace různými druhy plísní nebo kvasinek, které jsou schopny růst při nižších hodnotách pH, ale i nižších teplotách. (Martin a kol., 2021) Ze zakysaných mléčných výrobků byla izolována široká řada zástupců plísní a kvasinek mnoha kmenů (např. *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Mucoromycota*). (Ledenbach a Marshall, 2009) Mezi další fungální kontaminanty izolované ze zakysaných mléčných výrobků se řadí například zástupci rodů kvasinek *Debaryomyces*, *Rhodotorula*, *Kluyveromyces* a *Candida* nebo zástupci rodů plísní *Rhizomucor*, *Sistotrema* a *Mucor*. (Rohm a kol., 1992) a (Buehler a kol., 2017)

Plísně a kvasinky jsou jako kontaminanty schopny u zakysaných mléčných výrobků vytvářet cizí pachy, cizí chuť nebo plyn prostřednictvím fermentace laktózy, lipolýzy, proteolýzy a dalších metabolických procesů. (Martin a kol., 2021)

3.1 Redukce mikrobiální kontaminace syrového mléka v zemědělské prvovýrobě

V této části je nutné se zaměřit především na bakteriální spory v syrovém mléce, jež představují hlavní mikrobiální kontaminant pocházející ze zemědělské prvovýroby. Bakteriální spory lze nalézt ubikvitně v přírodním prostředí, v zemědělské prvovýrobě pak mohou kontaminovat syrové mléko během dojení. Bylo provedeno několik studií zabývajících se významem pracovních procesů v zemědělské prvovýrobě a zdroji přenosu spor z vnějšího prostředí do syrového mléka. (Martin a kol., 2021)

Například Magnusson a kol. (2006) se zabývali ve své studii účinností postupu čištění struků dojnic před dojením, které byly experimentálně kontaminovány spory *Clostridium tyrobutyricum* a *Bacillus cereus*. Autoři studie zjistili, že čištění struků dojnic vlhkým ručníkem a následné osušení struků suchým ručníkem značně redukovalo počet bakteriálních spor v syrovém mléce. Čištění struků dojnic suchým papírovým ručníkem po dobu 10 sekund redukovalo koncentraci spor v syrovém mléce o 45 až 50 %. Použití dvou různých typů vlhkých ručníků po dobu 10 sekund snížilo koncentraci spor o 50 až 74 %. Použití dvou ručníků, mýdla a delšího času čištění snížilo bakteriální kontaminaci o 85 až 91 %. Nejúčinnější metodou snížení koncentrace spor v syrovém mléce pak bylo použití vlhkého ručníku s/bez mýdla následované osušením struků suchým papírovým ručníkem po dobu 20 sekund, přičemž došlo ke snížení koncentrace spor v syrovém mléce o 96 %. Podobně Ewanowski a kol. (2020) zkoumali účinnost kombinace různých opatření pro redukci spor v syrovém mléce. Mezi opatření mimo jiné patřilo rozšíření čištění struků dojnic a zavedení zásad čištění vlhkým a suchým ručníkem. Autoři studie zjistili, že zavedení kombinace opatření značně snížilo počet mezofilních i termofilních spor v syrovém mléce.

3.2 Technologické procesy v mlékárně pro eliminaci mikrobiální kontaminace

Mezi technologické procesy v mlékárenském průmyslu, jejichž cílem je odstranění bakteriálních kontaminantů, zejména bakteriálních spor (např. rodu *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Clostridium*) z mléka, je baktofugace a mikrofiltrace. Baktofugace spočívá v odstředění sporotvorných mikroorganismů a jejich termorezistentních spor z mléka prostřednictvím odstředivé síly. (Martin a kol., 2021) Tato technologie byla poprvé použita v mlékárenském průmyslu jako metoda odstranění spor anaerobního *Clostridium tyrobutyricum* pro zabránění pozdního duření sýrů. Poté byla baktofugace zavedena u tekutého mléka, a to z důvodu odstranění spor především druhu *Bacillus cereus*, jež je významným kontaminantem pasterovaného mléka. Zároveň byla baktofugace jednou z prvních technologií používaných pro výrobu ESL (Extended Shelf Life) mléka. (Géstan-Guiziou, 2010) Naproti tomu u mikrofiltrace je využívána semipermeabilní membrána s proměnlivou velikostí pórů pro oddělení bakteriálních kontaminantů od mléčných složek. Prostřednictvím membránového procesu mikrofiltrace je mléko rozděleno na dvě frakce různého složení. Složky procházející přes semipermeabilní membránu tvoří tzv. permeát, naopak frakce

zachycená na membráně se nazývá retentát neboli koncentrát. Mikrofiltrace má se svými 99,10 až 99,99 % vyšší účinnost v odstraňování bakteriálních kontaminantů než baktofugace, jejíž účinnost se pohybuje kolem 90 až 98 %. (Martin a kol., 2021) a (Gésan-Guiziou, 2010) Výhodou baktofugace a mikrofiltrace je, že pro snížení znehodnocení mléčných výrobků není nutné využívat inhibitory klíčení spor, jako jsou nitráty, lysozym nebo nisin. (Martin a kol., 2021)

3.3 Úprava receptury výrobku – použití ochranných kultur

Již delší dobu je známo, že chemické konzervanty pomáhají efektivně chránit mléčné výrobky před znehodnocením mikrobiálními kontaminanty. Jelikož ale roste tlak spotřebitelů na eliminaci chemických konzervantů z potravin, uchylují se výrobci mléčných výrobků k použití alternativy představované bioprotektivními mikrobiálními kulturami. Bioprotektivní kultury jsou definovány jako živé mikroorganismy, které jsou záměrně přidávány do potravinářských výrobků za účelem inhibice nežádoucího mikrobiálního růstu, aniž by docházelo ke změně technologických a organoleptických vlastností výrobků. (Martin a kol., 2021) a (Ben Said a kol., 2019)

Bioprotektivní kultury jsou využívány jako ochrana před nežádoucím působením plísní a kvasinek v mnoha druzích potravinářských výrobků, především pak v mléčných výrobcích, kde jsou bioprotektivní kultury využívány po boku starterových kultur. Bakterie mléčného kvašení jsou nejběžnější mikroorganismy využívané jako bioprotektivní činitelé. (Martin a kol., 2021)

Již v kapitole 1.2.2 bylo popsáno, že ochranné kultury disponují třemi základními mechanismy působení. Z pohledu mechanismu působení ochranných kultur je nejvíce prozkoumaná produkce metabolitů. Mezi zjištěné antimikrobní látky se řadí organické kyseliny, mastné kyseliny, cyklopeptidy, reuterin, peroxid vodíku a těkavé sloučeniny jako diacetyl. Martin a kol. (2021) a Lačanin a kol. (2017) uvádí, že bakterie druhu *Lactocaseibacillus paracasei* a *Lactocaseibacillus rhamnosus* produkují antimikrobní látky a chrání tak jogurt před nežádoucí činností plísní a kvasinek. Studie z roku 2020 prokázala, že stejné dva druhy mléčných tyčinek inhibovaly v jogurtu růst fungálních kontaminantů prostřednictvím kompetice o nutrienty, konkrétně o mangan (Siedler a kol., 2020).

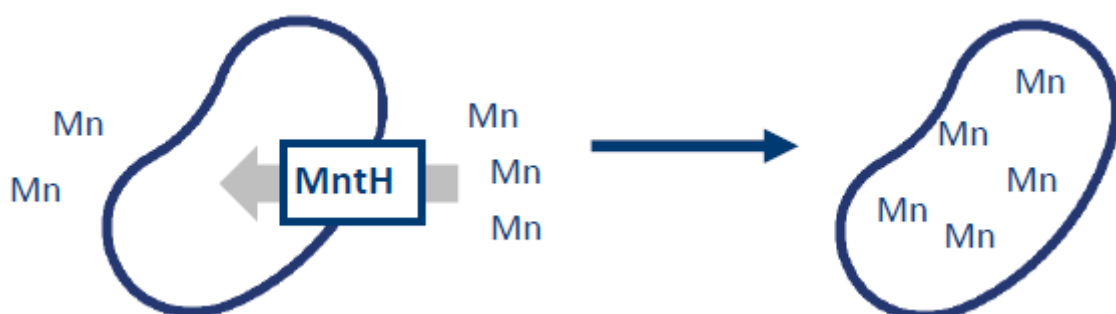
Mechanismus kompetice o mangan a ochranná kultura FreshQ

Vědeckému týmu společnosti Chr.Hansen (společnost zabývající se mimo jiné výrobou potravinářských kultur) je připisován objev kompetice mikroorganismů o mangan. (Siedler a kol., 2020) Jednou z ochranných kultur společnosti Chr.Hansen je kultura FreshQ, jež byla spolu s ochrannou kulturou Delvo Guard od společnosti DSM Food Specialties BV použita pro experimentální část této diplomové práce. Ochranná funkce kultury FreshQ je právě založena na kompetici o mangan. Dle technické specifikace ochranná kultura FreshQ obsahuje *Lactocaseibacillus rhamnosus*.

Výše uvedená studie Siedlera a kol. (2020) prokázala, že kompetiční vyloučení, tj. kompetice různých mikroorganismů o omezený zdroj živiny je hlavním mechanismem inhibice fungálního růstu v zakysaných mléčných výrobcích zapříčiněné mléčnými tyčinkami. V rámci studie bylo objeveno a prokázáno vyčerpání esenciálního stopového prvku manganu dvěma druhy mléčných tyčinek (*Lactocaseibacillus rhamnosus* a *Lactocaseibacillus paracasei*) jako mechanismus inhibice růstu plísní a kvasinek v mléčných výrobcích. Vyčerpání manganu z prostředí usnadňuje přenašeč manganu (MntH1, manganese transporter), jež představuje jeden z nejexprimovanějších genových produktů u obou druhů mléčných tyčinek. Mechanismus přenosu manganu je zjednodušeně vyjádřen na Obrázku 7.

Mangan představuje esenciální stopový prvek nepostradatelný pro růst bakterií, kvasinek a plísní. K dvěma hlavním způsobům příjmu manganu u bakterií mléčného kvašení patří přenos manganu prostřednictvím přenašeče MntH a prostřednictvím přenašeče SitABC (ABC přenašeč manganu). Zatímco přenašeč SitABC je nejvíce aktivní při neutrálním pH, přenašeč MntH je aktivní především v kyselém prostředí. (Siedler a kol., 2020)

Obrázek 7 – Znázornění přenosu manganu prostřednictvím přenašeče MntH (Chr.Hansen, 2020)



Studie prokázala, že mangan je limitujícím faktorem růstu kvasinek v jogurtu obsahujícím ochrannou kulturu. Ochranná kultura obsahovala kmen *Lacticaseibacillus rhamnosus* a kmen *Lacticaseibacillus paracasei*. Prostřednictvím kompetice o mangan studie prokázala schopnost ochranné kultury inhibovat růst různých kmenů kvasinek a plísní. (Siedler a kol., 2020)

Ochranná kultura Delvo Guard

Vedle ochranné kultury FreshQ byla pro experimentální část této diplomové práce použita také ochranná kultura Delvo Guard společnosti DSM Food Specialties BV. Působení této ochranné kultury je založeno na různých biologických mechanismech, které spolu fungují synergicky a určují inhibiční vlastnosti ochranné kultury. Mezi tyto biologické inhibiční mechanismy společnost DSM Food Specialties BV (2021) řadí:

- produkci antimikrobiálních metabolitů, jako jsou specifické peptidy, bakteriociny a organické kyseliny
- kompetici o prostor a živiny, jako jsou zdroje uhlíku, dusíku a fosforu

Dle specifikace ochranná kultura Delvo Guard obsahuje *Lacticaseibacillus rhamnosus* a *Lactobacillus sakei*.

3.4 Monitoring surovin a prostředí a sledování zdrojů mikrobiální kontaminace prostřednictvím molekulárních metod

Použití jednogenového sekvenování může představovat příležitost identifikace, podtypování a sledování zdroje cílového nežádoucího mikroorganismu v mlékárenském průmyslu a souvisejících oblastech (zemědělská prvovýroba a zpracovatelské závody). Jedná se o molekulární metodu, kdy je sekvenován gen z jednoho jediného bakteriálního izolátu. (Martin a kol., 2021) Např. rpoB gen, který kóduje β podjednotku RNA polymerázy, byl použit pro podtypování aerobních sporotvorných bakterií vyskytujících se v zemědělské prvovýrobě, distribučních kanálech, zpracovatelských závodech, syrovém mléce a pasterovaném mléce v průběhu trvanlivosti výrobku. (Huck a kol., 2007) a (Huck a kol., 2008) V roce 2019 byla provedena studie, v rámci které bylo provedeno jednogenové sekvenování pro sledování fungální kontaminace ve dvou výrobních závodech zaměřených

na výrobu jogurtů. V rámci studie bylo izolováno 852 fungálních kontaminantů pocházejících ze surovin, procesních produktových vzorků, departážních vzorků a vzorků z prostředí. (Buehler a kol., 2019)

Další molekulární metodou možnou pro sledování mikrobiálních kontaminantů v mléčných výrobcích může být metagenomika, při níž jsou sekvenovány jednotlivé geny nebo celé genomy z potenciálně různorodého mikrobiálního společenství obývajících společné prostředí. V porovnání s jednogenovým sekvenováním naopak metagenomika představuje sekvenování celkové DNA izolované ze studovaného prostředí. (Yeung, 2012) a (Eisen, 2007)

3.5 Matematické modelování trvanlivosti mléčných výrobků

Matematické modelování může být další možností zlepšení kvality mléčných výrobků. Prediktivní matematické modely jako např. model Monte Carlo umožňují uživatelům modelovat komplexní systémy jako např. průběh znehodnocení výrobků, a to prostřednictvím sledování úrovně mikrobiální kontaminace nebo zastoupení mikrobiální populace. Tyto modely jsou schopny předpovědět nejen trvanlivost výrobku nebo jeho mikrobiální znehodnocení, ale jsou schopny předpovědět i účinnost různých opatření pro zvýšení kvality výrobků. (Martin a kol., 2021)

Buehler a kol. (2018a) provedli dvě studie s použitím metody Monte Carlo. V prvním případě autoři studií využili metodu Monte Carlo pro předpověď znehodnocení mléka nežádoucí činností psychrotolerantních aerobních sporotvorných bakterií (např. *Paenibacillus*). Pro svůj výzkum využili údaje o počáteční koncentraci spor, prevalenci typů spor, parametry růstu nejrozšířenějších kmenů. Autoři studie využili metodu Monte Carlo pro modelaci účinku implementované mikrofiltrace a snížení skladovací teploty na kvalitu mléka. V druhé studii autoři pomocí stejné metody předpovídali průběh znehodnocení jogurtu fungálními kontaminanty a hodnotili použití dvou ochranných opatření (zkrácení distribučního řetězce, snížení skladovací teploty). (Buehler, 2018b)

3.6 Technologie výrobního zařízení

Jednou z dalších možností prodloužení trvanlivosti mléčných výrobků může být úprava technologie výrobního zařízení s důrazem na hygienu výrobního procesu. Touto cestou se v roce 2016 vydala mlékárna, v níž probíhala experimentální část této diplomové práce.

V rámci Programu rozvoje venkova 2014 – 2020 mlékárna zahájila projekt Vývoj a zavedení inovací mléčných výrobků s prodlouženou trvanlivostí a s upraveným obsahem složek, jež byl zahrnut v dotačním titulu pod Opatřením 16. Spolupráce, Podopatřením 16.2 Podpora vývoje nových produktů, postupů a technologií, a nakonec pod Operací 16.2.2. s názvem Podpora vývoje nových produktů, postupů a technologií při zpracování zemědělských produktů a jejich uvádění na trh. Na projektu mlékárna spolupracovala s českou společností MILCOM a.s., jež se sama představuje jako významný partner všech výrobců potravin, zejména mlékáren, na cestě k novým výrobkům, ve využití nových technologií a v rychlé a spolehlivé diagnostice potravin. (Anonym, 2015) a (MILCOM, 2022) Hlavním cílem spolupráce mlékárny a společnosti MILCOM a.s. byl návrh inovace složení nového jogurtu s úpravou obsahu složek a návrh jeho výrobního postupu, a návrh postupu balení včetně obalu pro všechny výrobky jogurtového typu ke zvýšení jejich kvality a prodloužení jejich trvanlivosti.

Cílem projektu bylo inovovat výrobu zakysaných mléčných výrobků v mlékárně tak, aby bylo především dosaženo:

- prodloužení doby trvanlivosti stávající produkce
- zavedení nového výrobku do výroby – receptura a výrobní postup se zachovanými vlastnostmi původních surovin
- zavedení nového způsobu balení stávajících zakysaných mléčných výrobků a nového typu jogurtu se zvýšeným obsahem bílkovin

S ohledem na téma diplomové práce nebude již dále zavedení nového výrobku se zvýšeným obsahem bílkovin řešeno, a podkapitola 3.6 se bude věnovat již jen způsobu prodloužení doby trvanlivosti stávající produkce mlékárny.

Jedním z prvních kroků v rámci projektu bylo zjištění současné kvality mléka jako suroviny, stávajících zakysaných mléčných výrobků a výrobních podmínek, tj. prostor, výrobních postupů a strojního zařízení vzhledem ke stávající době trvanlivosti, kterou bylo

cílem projektu prodloužit. Bylo provedeno vyhodnocení kvality mléka jako suroviny a také kvality finálních výrobků. Bylo zjištěno, že žádaného prodloužení trvanlivosti stávající produkce není možné dosáhnout dalším zvýšením kvality suroviny, která je velmi dobrá. (Anonym, 2016a) V rámci sledování kvality syrového mléka byl zjišťován celkový počet mikroorganismů. V Tabulce 4 jsou zaznamenány výsledky analýzy CPM a porovnání průměru mlékárny s celorepublikovým průměrem.

Tabulka 4 – Porovnání průměru mlékárny a celorepublikového průměru kvality syrového mléka za rok 2016 (celkový počet mikroorganismů/1 ml) (přepřacováno dle Anonym, 2016a)

Průměr CPM KTJ 10 ³	Měsíc 2016												2016
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	
ČR	48,6	43,0	46,7	48,1	50,6	43,1	55,3	52,9	50,9	49,1	44,4	39,4	51,0
mlékárna	23,0	25,0	27,0	30,0	32,0	30,0	26,0	26,0	25,0	21,0	16,0	13,0	25,0

Na základě výsledků z Tabulky 4 lze konstatovat, že kvalita nakupovaného syrového mléka v mlékárně byla v daném období podstatně vyšší než celorepublikový průměr. Z výsledků vyplývá, že mikrobiologická kvalita nakupovaného syrového mléka byla v daném období zásadním faktorem ovlivňujícím trvanlivost produkce mlékárny a trvanlivost výrobků bylo tudíž možné prodloužit nejspíš jen zlepšením procesu plnění a balení.

V rámci analýzy výroby, výrobních prostor a původního výrobního zařízení, bylo zjištěno, že zakysané mléčné výrobky vyráběné na původním výrobním zařízení, které bylo později nahrazeno novým výrobním zařízením v rámci dotačního titulu, mají nastavenou dobu spotřeby na 35 dní. Ze strany mlékárny vzešel požadavek na prodloužení doby spotřeby z 35 dní na celkových 50 dní. Vzhledem k tomu, že původní výrobní zařízení mimo jiné vykazovalo častou poruchovost, nutnost seřizování a údržby, dávkování peroxidu vodíku pro ošetření obalového materiálu před plněním výrobků vykazovalo taktéž poruchovost, a tedy nespolehlivost, bylo původní výrobní zařízení v rámci analýzy vyhodnoceno jako technicky nezpůsobilé pro zajištění výroby zakysaných mléčných výrobků s požadovanou dobou spotřeby 50 dní, jelikož již stávající doba spotřeby 35 dní byla mikrobiologicky limitní. Z výše uvedených důvodů byla v rámci projektu navržena implementace nového

výrobního zařízení schopného prodloužit trvanlivost zakysaných mléčných výrobků mlékárny. (Anonym, 2016a)

Mezi základní hygienické požadavky na nové výrobní zařízení patřily požadavky shrnuté v Tabulce 5.

Tabulka 5 – Přehled hygienických požadavků mlékárny na nové výrobní zařízení (zpracováno a upraveno dle (Anonym, 2016b) *

Oblast	Popis požadavku
Hygienické provedení výrobního zařízení	ULTRACLEAN: LOG 4 – redukce choroboplodných zárodků/bakterií min. log 4 v prostoru plnění, kde dochází ke kontaktu výrobku s okolním prostředím
Minimální hygienické vybavení výrobního zařízení	- nízká uzavřená sterilní hygienická komora (tunel) - plné automatické mytí a sterilizace hygienické komory (tunelu) v režimu CIP a SIP
Ošetření víček	Sterilizace víček IR se zakrytováním IR zářičů a chlazením nebo UV záření s chlazením
Ošetření kelímků	- ionizace, profuk sterilním vzduchem a odsátí mechanických nečistot z kelímků před sterilizační stanicí H ₂ O ₂ - sterilizace kelímků pomocí H ₂ O ₂ a horkým vzduchem
Předdávkoč (ochucujících složek) a hlavní dávkoč (výrobních hmot)	mytí v CIP a sterilizace v SIP – plný automatický režim a komunikace s CIP stanicí mlékárny
Kontrola přivaření víček	Poklep na víčko s ohřevem poklepového komponentu za účelem lepší detekce (na nedokonale přivařené víčko nebude natištěno datum spotřeby a následně bude celý karton vyřazen

* originální seznam hygienických požadavků redukován pro účely diplomové práce

Na Obrázcích 8 až 10 je vyobrazeno nové plnicí zařízení získané mlékárnou na konci roku 2017 v rámci dotačního titulu.

Obrázek 8 – Nové výrobní zařízení (plnicí oblast) – pohled z přední strany výrobní haly (Anonym, 2018b)



Obrázek 9 – Nové výrobní zařízení (plnicí oblast) – pohled ze zadní strany výrobní haly (Anonym, 2018b)



Obrázek 10 – Nové výrobní zařízení (oblast skládání naplněných obalů do kartonů) (Anonym, 2018b)



Po instalaci nového výrobního zařízení byla na konci roku 2017 provedena provozní zkouška výroby stávající produkce mlékárny na novém výrobním zařízení. V rámci provozní zkoušky bylo testováno především následující: (Anonym, 2018a)

- účinnost sanitace výrobního zařízení jako celku
- garantovaná funkce výrobního zařízení jako celku
- organoleptická a mikrobiologická kvalita stávající produkce mlékárny s navazujícím výběrem modelového zakysaného mléčného výrobku pro skladovací zkoušku za účelem prokázání prodloužení trvanlivosti produkce mlékárny z 30 na 50 dní

Po sanitačním procesu bylo odebráno několik stěrů z výrobního zařízení pro stanovení kontaminujících mikroorganismů rizikových pro daný typ mléčných výrobků. Stěry byly odebrány cíleně z nedefinované plochy. Pro analýzu účinnosti sanitace byla zkoumána přítomnost koliformních bakterií, pro zachycení podmínečně patogenních mikroorganismů byla zkoumána přítomnost čeledi *Enterobacteriaceae*, a dále byla zkoumána přítomnost plísní a kvasinek. Všechny sledované skupiny mikroorganismů vykazovaly negativní nález a výsledek tak vypovídal o dobré účinnosti sanitace. (Anonym, 2018a)

Po analýze účinnosti sanitace nového výrobního zařízení byla provedena senzorická a mikrobiologická analýza vzorků modelového výrobku stávajícího portfolia mlékárny, vyrobených na novém výrobním zařízení. Z pohledu organoleptických vlastností modelového výrobku byly vybrané deskriptory výrobku hodnoceny jako charakteristické pro daný typ výrobku. Nebyly zaznamenány žádné odchylky v kvalitě výrobku. V rámci mikrobiologického hodnocení modelového výrobku byly stanovovány jednat kontaminující mikroorganismy, ale i technologicky žádoucí mikroflóra. Bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*, koliformní bakterie, kvasinky, ani plísně nebyly detekovány. Jogurtové bakterie *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* byly stanoveny v denzitě splňující podmínky vyhlášky č. 397/2016 o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. (Anonym, 2018a)

Následně byla provedena skladovací zkouška modelového výrobku mlékárny. Vzorky modelového výrobku byly po dobu skladování uchovávány při teplotě do 8 °C. Vzorky byly podrobeny senzorické a mikrobiologické analýze po 30, 50 a 60 dnech skladování. Z mikrobiálních kontaminantů byly stanovovány bakterie čeledi *Enterobacteriaceae*, koliformní bakterie, kvasinky a plísně. Z technologicky žádoucích mikroorganismů byl stanovován *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Na základě výsledků senzorické a mikrobiologické analýzy modelového výrobku bylo potvrzeno, že si modelový výrobek po dobu 30 dní, po celou dobu prodloužené trvanlivosti 50 dní, ale i po této době (50 + 10 dní) uchoval organoleptické i mikrobiologické parametry požadované kvality. Skladovací zkouškou bylo prokázáno, že zavedením nových výrobních postupů na novém výrobním zařízení lze u stávajícího sortimentu mlékárny prodloužit trvanlivost z 30 na 50 dní. (Anonym, 2018c)

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo sledování vlivu vybraných parametrů na kvalitu vzorků zakysané ochucené smetany.

Pro vypracování diplomové práce bylo nezbytné řešit následující dílčí úkoly:

- Vyrobit vzorky zakysané ochucené smetany
- Založit skladovací experiment
- Vyhodnotit a porovnat sledované parametry a na základě stanovených výsledků formulovat závěry

5 MATERIÁL A METODY

Pro zpracování experimentální části diplomové práce byly použity vzorky zakysané ochucené smetany, jež je standardně vyráběna v týdenním intervalu v jedné z mlékáren v České republice. Vzorky byly odebírány v týdenním intervalu v období června až prosince 2021. V mlékárně se vyrábí pět různých druhů ochucení tohoto výrobku, a to s ochucující složkou jahodovou, nugátovou, s příchutí vaječného likéru, stracciatelly a ochucené stracciatelly. Všech pět ochucujících složek je dodáváno českou společností zabývající se výrobou ochucujících složek pro potravinářské účely.

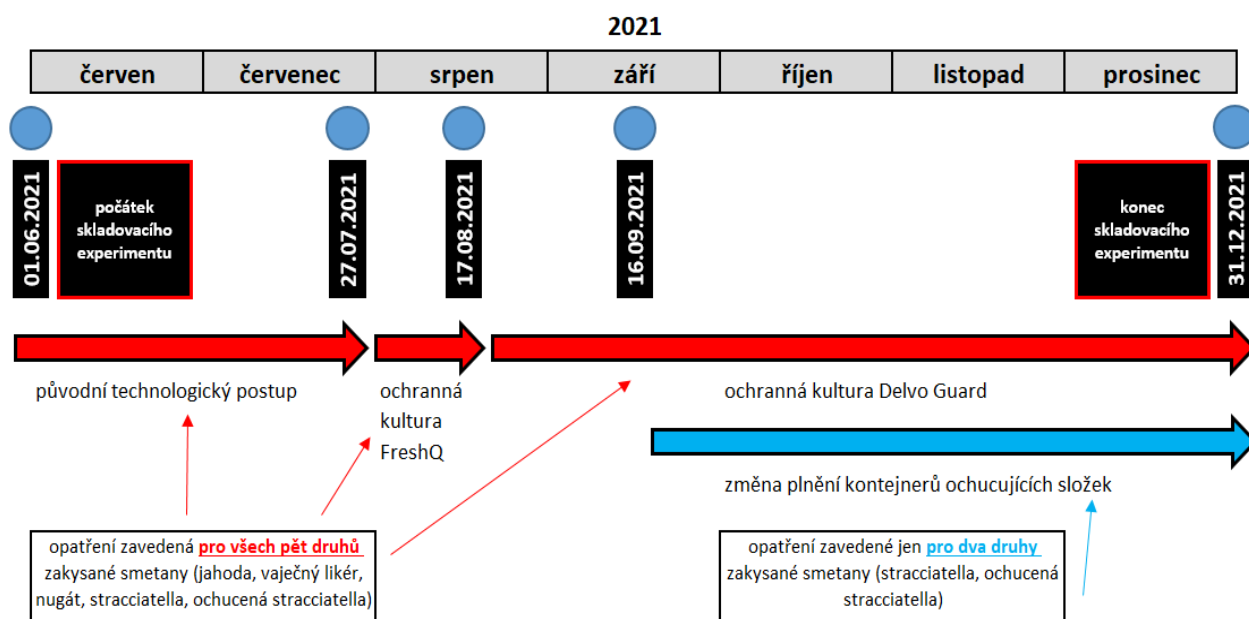
Mlékárna delší dobu čelí kvalitativním potížím spojeným s mikrobiální kontaminací departážních vzorků vybraného typu zakysané ochucené smetany. Zakysaná smetana je vyráběna v pěti různých příchutích – jahoda, vaječný likér, nugát, stracciatella a ochucená stracciatella – přičemž u druhu stracciatella a ochucená stracciatella je dlouhodobě evidován výskyt mikrobiální kontaminace departážních vzorků. Departážní vzorky druhu jahoda, vaječný likér a nugát nevykazují zásadní kvalitativní potíže. Zvýšený výskyt mikrobiální kontaminace je zjištěn u vzorků z teplotních zátěžových testů analyzovaných po sedmi dnech. Všechny druhy zakysané smetany jsou vyráběny ze stejné základní surovinové skladby, mění se pouze ochucující složka, která je dodávána v ocelových kontejnerech.

Oddělení kvality mlékárny se domnívá, že zdrojem kontaminace jsou ochucující složky stracciatella a ochucená stracciatella, jež obsahují kousky čokolády a domněle s sebou nesou mikrobiální spory jako kontaminant. Za účelem zvýšení mikrobiologické kvality výrobku byla v mlékárně ve sledovaném období odběru vzorků implementována různá technologická opatření.

První opatření bylo přijato v průběhu měsíce července a představuje implementaci ochranné kultury FreshQ (výrobce Chr.Hansen). Její použití bylo následně ukončeno a kultura byla nahrazena v průběhu měsíce srpna ochrannou kulturou Delvo Guard (výrobce DSM Food Specialties BV). Dalším technologickým opatřením je pak změna plnění kontejnerů s ochucujícími složkami stracciatella a ochucená stracciatella. Standardně mlékárna odebírá ochucující složky pro zakysanou smetanu v ocelových kontejnerech s kapacitou 1 000 kg (pro druhy s vyšší spotřebou ochucující složky a rychlejším zpracováním kontejnerů) a 500 kg (pro druhy s nižší spotřebou ochucující složky a pomalejším zpracováním kontejnerů). V rámci opatření bylo změněno plnění kontejnerů ochucující složky stracciatella a ochucená stracciatella ze standardních 500 kg na 300 kg, a

to za účelem snížení počtu napojení kontejnerů ve výrobě a snížení rizika mikrobiální kontaminace. K implementaci tohoto opatření došlo v průběhu měsíce září a opatření probíhalo souběžně v kombinaci s druhým opatřením (aplikací ochranné kultury Delvo Guard od výrobce DSM Food Specialties BV). Pro přehlednost a snazší pochopení problematiky byl přehled technologických opatření zpracován do podoby grafického schématu vyobrazeného na Obrázku 11.

Obrázek 11 – Grafické schéma implementace jednotlivých technologických opatření v mlékárně pro zvýšení kvality zakysané ochucené smetany



5.1 Sledování vybraných parametrů základní suroviny pro výrobu zakysané ochucené smetany

Oproti jiným výrobkům mlékárny má zakysaná ochucená smetana jednoduchou recepturu. Pro výrobu zakysané ochucené smetany se používá pasterované kravské mléko, pasterovaná smetana, čisté mlékařské kultury a ochucující složky.

V rámci diplomové práce byla hodnocena mikrobiologická kvalita syrového mléka před pasterací a dále pasterovaného mléka a pasterované smetany jako základních surovin pro výrobu zakysané smetany. V rámci mikrobiologické kontroly byl u syrového mléka, pasterovaného mléka a pasterované smetany stanovován počet koliformních bakterií a celkový počet mikroorganismů (CPM). Pro jednotlivé tekuté vzorky a mikrobiologická stanovení jsou využívána různá ředění, která jsou popsána v Tabulce 6.

Tabulka 6 – Ředění vzorků

Druh vzorku	Stanovení CPM	Stanovení koliformních bakterií
syrové mléko	3. ředění	2. ředění
pasterované mléko	2. ředění	0. ředění
pasterovaná smetana	1. ředění	0. ředění

Pro stanovení počtu koliformních bakterií byla použita živná půda s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a laktózou (VČŽL) a byla použita metoda roztěru s 0,1 ml vzorku. Při stanovení počtu koliformních bakterií byly Petriho misky inkubovány v termostatu při teplotě 37 °C. Po 24 ± 3 hodiny se vytvářejí kolonie o průměru 0,5 až 2,0 mm jasně růžové barvy. Za 48 ± 3 hodiny dosahují kolonie průměru 1,0 až 3,0 mm.

Pro stanovení CPM byla použita živná půda s glukózou, tryptonem a kvasničným extraktem (dále jen „GTK“) a byla použita metoda roztěru s 0,1 ml vzorku. Při stanovení CPM byly Petriho misky inkubovány v termostatu při teplotě 30 °C po dobu 72 ± 3 hodiny.

U syrového mléka je maximální počet koliformních bakterií stanoven na 50 000 a maximální CPM na 300 000. U pasterovaného mléka a pasterované smetany je přítomnost koliformních bakterií naprosto vyloučena a maximální CPM je stanoven na 50 000.

5.2 Sledování vybraných parametrů ochucujících složek

Každá ochucující složka má své charakteristické vlastnosti, jež jsou popsány v Tabulce 7.

Tabulka 7 – Vybrané charakteristiky ochucujících složek pro výrobu zakysané smetany

Druh ochucující složky	Aplikace do spotřebitelského balení	pH	Obsah sacharózy (%)	Rf (° Brix)
Jahoda	Podložená	3,3 – 3,9	44,5	60,0 – 64,0
Vaječný likér	Podložená	5,6 – 6,2	50,4	60,0 – 64,0
Nugát	Podložená	6,1 – 6,7	52,0	60,0 – 64,0
Ochucená stracciatella	Míchaná	2,7 – 3,3	55,5	64,0 – 68,0
Stracciatella	Míchaná	2,7 – 3,3	48,0	62,0 – 66,0

U vzorků druhu stracciatella a ochucená stracciatella bylo v rámci sledování jejich mikrobiologické kvality provedeno zvláštní šetření týkající se napojování kontejnerů ochucujících složek v celém sledovaném období. V rámci šetření byl nejprve prověřen počet napojení jednotlivých kontejnerů. Z obecného hlediska je optimální pouze jediné napojení kontejneru. Ne vždy je ovšem jediné napojení technologicky možné s ohledem na výkyvy ve spotřebě daných zakysaných mléčných výrobků. Na základě empirických zjištění zavedla mlékárna v rámci své činnosti mikrobiologickou kontrolu kontejnerů ochucujících složek, které byly při výrobním procesu napojeny třikrát a více, jelikož právě tyto kontejnery mohou být zdrojem mikrobiální kontaminace.

U vzorků ochucující složky ochucená stracciatella z kontejnerů třikrát a vícekrát napojených byl sledován počet narostlých kolonií plísní a kvasinek, přičemž je požadována jejich nepřítomnost. Pro stanovení plísní a kvasinek u vzorků ochucující složky byla použita živná půda s kvasničným extraktem, glukózou a chloramfenikolem (dále jen „GKCH“) a byla použita metoda roztěru s 0,1 ml vzorku s nultým ředěním. Při stanovení byly Petriho misky inkubovány v termostatu při teplotě 24 °C po dobu pěti až sedmi dní.

Výsledky analýzy počtu napojení kontejnerů ochucující složky stracciatella jsou uvedeny v Tabulkách 17, 22, 27 a 29, ochucující složky ochucená stracciatella 16, 21, 26, 28.

Dále byl u ochucující složky stracciatella a ochucená stracciatella v rámci sledovaného období prověřen také počet dní do expirace data spotřeby kontejneru, a to v den prvního napojení kontejneru ochucující složky. Ochucující složka ochucená stracciatella je do mlékárny dodávána běžně s expirací cca 30 až 50 dní, ochucující složka stracciatella s expirací cca 50 dní. Výsledky analýzy počtu dní zbývajících do expirace data spotřeby při prvním napojení kontejnerů ochucující složky stracciatella jsou uvedeny v Tabulkách 17, 22, 27 a 29, ochucující složky ochucená stracciatella 16, 21, 26 a 28.

5.3 Výroba vzorků zakysané ochucené smetany

Vzorky zakysané ochucené smetany byly vyráběny v týdenním intervalu v období od 03.06. do 30.12.2021. Vzorky byly vyráběny v ochucení vaječný likér, jahoda, nugát stracciatella a ochucená stracciatella, z převážné většiny v tomto výrobním pořadí v rámci výrobního cyklu.

Pro výrobu vzorků byla použita následující receptura:

- pasterované odstředěné mléko
- pasterovaná smetana
- 18 % ochucující složka vaječný likér, jahoda, nugát, stracciatella nebo ochucená stracciatella (český výrobce ochucujících složek pro potravinářské účely)
- smetanová kultura
- v rámci technologického opatření doplňující ochranná kultura FreshQ (výrobce Chr.Hansen) a následně Delvo Guard (výrobce DSM Food Specialties BV)

5.4 Odběr departážních vzorků finálních výrobků pro skladovací experiment

Pro každé plnicí zařízení má mlékárna zavedený konkrétní, charakteristický postup odběru departážních vzorků finálních výrobků. Pro výrobu vzorků bylo použito plnicí zařízení instalované v rámci dotačního titulu popsaného v kapitole 3.6. Plnicí zařízení je vybaveno šesti dávkovači.

- Na úplném začátku každé týdenní výroby, tedy z první palety první vyráběné příchutě byl odebrán vzorek zakysané smetany z každého dávkovače, celkem tedy šest kusů. Tyto vzorky byly určeny pro teplotní zátěžový test v teplé místnosti s vyhodnocením po čtyřech a sedmi dnech. Ze stejné palety byl odebrán ještě jeden vzorek libovolného dávkovače určený pro analýzu na konci data spotřeby.
- Pro vzorky z každé další vyrobené palety platí pravidlo, že vzorky odebrané z každé sudé palety jsou analyzovány po čtyřech dnech v teplé místnosti, a vzorky odebrané z každé liché palety jsou analyzovány po sedmi dnech v teplé místnosti.
- Z první palety každé další vyrobené příchutě byl odebrán jeden vzorek z libovolného dávkovače pro teplotní zátěžový test v teplé místnosti s vyhodnocením po sedmi dnech a jeden vzorek z libovolného dávkovače pro analýzu na konci data spotřeby.
- Z každé další vyrobené palety každé příchutě byl odebrán jeden vzorek z libovolného dávkovače pro teplotní zátěžový test v teplé místnosti s vyhodnocením po čtyřech nebo sedmi dnech a jeden vzorek z libovolného dávkovače pro analýzu na konci data spotřeby.

5.5 Založení skladovacího experimentu

Sledování kvality departážních vzorků patří mezi základní mechanismy řízení bezpečnosti a kvality mléčných výrobků vyráběných v mlékárně. Mlékárna u departážních vzorků sleduje více parametrů, pro účely diplomové práce je níže shrnut postup posuzování mikrobiologické kvality departážních vzorků.

Mlékárna uchovává departážní vzorky ve dvou teplotních režimech. Jedna část vzorků je skladována v tzv. teplé místnosti, kde jsou vzorky vystaveny teplotní zátěžové zkoušce při teplotě 28 až 30 °C a skladovány po dobu čtyř a sedmi dnů. Druhá část vzorků je skladována v laboratorní chladírně při chladírenských teplotách 2 až 8 °C, a to do konce data spotřeby.

Ve stejných teplotních režimech byly uchovávány i veškeré vzorky odebírané pro účely diplomové práce. Vzorky z teplé místnosti byly po čtyřech a po sedmi dnech vizuálně vyhodnocovány na přítomnost, resp. zjevnou mikrobiální aktivitu plísní a kvasinek. Vzorky z laboratorní chladírny byly na konci data spotřeby vizuálně vyhodnocovány na zjevnou mikrobiální aktivitu plísní a kvasinek.

V Tabulce 8 je shrnuto, kolik bylo během různých technologických opatření vyrobeno palet a kusů jednotlivých druhů zakysané smetany jako finálního výrobku, a kolik vzorků každého druhu v rámci každého technologického opatření bylo analyzováno po čtyřech a po sedmi dnech, a kolik vzorků na konci spotřeby. Pro přehlednost je vhodné uvést, že jedna paleta finálního výrobku zakysané smetany představuje 2 080 kusů.

Tabulka 8 – Přehled počtu vyrobených palet a kusů finálního výrobku a počtu analyzovaných vzorků za účinnosti jednotlivých technologických opatření

			po 4 dnech při 28 až 30 °C	po 7 dnech při 28 až 30 °C	na konci spotřeby při 2 až 8 °C
	počet vyrobených palet výrobku	počet vyrobených kusů výrobku	celkový počet analyzovaných vzorků	celkový počet analyzovaných vzorků	celkový počet analyzovaných vzorků
↓ původní technologický postup od 01.06. do 26.07.2021					
jahoda	185	384 800	89	144	230
vaječný likér	111	230 880	52	121	163
nugát	53	110 240	22	52	74
stracciatella	51	106 080	21	59	80
och.stracciatella	92	191 360	41	98	139
↓ implementace ochranné kultury FreshQ od 27.07.2021					
jahoda	64	133 120	31	44	75
vaječný likér	30	62 400	15	27	42
nugát	10	20 800	4	14	19
stracciatella	14	29 120	6	14	20
och.stracciatella	25	52 000	12	23	35
↓ implementace ochranné kultury Delvo Guard od 17.08.2021					
jahoda	94	195 520	42	72	112
vaječný likér	62	128 960	29	61	91
nugát	26	54 080	12	29	43
stracciatella	28	58 240	13	34	43
och.stracciatella	49	101 920	22	49	73
↓ implementace ochr. kultury Delvo Guard a změna plnění kontejnerů ochucujících složek od 16.09.2021					
jahoda	361	750 880	172	278	448
vaječný likér	234	486 720	108	275	328
nugát	147	305 760	67	175	226
stracciatella	148	307 840	64	173	213
och.stracciatella	170	353 600	75	212	281

V Tabulce 9 je pak k dispozici shrnutí údajů z Tabulky 8, a to za celé sledované období 01.06. do 31.12.2021, bez rozlišení účinnosti jednotlivých technologických opatření.

Tabulka 9 – Přehled celkového počtu vyrobených palet a kusů finálního výrobku a počtu analyzovaných vzorků za celé sledované období od 01.06. do 31.12.2021

			po 4 dnech při 28 až 30 °C	po 7 dnech při 28 až 30 °C	na konci spotřeby při 2 až 8 °C	všechny testy
	počet vyrobených palet výrobku	počet vyrobených kusů výrobku	celkový počet analyzovaných vzorků	celkový počet analyzovaných vzorků	celkový počet analyzovaných vzorků	celkový počet analyzovaných vzorků
jahoda	704	1 464 320	334	538	865	1 737
vaječný likér	437	908 960	204	484	624	1 312
nugát	236	490 880	105	270	362	737
stracciatella	241	501 280	104	280	356	740
och.stracciatella	336	698 880	150	382	528	1 060

Pro mlékárnu jsou nejzásadnější výsledky analýzy vzorků analyzovaných po čtyřech dnech v teplé místnosti. V případě zjištění bombáže či plísňové kontaminace u vzorků analyzovaných po čtyřech dnech v teplé místnosti je v mlékárně postupováno dle přísného pracovního postupu. Základním krokem je pozastavit veškeré finální výrobky postižené šarže v expediční chladírně. Poté jsou provedeny návazné mikrobiologické analýzy použité ochucující složky, stejně tak jako finálního výrobku. Pouze v případě vyhovujících mikrobiologických výsledků může být zboží uvolněno pro prodej.

V případě zjištění bombáže či plísňové kontaminace u vzorků analyzovaných po čtyřech dnech v teplé místnosti je nejprve posouzen rozsah kontaminace v závislosti na počtu kontaminovaných vzorků. Na základě posouzení konkrétní situace pak vedoucí oddělení kvality rozhodne buď o uvolnění, nebo pozastavení zboží.

Teplotní zátěžové testy slouží především pro zachycení případné mikrobiální kontaminace v okamžiku, kdy se vyrobené zboží nachází ještě v chladírně v areálu mlékárny a neexistuje tak riziko rozšíření neshodného zboží na trh mezi konečné spotřebitele.

Naopak departážní vzorky uchovávané v laboratorní chladírně při 2 až 8 °C slouží k posouzení mikrobiologické kvality na konci data spotřeby výrobku, tedy v okamžiku, kdy se očekává, že veškeré zboží z trhu bylo konečnými spotřebiteli již zkonsumováno. V případě zjištění bombáže či plísňové kontaminace u vzorků analyzovaných na konci spotřeby je dle rozsahu kontaminace věnována zvýšená pozornost případným zákaznickým reklamám.

6 VYHODNOCENÍ A POROVNÁNÍ SLEDOVANÝCH PARAMETRŮ VZORKŮ

6.1 Výsledky analýzy vybraných parametrů základní suroviny pro výrobu zakysané ochucené smetany

V Tabulce 10 je zaznamenána mikrobiologická kontrola kvality syrového mléka před pasterací a dále pasterovaného mléka a pasterované smetany jako základní suroviny pro výrobu zakysané smetany. Pro účely diplomové práce bylo vybráno sledované období červen až prosinec 2021.

Tabulka 10 - Mikrobiologická kontrola kvality syrového mléka před pasterací, pasterovaného mléka a pasterované smetany

datum kontroly	syrové mléko před pasterem		pasterované mléko (výstup z pasteru)			pasterovaná smetana (výstup z pasteru)	
	kol. bakt. max. 50 000	CPM max. 300 000	kol. bakt. 0	CPM max. 50 000	účinnost pasterace min 98%	kol. bakt. 0	CPM max. 50 000
03.06.2021	-	-	0	400	-	-	-
04.06.2021	15 200	248 000	0	900	99,64	0	10
08.06.2021	-	-	0	1 100	-	-	-
09.06.2021	-	-	0	900	-	0	20
15.06.2021	-	-	0	400	-	0	30
16.06.2021	-	-	0	800	-	0	30
23.06.2021	-	-	0	900	-	-	-
24.06.2021	3 400	176 000	0	900	99,49	-	-
25.06.2021	-	-	0	600	-	0	20
01.07.2021	-	-	0	600	-	-	-
02.07.2021	21 400	254 000	0	900	99,65	0	10
14.07.2021	-	-	0	500	-	-	-
15.07.2021	16 200	286 000	0	1 400	99,51	0	10
16.07.2021	-	-	0	1 400	-	0	20
20.07.2021	-	-	0	600	-	-	-
21.07.2021	4 200	25 000	0	300	98,80	0	10
27.07.2021	17 600	268 000	0	800	99,70	-	-
28.07.2021	-	-	0	700	-	-	-
29.07.2021	-	-	0	1 100	-	0	20
10.08.2021	-	-	0	700	-	0	20
11.08.2021	-	-	0	500	-	-	-
17.08.2021	-	-	0	200	-	-	-
25.08.2021	-	-	0	900	-	-	-
26.08.2021	-	-	0	800	-	-	-
01.09.2021	-	-	0	500	-	0	20

Tabulka 11 (pokračování) Mikrobiologická kontrola kvality syrového mléka před pasterací, pasterovaného mléka a pasterované smetany

datum kontroly	syrové mléko před pasterem		pasterované mléko (výstup z pasteru)			pasterovaná smetana (výstup z pasteru)	
	kol. bakt. max. 50 000	CPM max. 300 000	kol. bakt. 0	CPM max. 50 000	účinnost pasterace min 98%	kol. bakt. 0	CPM max. 50 000
02.09.2021	-	-	0	700	-	-	-
07.09.2021	12 400	172 000	0	800	99,53	0	20
08.09.2021	-	-	0	100	-	-	-
15.09.2021	-	-	0	500	-	0	10
16.09.2021	10 800	204 000	0	1 100	99,46	-	-
21.09.2021	12 600	212 000	0	400	99,81	-	-
22.09.2021	-	-	0	200	-	0	10
28.09.2021	-	-	0	800	-	0	10
29.09.2021	-	-	0	600	-	-	-
03.10.2021	-	-	-	-	-	-	-
04.10.2021	-	-	0	700	-	0	10
10.10.2021	-	-	-	-	-	-	-
11.10.2021	9 200	184 000	0	500	99,73	0	20
21.10.2021	-	-	0	500	-	0	20
22.10.2021	4 200	106 000	0	100	99,91	0	0
24.10.2021	-	-	-	-	-	-	-
25.10.2021	-	-	0	400	-	-	-
27.10.2021	-	-	0	500	-	-	-
28.10.2021	-	-	-	-	-	-	-
04.11.2021	-	-	0	300	-	0	10
07.11.2021	-	-	-	-	-	-	-
08.11.2021	3 600	122 000	0	400	99,67	-	-
15.11.2021	-	-	0	500	-	-	-
16.11.2021	-	-	0	400	-	0	20
18.11.2021	-	-	0	600	-	-	-
19.11.2021	3 200	108 000	0	600	99,44	-	-
23.11.2021	-	-	0	400	-	-	-
24.11.2021	-	-	0	700	-	0	20
25.11.2021	-	-	0	500	-	-	-
30.11.2021	-	-	0	800	-	-	-
06.12.2021	-	-	0	400	-	-	-
07.12.2021	5 800	152 000	0	400	99,74	-	-
15.12.2021	-	-	0	200	-	-	-
27.12.2021	6 100	128 000	0	500	99,61	0	10
28.12.2021	-	-	0	600	-	-	-
30.12.2021	-	-	-	-	-	-	-
PRŮMĚR	7 544	154 222	0	507	99,66	0	13

Vysvětlivky: „-“ – neposuzováno

Z Tabulky 10 je patrné, že výsledky mikrobiologické analýzy odpovídají nastaveným podmínkám. Počet koliformních bakterií i CPM u jednotlivých vzorků syrového mléka splnil zadané limitní hodnoty. Vzorky pasterovaného mléka a pasterované smetany nevykazují přítomnost koliformních bakterií, CPM byl u všech vzorků pasterovaného mléka a pasterované smetany stanoven pod limitní hodnotou. Na základě uvedených výsledků lze konstatovat, že pasterované mléko a pasterovaná smetana jako základní surovina splňují požadovanou mikrobiologickou kvalitu pro výrobu vzorků zakysané ochucené smetany.

6.2 Výsledky analýzy vybraných parametrů ochucujících složek

Pro výrobu některých vzorků druhu ochucená stracciatella byly použity kontejnery ochucující složky, které byly napojeny třikrát a případně vícekrát. Z mikrobiologických důvodů byly z kontejnerů odebrány vzorky ochucující složky a analyzovány na přítomnost plísní a kvasinek. Výsledky analýzy jsou uvedeny v Tabulce 11. Ani u jednoho vzorku z kontejneru nebyl zjištěn nárůst plísní a kvasinek. Kontejnery by tedy neměly představovat mikrobiální riziko pro výrobní proces zakysané ochucené smetany.

Tabulka 11 – Mikrobiologická analýza vzorků ochucující složky ochucená stracciatella odebraných z kontejnerů třikrát napojených

číslo kontejneru	počet napojení kontejneru	datum odběru/výroby	plísně a kvasinky (max. 0)
3556	3	01.07.2021	0
4326	3	04.11.2021	0
4580	3	30.11.2021	0

6.3 Výsledky analýzy vybraných parametrů departážních vzorků zakysané ochucené smetany

U vyrobených vzorků zakysané ochucené smetany bylo sledováno a analyzováno několik parametrů, které by mohly ovlivňovat kvalitu finálního výrobku. V rámci skladovacího experimentu bylo sledováno období původního výrobního procesu bez zvláštních opatření, období výroby s ochrannou kulturou FreshQ, období výroby s ochrannou kulturou Delvo Guard a období výroby s ochrannou kulturou Delvo Guard a zároveň se změnou plnění kontejnerů ochucujících složek stracciatella a ochucená stracciatella. Vliv různých parametrů na mikrobiologickou kvalitu vzorků zakysané smetany byl sledován u každého druhu samostatně. K tomuto účelu byly pro každý druh sestaveny samostatné tabulky, každá popisující jednu ze tří, resp. čtyř částí celkového sledovaného období (odpovídající danému zavedenému opatření). Pro jahodu se jedná o Tabulku 13, 18 a 23, pro vaječný likér o Tabulku 14, 19 a 24, pro nugát o Tabulku 15, 20 a 25, pro ochucenou stracciatellu o Tabulku 16, 21, 26 a 28 a pro stracciatellu o Tabulku 17, 22, 27 a 29.

Na základě výsledků skladovacího experimentu jednotlivých příchutí byla sestavena sumarizace výsledků testu skladování uvedená v Tabulce 12.

Tabulka 12 - Sumarizace výsledků testu skladování

	počet vyrobených palet	4 dny				7 dní				konec spotřeby			
		vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků
↓ původní technologický postup		od 01.06. do 26.07.2021											
jahoda	185	89	0	89	0,00	142	2	144	1,39	218	12	230	5,22
vaječný likér	111	52	0	52	0,00	121	0	121	0,00	161	2	163	1,23
nugát	53	22	0	22	0,00	52	0	52	0,00	71	3	74	4,05
stracciatella	51	21	0	21	0,00	40	19	59	32,20	74	6	80	7,50
och. stracciatella	92	35	6	41	14,63	70	28	98	28,57	119	20	139	14,39
↓ implementace ochranné kultury FreshQ		od 27.07.2021											
jahoda	64	31	0	31	0,00	44	0	44	0,00	75	0	75	0,00
vaječný likér	30	15	0	15	0,00	27	0	27	0,00	42	0	42	0,00
nugát	10	4	0	4	0,00	14	0	14	0,00	19	0	19	0,00
stracciatella	14	6	0	6	0,00	8	6	14	42,86	18	2	20	10,00
och. stracciatella	25	12	0	12	0,00	17	6	23	26,09	32	3	35	8,57
↓ implementace ochranné kultury Delvo Guard		od 17.08.2021											
jahoda	94	42	0	42	0,00	67	5	72	6,94	112	0	112	0,00
vaječný likér	62	29	0	29	0,00	61	0	61	0,00	91	0	91	0,00
nugát	26	12	0	12	0,00	28	1	29	3,45	43	0	43	0,00
stracciatella	28	11	2	13	15,38	27	7	34	20,59	42	1	43	2,33
och. stracciatella	49	22	0	22	0,00	33	16	49	32,65	71	2	73	2,74
↓ implementace ochranné kultury Delvo Guard a změna plnění kontejnerů ochucujících složek		od 16.09.2021											
jahoda	361	172	0	172	0,00	278	0	278	0,00	448	0	448	0,00
vaječný likér	234	108	0	108	0,00	275	0	275	0,00	328	0	328	0,00
nugát	147	67	0	67	0,00	175	0	175	0,00	226	0	226	0,00
stracciatella	148	62	2	64	3,13	141	32	173	18,50	207	6	213	2,82
och. stracciatella	170	73	2	75	2,67	181	31	212	14,62	275	6	281	2,14

* U druhu jahoda, vaječný likér a nugát nebylo nutné zavádět opatření změny plnění kontejnerů ochucujících složek, proto výsledky zjištěné v období od 16.09.2021 u těchto tří druhů pocházejí pouze z analýzy vlivu implementace ochranné kultury Delvo Guard.

Co se týče období výroby s původním technologickým postupem, u druhů jahoda, vaječný likér a nugát je dle Tabulky 12 zjevné, že departážní vzorky analyzované po čtyřech dnech v teplé místnosti nevykazují naprosto žádnou mikrobiální kontaminaci. U departážních vzorků analyzovaných po sedmi dnech jahoda vykazuje dva kontaminované kusy. Z Tabulky 13 lze vyčíst, že se jedná o jeden kontaminovaný kus z výroby 16.07.2021 (plíseň) a jeden kontaminovaný kus z výroby 21.07.2021 (plíseň a bombáž), a to z celkových 144 odebraných vzorků. Tyto dva kontaminované kusy lze tedy považovat za náhodné, izolované a mikrobiologicky nevýznamné případy. Na základě výsledků analýzy departážních vzorků po čtyřech a sedmi dnech v teplé místnosti lze usoudit, že druhy jahoda, vaječný likér a nugát obstály teplotní zátěžový test. Podíváme-li se ovšem na výsledky analýzy departážních vzorků na konci data spotřeby po skladování v laboratorní chladárně při 2 až 8 °C v Tabulce 12, všechny tři zmíněné druhy vykazují zvýšený podíl kontaminovaných vzorků. U jahody bylo zjištěno celkem 12 kontaminovaných vzorků z 230 kusů, a to z celkem čtyř na sobě nezávislých výrobních dnů dle Tabulky 13. U nugátu pak byly zjištěny v porovnání s jahodou jen 3 kontaminované vzorky ze 74 kusů (dvě na sobě nezávislé výroby dle Tabulky 15), u vaječného likéru jen 2 kusy ze 163 kusů (jedna výroba dle Tabulky 14). Z uvedených výsledků lze usoudit na mikrobiologický problém relativně minimálního rozsahu u druhů jahoda, vaječný likér a nugát.

Tabulka 13 – Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany JAHODA – OBDOBÍ PŮVODNÍHO TECHNOLOGICKÉHO POSTUPU

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
			vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
03.-04.06.	18	7102, 9020	9	0	9	0,00		13	0	13	0,00		22	0	22	0,00	
04.06.	12	9020	6	0	6	0,00		7	0	7	0,00		13	0	13	0,00	
08.06.	7	7164	3	0	3	0,00		6	0	6	0,00		9	0	9	0,00	
08.06.	7	7164	3	0	0	-		5	0	5	0,00		8	0	8	0,00	
15.-16.06.	10	8519	5	0	5	0,00		5	0	5	0,00		15	0	15	0,00	
16.06.	20	8519, 9490	10	0	10	0,00		15	0	15	0,00		23	2	25	8,00	P
23.-24.06.	21	9490, 9804	10	0	10	0,00		15	0	15	0,00		24	1	25	4,00	P
25.06.	10	8677	5	0	5	0,00		8	0	8	0,00		12	1	13	7,69	K
01.-02.06.	24	8677, 8588	12	0	12	0,00		26	0	26	0,00		30	0	30	0,00	
02.07.	13	7215	5	0	5	0,00		9	0	9	0,00		14	0	14	0,00	
14.07.	10	8450	5	0	5	0,00		6	0	6	0,00		11	0	11	0,00	
16.07.	20	8630, 8199	10	0	10	0,00		14	1	15	6,67	P	17	8	25	32,00	P, K
16.07.	1	8199	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
21.07.	12	8112, 9231	6	0	6	0,00		11	1	12	8,33	P, B	18	0	18	0,00	
CELKEM	185		89	0	89	0,00		142	2	144	1,39		218	12	230	5,22	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B – bombáž, Z - zápach

Tabulka 14 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany VAJEČNÝ LIKÉR – OBDOBÍ PŮVODNÍHO TECHNOLOGICKÉHO POSTUPU

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
			vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
03.06.	8	3337	4	0	4	0,00		5	0	5	0,00		9	0	9	0,00	
03.06.	6	3337, 3201	3	0	3	0,00		7	0	7	0,00		10	0	10	0,00	
08.06.	4	3201	2	0	2	0,00		8	0	8	0,00		6	0	6	0,00	
08.06.	3	3201	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
15.-16.06.	16	4125, 3955	8	0	8	0,00		14	0	14	0,00		22	0	22	0,00	
23.06.	16	3955, 4168, 4824	8	0	8	0,00		24	0	24	0,00		23	2	25	8,00	P
01.07.	20	4824, 8216, 9043	9	0	9	0,00		17	0	17	0,00		26	0	26	0,00	
01.07.	9	9043, 7200	4	0	4	0,00		10	0	10	0,00		14	0	14	0,00	
14.07.	7	7200, 9214	3	0	3	0,00		10	0	10	0,00		13	0	13	0,00	
15.-16.07.	10	9214, 9574	4	0	4	0,00		11	0	11	0,00		16	0	16	0,00	
21.07.	12	9574, 9779	6	0	6	0,00		12	0	12	0,00		18	0	18	0,00	
CELKEM	111		52	0	52	0,00		121	0	121	0,00		161	2	163	1,23	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B – bombáž, Z - zápach

Tabulka 15 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany NUGÁT – OBDOBÍ PŮVODNÍHO TECHNOLOGICKÉHO POSTUPU

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
			vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
03.06.	2	7210	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
04.06.	4	7210	2	0	2	0,00		2	0	2	0,00		4	0	4	0,00	
09.06.	1	9732	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
09.06.	2	9732	0	0	0	-		4	0	4	0,00		4	0	4	0,00	
16.06.	6	9732	3	0	3	0,00		6	0	6	0,00		9	0	9	0,00	
24.06.	10	9984	5	0	5	0,00		8	0	8	0,00		11	2	13	15,38	K
01.07.	6	4188	3	0	3	0,00		5	0	5	0,00		8	0	8	0,00	
01.07.	3	4188	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
14.07.	4	2429	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
14.07.	1	2429	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
21.07.	1	2429	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
21.07.	1	2429	0	0	0	-		2	0	2	0,00		1	1	2	50,00	K
21.07.	12	2429, 4353	6	0	6	0,00		10	0	10	0,00	B	16	0	16	0,00	
CELKEM	53		22	0	22	0,00		52	0	52	0,00		71	3	74	4,05	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Ve stejném období výroby s původním technologickým postupem byly taktéž analyzovány departážní vzorky druhu stracciatella a ochucená stracciatella. Ze souhrnné Tabulky 12 je zjevné, že departážní vzorky obou druhů vykazují rozsáhlejší mikrobiologickou kontaminaci, která se objevuje u vzorků po čtyřech a sedmi dnech, ale i na konci data spotřeby. Po čtyřech dnech se u ochucené stracciatelly objevilo přibližně 15 % mikrobiologicky kontaminovaných vzorků, po sedmi dnech se u obou druhů objevilo až přibližně 30 % mikrobiologicky kontaminovaných vzorků, a na konci data spotřeby se u stracciatelly objevilo cca 7 % mikrobiologicky kontaminovaných vzorků a u ochucené stracciatelly cca 14 % mikrobiologicky kontaminovaných vzorků. Tyto výsledky z námi

sledovaného období od 01.06. do 26.07.2021 v podstatě odpovídají výsledkům analogické analýzy mlékárny celé první poloviny roku 2021. Mlékárna si je vědoma mikrobiologického problému u departážních vzorků zakysané smetany, proto oddělení kvality rozhodlo o zavedení opatření pro eliminaci problému.

Tabulka 16 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany OCHUCENÁ STRACCIATELLA – OBDOBÍ PŮVODNÍHO TECHNOLOGICKÉHO POSTUPU

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	počet napojení kontejnerů	počet dnů do konce DS při 1. napojení	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
					vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
04.06.	5	1340	2	41	2	0	2	0,00		5	0	5	0,00		6	0	6	0,00	
04.06.	9	1340,1088	1, 2	41, 41	3	0	3	0,00		9	0	9	0,00		12	0	12	0,00	
09.06.	4	1088	2	41	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
09.06.	7	1088, 4097	2, 2	41, 9	3	0	3	0,00		8	0	8	0,00		11	0	11	0,00	
16.06.	17	4097, 3120, 4582	2, 1, 2	9, 29, 2	8	0	8	0,00		17	0	17	0,00		25	0	25	0,00	
16.06.	2	4582	2	2	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
24.06.	13	4582, 1215	2, 1	2, 47	4	3	7	42,86	P	6	6	12	50,00	P	20	0	20	0,00	
25.06.	1	3556	3	21	0	0	0	-		4	0	4	0,00		4	0	4	0,00	
01.-02.07.	16	3556, 1899	3, 1	21, 39	8	0	8	0,00		6	7	13	53,85	P	15	6	21	28,57	P
02.07.	7	1899, 1293	1, 2	39, 39	1	2	3	66,67	P	1	5	6	83,33	P	2	7	9	77,78	P
02.07.	2	1293	2	39	1	0	1	0,00		1	2	3	66,67	P	2	1	3	33,33	P
14.-15.07.	4	1293, 1950	2, 2	39, 26	2	0	2	0,00		4	4	8	50,00	P	6	5	11	45,45	P
21.07.	4	1950	2	26	0	1	1	100,00	P	2	3	5	60,00	P	5	1	6	16,67	P
21.07.	1	1950	2	26	0	0	0	-		1	1	2	50,00	B, P	2	0	2	0,00	
CELKEM	92				35	6	41	14,63		70	28	98	28,57		119	20	139	14,39	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Tabulka 17 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany STRACCIATELLA – OBDOBÍ PŮVODNÍHO TECHNOLOGICKÉHO POSTUPU

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	počet napojení kontejnerů	počet dnů do konce DS při 1. napojení	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
					vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
04.06.	5	4065	2	27	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
04.06.	3	4065	2	27	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
16.06.	1	4065	2	27	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
16.06.	5	4065, 4903	2, 2	27, 15	2	0	2	0,00		8	0	8	0,00		10	0	10	0,00	
24.06.	11	4903, 3472	2, 2	15, 27	6	0	6	0,00		9	2	11	18,18	P	15	3	18	16,67	P
01.07.	6	3472, 1192	2, 1	27, 35	2	0	2	0,00		2	6	8	75,00	P	8	2	10	20,00	P
01.07.	4	1192	1	35	1	0	1	0,00		1	4	5	80,00	P	6	0	6	0,00	
14.07.	2	7173	2	15	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
14.07.	1	7173	2	15	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
20.-21.07.	12	7137, 1258	2, 1	15, 15	6	0	6	0,00		7	5	12	41,67	P,Z	16	1	17	5,88	P
21.07.	1	1258	1	15	0	0	0	-		0	2	2	100,00	P	2	0	2	0,00	
CELKEM	51				21	0	21	0,00		40	19	59	32,20		74	6	80	7,50	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Prvním technologickým opatřením za účelem zvýšení mikrobiologické kvality zakysané smetany byla implementace ochranné kultury. Jako první byla implementována ochranná kultura FreshQ od společnosti Chr.Hansen. Tato kultura byla použita v rámci dvou výrob (ve dnech 27.–29.07.2021 a 10.–11.08.2021). Mechanismus inhibice fungálního růstu ochranné kultury FreshQ je založen na kompetici mikroorganismů o mangan. Studie z roku 2020 prokázala schopnost tamější testované ochranné kultury inhibovat růst různých kmenů kvasinek a plísní na základě mechanismu kompetičního vyloučení. (Siedler a kol., 2020) Analogický úspěch nelze v plném rozsahu, tedy u všech druhů přisoudit výzkumu v rámci této diplomové práce, nicméně dle Tabulky 18, 19 a 20 u druhu jahoda, vaječný likér a nugát nebyly ve sledovaném období použití ochranné kultury FreshQ zjištěny žádné departážní vzorky s mikrobiologickou kontaminací. Naopak u druhu stracciatella a ochucená

stracciatella byla dle Tabulky 21 a 22 u departážních vzorků zjištěna mikrobiální kontaminace po čtyřech a sedmi dnech v teplé místnosti i na konci data spotřeby. Vzhledem k tomu, že byla ochranná kultura FreshQ použita jen pro dvě výroby, nelze se 100% jistotou potvrdit, zda u druhu jahoda, vaječný likér a nugát došlo k eliminaci mikrobiální kontaminace na základě vlivu ochranné kultury či jiných okolností. Naopak u druhu stracciatella a ochucená stracciatella lze pozorovat přetrvávající problém s mikrobiální kontaminací.

Tabulka 18 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany JAHODA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY FreshQ

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
			vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
27.07.	1	8055	1	0	1	0,00		1	0	1	0,00		2	0	2	0,00	
27.-28.07.	33	8055, 7110	16	0	16	0,00		21	0	21	0,00		37	0	37	0,00	
28.07.	16	7110, 8458	8	0	8	0,00		11	0	11	0,00		19	0	19	0,00	
10.-11.08.	9	3692	4	0	4	0,00		7	0	7	0,00		11	0	11	0,00	
11.08.	5	3692	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
CELKEM	64		31	0	31	0,00		44	0	44	0,00		75	0	75	0,00	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B – bombáž, Z - zápach

Tabulka 19 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany VAJEČNÝ LIKÉR – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY FreshQ

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
			vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
27.07.	18	3919, 1770	9	0	9	0,00		14	0	14	0,00		23	0	23	0,00	
27.07.	7	1770, 3642	4	0	4	0,00		7	0	7	0,00		11	0	11	0,00	
10.08.	1	3642	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
10.08.	4	3642	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
CELKEM	30		15	0	15	0,00		27	0	27	0,00		42	0	42	0,00	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B – bombáž, Z – zápach

Tabulka 20 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany NUGÁT – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY FreshQ

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
			vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
28.07.	3	4353, 4463	1	0	1	0,00		6	0	6	0,00		7	0	7	0,00	
28.07.	2	4463	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
11.08.	3	4463	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		5	0	5	0,00	
11.08.	2	4463	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
CELKEM	10		4	0	4	0,00		14	0	14	0,00		19	0	19	0,00	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Tabulka 21 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany OCHUCENÁ STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY FreshQ

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	počet napojení kontejnerů		počet dnů do konce DS při 1. napojení		4 dny				7 dní				konec spotřeby				
							vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků
29.07.	15	1999, 2481	1, 1	12, 12	7	0	7	0,00		9	4	13	30,77	P	18	2	20	10,00	P
29.07.	5	2481, 1039	1, 3	12, 34	3	0	3	0,00		4	0	4	0,00		6	1	7	14,29	P
11.08.	1	1039	3	34	0	0	0	-		1	1	2	50,00	P	2	0	2	0,00	
11.08.	4	1039	3	34	2	0	2	0,00		3	1	4	25,00	P	6	0	6	0,00	
CELKEM	25				12	0	12	0,00		17	6	23	26,09		32	3	35	8,57	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Tabulka 22 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY FreshQ

Denní laboratorní list - teplotní zátěžové testy

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	počet napojení kontejnerů		počet dnů do konce DS při 1. napojení		4 dny				7 dní				konec spotřeby				
							vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků
29.07.	5	1158	1	15	3	0	3	0,00		0	4	4	100,00	P	5	2	7	28,57	P
29.07.	3	1158	1	15	1	0	1	0,00		2	1	3	33,33	P	4	0	4	0,00	
11.08.	3	1232	2	23	1	0	1	0,00		4	0	4	0,00		5	0	5	0,00	
11.08.	3	1232	2	23	1	0	1	0,00		2	1	3	33,33	P	4	0	4	0,00	
CELKEM	14				6	0	6	0,00		8	6	14	42,86		18	2	20	10,00	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Po uvedených dvou výroбах s použitím ochranné kultury FreshQ byla tato ochranná kultura nahrazena ochrannou kulturou Delvo Guard společnosti DSM Food Specialties BV. Inhibiční mechanismus této kultury je popsán v kapitole 3.3 a je zde konkrétně popsán jako synergické působení produkce antimikrobních metabolitů a kompetice mikroorganismů o prostor a živiny. Dle Tabulky 23 lze vidět, že u druhu jahoda nebyla v období použití ochranné kultury Delvo Guard (17.08. až 31.12.2021) zjištěna žádná závažná mikrobiální kontaminace departážních vzorků. Ve sledovaném období bylo odebráno a analyzováno celkem 1.274 vzorků, přičemž pouze u pěti vzorků po sedmi dnech v teplé místnosti a ze dvou na sobě nezávislých výrob byla zjištěna mikrobiální kontaminace. Jedná se tedy o podíl pouhých 0,4 %. Na základě uvedených výsledků lze konstatovat, že použití ochranné kultury Delvo Guard mělo u druhu jahoda pozitivní vliv na mikrobiální kvalitu výrobku. Dle Tabulky 24 lze vidět, že u druhu vaječný likér nebyla zjištěna ve sledovaném období použití ochranné kultury Delvo Guard naprosto žádná mikrobiální kontaminace departážních vzorků. Teplotní zátěžový test po čtyřech a sedmi dnech stejně jako test na konci záruky vykazují za sledované období nulový procentuální podíl kontaminovaných departážních vzorků. Stejně jako u jahody lze i u vaječného likéru na základě výsledků sledovaného období konstatovat, že použití ochranné kultury Delvo Guard mělo pozitivní vliv na mikrobiální kvalitu výrobku. Druh nugát vykazuje dle Tabulky 25 v podstatě shodné výsledky skladovacího experimentu jako vaječný likér, pouze jeden vzorek (analýza po sedmi dnech v teplé místnosti) z celkových 588 analyzovaných kusů vykazoval mikrobiální kontaminaci. Taktéž u druhu nugát lze na základě výsledků sledovaného období konstatovat, že použití ochranné kultury Delvo Guard mělo pozitivní vliv na mikrobiální kvalitu výrobku.

Tabulka 23 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany JAHODA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	4 dny				7 dní					konec spotřeby					
			vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
17.08.	8	8498	4	0	4	0,00		6	0	6	0,00		10	0	10	0,00	
17.08.	7	8498	3	0	3	0,00		4	0	4	0,00		8	0	8	0,00	
25.08.	11	8498, 9261	5	0	5	0,00		11	0	11	0,00		16	0	16	0,00	
25.08.	11	9261	5	0	5	0,00		7	0	7	0,00		12	0	12	0,00	
01.09.	31	7145, 8545, 9496	15	0	15	0,00		21	4	25	16,00	P	40	0	40	0,00	
07.-08.09.	26	9496, 9098	10	0	10	0,00		18	1	19	5,26	K	26	0	26	0,00	
16.09.	12	9056, 8264	6	0	6	0,00		12	0	12	0,00		17	0	17	0,00	
22.09.	17	8264, 9297	9	0	9	0,00		13	0	13	0,00		21	0	21	0,00	
22.09.	9	9297	4	0	4	0,00		6	0	6	0,00		10	0	10	0,00	
22.09.	12	9297, 9742	6	0	6	0,00		10	0	10	0,00		16	0	16	0,00	
28.09.	1	9750	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
28.09.	14	9750	7	0	7	0,00		8	0	8	0,00		15	0	15	0,00	
29.09.	10	9853	5	0	5	0,00		7	0	7	0,00		12	0	12	0,00	
04.10.	5	9853	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
04.10.	17	9853, 9345	7	0	7	0,00		14	0	14	0,00		21	0	21	0,00	
11.10.	18	9345, 9810	9	0	9	0,00		13	0	13	0,00		22	0	22	0,00	
11.10.	10	9810	5	0	5	0,00		7	0	7	0,00		12	0	12	0,00	
22.10.	3	7018	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
22.10.	22	7018, 9918	11	0	11	0,00		16	0	16	0,00		27	0	27	0,00	
25.10.	13	9918, 8675	7	0	7	0,00		12	0	12	0,00		19	0	19	0,00	
27.-28.10.	5	8675	2	0	2	0,00		5	0	5	0,00		7	0	7	0,00	
28.10.	7	8675	3	0	3	0,00		5	0	5	0,00		8	0	8	0,00	

Tabulka 23 (pokračování) Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany JAHODA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
			vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
04.11.	1	8014	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
04.11.	18	8014	9	0	9	0,00		11	0	11	0,00		20	0	20	0,00	
08.11.	15	7013, 1175	7	0	7	0,00		10	0	10	0,00		17	0	17	0,00	
08.11.	13	7013, 7062	6	0	6	0,00		11	0	11	0,00		17	0	17	0,00	
15.11.	19	7062, 8458	9	0	9	0,00		15	0	15	0,00		24	0	24	0,00	
15.11.	8	8458	4	0	4	0,00		5	0	5	0,00		9	0	9	0,00	
18.11.	5	8427	2	0	2	0,00		5	0	5	0,00		7	0	7	0,00	
18.11.	15	8427, 7073	7	0	7	0,00		11	0	11	0,00		18	0	18	0,00	
24.11.	2	7114	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
24.11.	23	7114, 8599	11	0	11	0,00		16	0	16	0,00		27	0	27	0,00	
24.11.	2	8599	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
30.11.	6	8599, 7048	3	0	3	0,00		6	0	6	0,00		9	0	9	0,00	
30.11.	9	7048	4	0	4	0,00		7	0	7	0,00		11	0	11	0,00	
07.12.	10	8046	5	0	5	0,00		7	0	7	0,00		12	0	12	0,00	
07.12.	8	8046	4	0	4	0,00		5	0	5	0,00		9	0	9	0,00	
15.12.	1	8162	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
15.12.	12	8162, 8251	6	0	6	0,00		9	0	9	0,00		15	0	15	0,00	
27.12.	6	8252	3	0	3	0,00		5	0	5	0,00		8	0	8	0,00	
27.12.	5	8252	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
30.12.	8	9412	4	0	4	0,00		7	0	7	0,00		11	0	11	0,00	
CELKEM	455		214	0	214	0,00		345	5	350	1,43		560	0	560	0,00	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Tabulka 24 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany
VAJEČNÝ LIKÉR – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo
Guard

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
			vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
17.08.	2	4924	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
17.08.	4	4924, 1231	2	0	2	0,00		7	0	7	0,00		9	0	9	0,00	
25.08.	8	4231, 1257	3	0	3	0,00		8	0	8	0,00		12	0	12	0,00	
25.08.	11	1257	5	0	5	0,00		8	0	8	0,00		13	0	13	0,00	
01.09.	21	1105, 3694, 3422	10	0	10	0,00		19	0	19	0,00		29	0	29	0,00	
07.09.	16	3422, 4903, 4716	8	0	8	0,00		17	0	17	0,00		25	0	25	0,00	
15.-16.09.	7	4716	4	0	4	0,00		13	0	13	0,00		10	0	10	0,00	
21.09.	8	3595	3	0	3	0,00		13	0	13	0,00		11	0	11	0,00	
21.09.	7	3459	3	0	3	0,00		6	0	6	0,00		9	0	9	0,00	
21.09.	12	3459, 3284	6	0	6	0,00		10	0	10	0,00		16	0	16	0,00	
28.09.	6	3284, 4268	3	0	3	0,00		5	0	5	0,00		8	0	8	0,00	
28.09.	8	4268, 4489	4	0	4	0,00		8	0	8	0,00		12	0	12	0,00	
03.10.	3	4489	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
03.-04.10.	16	4489, 4558	8	0	8	0,00		13	0	13	0,00		21	0	21	0,00	
10.-11.10.	10	1239, 4860	5	0	5	0,00		14	0	14	0,00		14	0	14	0,00	
11.10.	6	4860	3	0	3	0,00		5	0	5	0,00		8	0	8	0,00	
21.10.	2	4860, 1209	1	0	1	0,00		4	0	4	0,00		4	0	4	0,00	
21.10.	16	1209, 1929	8	0	8	0,00		13	0	13	0,00		21	0	21	0,00	
24.-25.10.	10	4263, 4728	5	0	5	0,00		11	0	11	0,00		16	0	16	0,00	
27.10.	5	4728	2	0	2	0,00		5	0	5	0,00		7	0	7	0,00	
27.10.	8	4728, 4819	3	0	3	0,00		8	0	8	0,00		11	0	11	0,00	
07.-08.11.	6	3780	3	0	3	0,00		9	0	9	0,00		7	0	7	0,00	
08.11.	12	3780, 3575	6	0	6	0,00		10	0	10	0,00		16	0	16	0,00	
18.11.	5	4819, 3416	2	0	2	0,00		7	0	7	0,00		9	0	9	0,00	
18.11.	15	3416, 3178	7	0	7	0,00		12	0	12	0,00		13	0	13	0,00	

Tabulka 24 (pokračování) Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany VAJEČNÝ LIKÉR – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANĚ KULTURY Delvo Guard

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
			vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
18.11.	7	3178, 4004	3	0	3	0,00		7	0	7	0,00		10	0	10	0,00	
18.11.	6	4004, 4135	2	0	2	0,00		8	0	8	0,00		10	0	10	0,00	
23.11.	2	4135	1	0	1	0,00		9	0	9	0,00		3	0	3	0,00	
23.-24.11.	13	4135, 3564	6	0	6	0,00		11	0	11	0,00		17	0	17	0,00	
24.11.	2	3564	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
30.11.	5	3587	2	0	2	0,00		12	0	12	0,00		7	0	7	0,00	
30.11.	4	3587, 4592	2	0	2	0,00		6	0	6	0,00		8	0	8	0,00	
06.12.	4	4592	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
06.12.	3	4592	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
15.12.	1	4791	0	0	0	-		9	0	9	0,00		2	0	2	0,00	
15.12.	6	4791	3	0	3	0,00		5	0	5	0,00		8	0	8	0,00	
27.12.	5	4791, 4719	2	0	2	0,00		11	0	11	0,00		8	0	8	0,00	
27.12.	5	4719, 4914	2	0	2	0,00		8	0	8	0,00		10	0	10	0,00	
30.12.	9	4914, 3294	4	0	4	0,00		11	0	11	0,00		15	0	15	0,00	
CELKEM	296		137	0	137	0,00		336	0	336	0,00		419	0	419	0,00	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Tabulka 25 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany NUGÁT – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	4 dny				komentář	7 dní				komentář	konec spotřeby				komentář
			vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků		vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků		vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	
17.08.	1	4463, 4464	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
17.08.	2	4464	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
25.08.	3	4464	1	0	1	0,00		4	0	4	0,00		5	0	5	0,00	
25.08.	6	4464, 4694	3	0	3	0,00		6	0	6	0,00		9	0	9	0,00	
02.09.	6	4694	3	0	3	0,00		5	1	6	16,67	P	9	0	9	0,00	
08.09.	8	4694, 3458	3	0	3	0,00		7	0	7	0,00		12	0	12	0,00	
16.09.	3	3458	1	0	1	0,00		5	0	5	0,00		6	0	6	0,00	
21.09.	4	3463	2	0	2	0,00		3	0	3	0,00		5	0	5	0,00	
21.09.	1	3463	0	0	0	-		1	0	1	0,00		1	0	1	0,00	
21.-22.09.	12	3463, 3483	6	0	6	0,00		11	0	11	0,00		17	0	17	0,00	
29.09.	3	3483, 3795	1	0	1	0,00		5	0	5	0,00		6	0	6	0,00	
29.09.	7	3795	3	0	3	0,00		6	0	6	0,00		9	0	9	0,00	
04.10.	2	3795	1	0	1	0,00		4	0	4	0,00		5	0	5	0,00	
04.10.	8	4592	4	0	4	0,00		7	0	7	0,00		11	0	11	0,00	
11.10.	5	4592, 4816	2	0	2	0,00		7	0	7	0,00		9	0	9	0,00	
11.10.	4	4816	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
21.-22.10.	3	4816	1	0	1	0,00		4	0	4	0,00		5	0	5	0,00	
22.10.	4	3303	2	0	2	0,00		5	0	5	0,00		7	0	7	0,00	
25.10.	2	3303	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
25.10.	2	3303	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
04.11.	6	3838	3	0	3	0,00		6	0	6	0,00		8	0	8	0,00	
04.11.	3	3838	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
08.11.	5	3951	2	0	2	0,00		12	0	12	0,00		7	0	7	0,00	
08.11.	3	3951	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	

Tabulka 25 (pokračování) Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany NUGÁT – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
			vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
15.-16.11.	9	3951, 4177	4	0	4	0,00		9	0	9	0,00		13	0	13	0,00	
16.11.	1	4177	0	0	0	-		1	0	1	0,00		1	0	1	0,00	
16.11.	5	4177, 4051	2	0	2	0,00		7	0	7	0,00		9	0	9	0,00	
18.11.	1	4051	1	0	1	0,00		1	0	1	0,00		2	0	2	0,00	
18.11.	15	4051, 4415	7	0	7	0,00		13	0	13	0,00		20	0	20	0,00	
24.11.	1	4415, 3315	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
24.11.	8	3315	4	0	4	0,00		5	0	5	0,00		9	0	9	0,00	
24.11.	3	3315, 3857	1	0	1	0,00		5	0	5	0,00		6	0	6	0,00	
30.11.	1	3857	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
30.11.	2	3857	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
07.12.	4	3857, 4366	2	0	2	0,00		6	0	6	0,00		8	0	8	0,00	
07.12.	2	4366	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
15.12.	1	4366	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
15.12.	3	4366	2	0	2	0,00		3	0	3	0,00		5	0	5	0,00	
27.12.	4	4459	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
30.12.	10	4459, 4716	5	0	5	0,00		18	0	18	0,00		16	0	16	0,00	
CELKEM	173		79	0	79	0,00		203	1	204	0,49		269	0	269	0,00	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Tabulka 26 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany OCHUCENÁ STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	počet napojení kontejnerů	počet dnů do konce DS při 1. napojení	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
					vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
17.08.	3	1039, 1848	3, 2	34, 15	2	0	2	0,00		5	0	5	0,00		7	0	7	0,00	
17.08.	5	1848	2	15	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
17.08.	3	1848	2	15	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
26.08.	5	1921	1	6	2	0	2	0,00		4	1	5	20,00	P	7	0	7	0,00	
26.08.	12	1921, 4270	1, 2	6, 15	6	0	6	0,00		9	1	10	10,00	P	16	0	16	0,00	
02.09.	8	4270, 1216	2, 2	15, 1	3	0	3	0,00		7	3	10	30,00	P	14	0	14	0,00	
08.09.	13	1216, 3167	2, 1	1, 16	6	0	6	0,00		1	11	12	91,67	B, P	17	2	19	10,53	P
CELKEM	49				22	0	22	0,00		33	16	49	32,65		71	2	73	2,74	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Tabulka 27 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHR. KULTURY Delvo Guard

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	počet napojení kontejnerů	počet dnů do konce DS při 1. napojení	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
					vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
17.08.	4	1232, 1856	2, 2	23, 17	2	0	2	0,00		6	0	6	0,00	P	10	0	10	0,00	
26.08.	3	4868	1	14	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
26.08.	6	4868	1	14	3	0	3	0,00		5	0	5	0,00		8	0	8	0,00	
02.09.	6	1818	1	26	3	0	3	0,00		6	0	6	0,00		8	1	9	11,11	P
08.09.	8	3558	1	44	2	2	4	50,00	P	6	0	6	0,00		10	0	10	0,00	
08.09.	1	3558	1	44	0	0	0	-		1	7	8	87,50	P	2	0	2	0,00	
CELKEM	28				11	2	13	15,38		27	7	34	20,59		42	1	43	2,33	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Vzhledem k tomu, že oddělení kvality dlouhodobě eviduje potíže s rozsáhlejší mikrobiální kontaminací u stracciatelly a ochucené stracciatelly, rozhodlo vedle použití ochranné kultury o zavedení doplňujícího technologického opatření, a to změna plnění kontejnerů ochucujících složek stracciatella a ochucená stracciatella ze standardních 500 kg na 300 kg.

U druhu stracciatella a ochucená stracciatella je tedy rozhodujícím sledovaným obdobím 29.07. až 31.12.2021, kdy byla nejprve implementována ochranná kultura, po několika týdnech zároveň zavedena změna v plnění kontejnerů ochucujících složek. Vzorky druhu stracciatella a ochucená stracciatella v podstatě vykazují shodné výsledky skladovacího experimentu. I přes implementaci obou technologických opatření vykazují departážní vzorky obou druhů přetrvávající potíže s mikrobiální kontaminací, což je zaznamenáno v Tabulce 28 a 29. Velice zajímavým zjištěním ovšem je, že u obou druhů existuje část sledovaného období, kdy nebyl zaznamenán naprosto žádný výskyt mikrobiální kontaminace. U obou druhů se naprosto shodně jedná o období pěti týdnů, 04.10. až 04.11.2021, respektive pěti na sobě nezávislých výrobních období. U druhu ochucená stracciatella ovšem nastává od 04.11.2021 opět kvalitativní zlom a následné departážní vzorky opět vykazují mikrobiální kontaminaci. Ke stejnému zlomu došlo i u druhu stracciatella, a to 08.11.2021. Konstatovat, že zavedená opatření byla u obou druhů neefektivní a neúspěšná, by ovšem bylo zavádějící. Zde je nutné zaměřit se na Tabulku 12, která sumarizuje výsledky skladovacího experimentu za jednotlivá sledovaná období. Z Tabulky 12 je patrné, že potíže s mikrobiální kontaminací u obou druhů přetrvávají i po implementaci ochranné kultury a změně plnění kontejnerů ochucujících složek, nicméně lze na základě výsledků konstatovat, že díky oběma opatřeními došlo k zásadní redukci rozsahu této kontaminace. Co se týče departážních vzorků analyzovaných po čtyřech dnech v teplé místnosti, podíl kontaminovaných kusů byl oproti standardnímu výrobnímu procesu redukován z cca 15 % na cca 3 % u obou druhů. Co se týče departážních vzorků analyzovaných po sedmi dnech v teplé místnosti, podíl byl analogicky redukován z cca 32 % na 19 % u druhu stracciatella, resp. z cca 29 % na cca 15 % u druhu ochucená stracciatella. V poslední řadě, co se týče departážních vzorků analyzovaných na konci data spotřeby, byl podíl analogicky redukován z cca 8 % na cca 3 % u druhu stracciatella, respektive z cca 15 % na cca 2 % u druhu ochucená stracciatella. Z uvedených výsledků ovšem nelze stanovit, do jaké míry byla efektivní implementace ochranné kultury a do jaké míry změna plnění kontejnerů ochucujících složek, jelikož obě opatření probíhala v daném období současně. Redukci

rozsahu mikrobiální kontaminace lze u obou druhů považovat za výsledek synergického efektu obou opatření.

Tabulka 28 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany OCHUCENÁ STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard a OBDOBÍ ZMĚNY PLNĚNÍ KONTEJNERŮ OCHUCUJÍCÍCH SLOŽEK

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	počet napojení kontejnerů	počet dnů do konce DS při 1. napojení	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
					vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
16.09.	10	3253, 3771, 3420	2, 1, 2	22, 14, 14	5	0	5	0,00		13	0	13	0,00		18	0	18	0,00	
16.09.	1	3420	2	14	0	0	0	-		1	0	1	0,00		1	0	1	0,00	
22.09.	8	3420, 4589	2, 1	14, 23	4	0	4	0,00		8	1	9	11,11	P	13	0	13	0,00	
22.09.	2	4589	1	23	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
29.09.	9	3307, 4733	2, 1	23, 16	3	0	3	0,00		8	1	9	11,11	P	10	2	12	16,67	P
29.09.	5	4733, 4650	1, 2	16, 16	2	0	2	0,00		4	2	6	33,33	P	6	2	8	25,00	P
04.10.	4	4650, 4126	2, 1	16, 11	2	0	2	0,00		5	0	5	0,00		8	0	8	0,00	
04.10.	14	4126, 3212, 1356	1, 1, 1	11, 11, 25	7	0	7	0,00		13	1	14	7,14	P	18	2	20	10,00	P
04.10.	2	1356, 1358	1, 2	25, 25	1	0	1	0,00		5	0	5	0,00		6	0	6	0,00	
11.10.	4	1358, 1915	2, 1	25, 18	2	0	2	0,00		6	0	6	0,00		9	0	9	0,00	
11.10.	6	1915, 1938	1, 1	18, 18	3	0	3	0,00		7	0	7	0,00		10	0	10	0,00	
11.10.	3	1938	1	18	1	0	1	0,00		3	0	3	0,00		4	0	4	0,00	
22.10.	11	1753, 1850	1, 1	7, 7	5	0	5	0,00		12	0	12	0,00		17	0	17	0,00	
22.10.	3	4326	3	26	1	0	1	0,00		5	0	5	0,00		6	0	6	0,00	
25.10.	5	4326	3	26	2	0	2	0,00		5	0	5	0,00		7	0	7	0,00	
25.10.	1	4326	3	26	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
04.11.	3	4326, 3683	3, 1	26, 13	1	0	1	0,00		6	0	6	0,00		7	0	7	0,00	
04.11.	11	3683, 1441	1, 2	13, 25	5	0	5	0,00		10	0	10	0,00		16	0	16	0,00	

Tabulka 28 (pokračování) Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany OCHUCENÁ STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard a OBDOBÍ ZMĚNY PLNĚNÍ KONTEJNERŮ OCHUCUJÍCÍCH SLOŽEK

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	počet napojení kontejnerů	počet dnů do konce DS při 1. napojení	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
					vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
08.11.	6	1441, 1809	2, 1	25, 21	3	0	3	0,00		6	0	6	0,00		9	0	9	0,00	
08.11.	10	1809, 1115, 1114	1, 1, 1	21, 21, 39	5	0	5	0,00		9	1	10	10,00	P	15	0	15	0,00	
08.11.	3	1114	1	39	1	0	1	0,00		2	1	3	33,33	P	4	0	4	0,00	
18.-19.11.	6	3522	1	28	3	0	3	0,00		3	3	6	50,00	P	9	0	9	0,00	
19.11.	6	1727	1	28	2	0	2	0,00		4	1	5	20,00	P	7	0	7	0,00	
19.11.	3	3356	2	28	1	0	1	0,00		1	4	5	80,00	P	6	0	6	0,00	
25.11.	4	3356, 4680	2, 2	28, 22	1	1	2	50,00	P	4	3	7	42,86	P	8	0	8	0,00	
25.11.	3	4680	2	22	1	0	0	-		1	3	4	75,00	P	5	0	5	0,00	
30.11.	2	4680, 4580	2, 3	22, 22	1	0	1	0,00		1	2	3	66,67	P	4	0	4	0,00	
30.11.	3	4580	3	22	1	0	1	0,00		1	2	3	66,67	P	4	0	4	0,00	
15.12.	2	4722	1	14	0	1	1	100,00	P	8	1	9	11,11	P	3	0	3	0,00	
15.12.	5	4722, 4008	1, 2	14, 14	3	0	3	0,00		4	2	6	33,33	P	9	0	9	0,00	
15.12.	1	4008	2	14	0	0	0	-		2	1	3	33,33	P	3	0	3	0,00	
27.12.	3	4008, 3830	2, 1	14, 2	1	0	1	0,00		6	0	6	0,00		7	0	7	0,00	
27.-28.12.	4	3830	1	2	2	0	2	0,00		3	0	3	0,00		5	0	5	0,00	
28.12.	2	3830, 1070	1, 2	2, 17	1	0	1	0,00		5	0	5	0,00		6	0	6	0,00	
30.12.	5	1070, 1235	2, 2	2, 14	2	0	2	0,00		6	2	8	25,00	P	10	0	10	0,00	
CELKEM	170				73	2	75	2,67		181	31	212	14,62		275	6	281	2,14	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Tabulka 29 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard a OBDOBÍ ZMĚNY PLNĚNÍ KONTEJNERŮ OCHUCUJÍCÍCH SLOŽEK

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	počet napojení kontejnerů	počet dnů do konce DS při 1. napojení	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
					vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
16.09.	3	1784	1	12	2	0	2	0,00		2	0	2	0,00		4	0	4	0,00	
16.09.	1	1784	1	12	0	0	0	-		3	0	3	0,00		3	0	3	0,00	
21.09.	4	1034, 1886	1, 1	24, 35	2	0	2	0,00		12	1	13	7,69	P	4	0	4	0,00	
21.-22.09.	13	1886	1	35	6	0	6	0,00		7	0	7	0,00		17	0	17	0,00	
22.09.	1	1886	1	35	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
29.09.	3	1763	1	16	1	0	1	0,00		4	0	4	0,00		1	3	4	75,00	P
29.09.	8	1763, 1712	1, 1	16, 16	3	0	3	0,00		7	1	8	12,50	P	9	3	12	25,00	P
04.10.	6	1246	1	36	3	0	3	0,00		6	0	6	0,00		9	0	9	0,00	
11.10.	5	3776	1	9	2	0	2	0,00		5	0	5	0,00		7	0	7	0,00	
11.10.	5	3776	1	9	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
22.10.	5	1885	1	18	2	0	2	0,00		12	0	12	0,00		7	0	7	0,00	
25.10.	1	4407	1	17	1	0	1	0,00		1	0	1	0,00		2	0	2	0,00	
25.10.	4	4407	1	17	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
27.10.	4	3666	1	15	1	0	1	0,00		4	0	4	0,00		5	0	5	0,00	
27.10.	7	3666, 3209	1, 1	15, 33	3	0	3	0,00		9	0	9	0,00		12	0	12	0,00	
08.11.	2	4869	1	22	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
08.11.	4	4869	1	22	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
18.11.	5	1857	1	36	2	0	2	0,00		0	5	5	100,00	P	7	0	7	0,00	
18.11.	15	1857, 1930, 1279	1, 1, 1	36, 36, 36	7	0	7	0,00		9	4	13	30,77	P	20	0	20	0,00	
18.11.	1	1279	1	36	0	0	0	-		2	1	3	33,33	P	3	0	3	0,00	
18.11.	8	1279, 1763	1, 1	36, 36	4	0	4	0,00		2	6	8	75,00	P	12	0	12	0,00	
24.11.	2	3149	1	38	1	0	1	0,00		0	2	2	100,00	P	3	0	3	0,00	
24.-25.11.	5	3149	1	38	1	1	2	50,00	P	2	2	4	50,00	P	6	0	6	0,00	

Tabulka 29 (pokračování) Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard a OBDOBÍ ZMĚNY PLNĚNÍ KONTEJNERŮ OCHUCUJÍCÍCH SLOŽEK

Datum výroby	počet vyrobených palet	číslo kontejneru ochucující složky	počet napojení kontejnerů	počet dnů do konce DS při 1. napojení	4 dny					7 dní					konec spotřeby				
					vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář	vyhovující vzorky	nevyhovující vzorky	celkový počet vzorků	% nevyhovujících vzorků	komentář
25.11.	8	3149, 1461	1, 1	38, 38	3	1	4	25,00	P	5	2	7	28,57	P	11	0	11	0,00	
25.11.	1	1461	1	38	0	0	0	-		2	0	2	0,00		2	0	2	0,00	
30.11.	3	1773	1	32	1	0	1	0,00		2	2	4	50,00	P	5	0	5	0,00	
30.11.	2	1773	1	32	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
06.12.	3	1999	1	27	1	0	1	0,00		5	4	9	44,44	P	5	0	5	0,00	
06.12.	2	1999	1	27	1	0	1	0,00		0	2	2	100,00	P	3	0	3	0,00	
15.12.	2	1172	1	38	1	0	1	0,00		2	0	2	0,00		3	0	3	0,00	
15.12.	4	1172	1	38	2	0	2	0,00		4	0	4	0,00		6	0	6	0,00	
27.12.	1	1209	1	26	0	0	0	-		1	0	1	0,00		1	0	1	0,00	
27.12.	5	1209	1	26	2	0	2	0,00		9	0	9	0,00		6	0	6	0,00	
30.12.	5	1725	1	23	2	0	2	0,00		6	0	6	0,00		8	0	8	0,00	
CELKEM	148				62	2	64	3,13		141	32	173	18,50		207	6	213	2,82	

Vysvětlivky: P – plíseň, K – kvasinky, B - bombáž, Z - zápach

Zjištění, že u departážních vzorků druhu stracciatella a ochucená stracciatella existuje po zavedení technologických opatření přibližně pětitédenní období, kdy byla stanovena nulová mikrobiální kontaminace, a poté byly opět zjištěny potíže s mikrobiologickou kvalitou vzorků, vedlo k zamyšlení nad příčinou návratu mikrobiologické kontaminace. Na základě toho byla analýza departážních vzorků druhu stracciatella a ochucená stracciatella doplněna o analýzu počtu napojení jednotlivých kontejnerů obou ochucujících složek a taktéž analýzu počtu dní zbývajících do expirace data spotřeby ochucujících složek od prvního napojení. Sledování těchto dvou parametrů je zaznamenáno mimo jiné v Tabulce 28 a 29.

Cílem změny plnění kontejnerů ochucujících složek bylo minimalizovat počet napojení každého kontejneru, optimálně na pouhé jedno napojení. Co se týče druhu ochucená stracciatella a části sledovaného období od 04.10. do 04.11.2021, kdy nebyla zjištěna u departážních vzorků naprosto žádná mikrobiální kontaminace, bylo devět kontejnerů ochucující složky napojeno jen jedenkrát, dva kontejnery dvakrát a jeden kontejner dokonce třikrát. Takový kontejner by mohl být běžně podezřelý jako zdroj mikrobiální kontaminace, nicméně všechny vzorky výrobku z něj vyrobené naopak žádnou mikrobiální kontaminaci nevykazovaly. Co se týče druhu stracciatella a daného období, všechny použité kontejnery ochucující složky, tedy celkem sedm, byly napojeny pouze jednou.

Cílem sledování počtu dní zbývajících do expirace data spotřeby ochucujících složek od prvního napojení kontejnerů bylo prověřit, zda nedochází k chybným, resp. předčasným objednávkám ochucujících složek, jež by způsobovalo napojování a zpracovávání kontejnerů až těsně před expirací data spotřeby ochucujících složek. Ochucující složka ochucená stracciatella je do mlékárny dodávána běžně s expirací cca 30 až 50 dní, ochucující složka stracciatella s expirací cca 50 dní. Co se týče druhu ochucená stracciatella a části sledovaného období od 04.10. do 04.11.2021, kontejnery byly poprvé napojeny 26, 25, 21, 18, 13 a dokonce jen 7 dní před expirací data spotřeby ochucující složky. Co se týče druhu stracciatella a části sledovaného období, kontejnery byly poprvé napojeny 36, 33, 22, 18, 17, 15 a dokonce jen 9 dní před expirací data spotřeby ochucující složky.

Z výše uvedené analýzy napojování kontejnerů a počtu dní před expirací ochucujících složek při prvním napojení kontejnerů nebyla zjištěna žádná přímá souvislost mezi těmito dvěma sledovanými parametry a mikrobiální kvalitou analyzovaných departážních vzorků. Přesto bych oddělení nákupu doporučila prověřit objednávkový systém, průběh zpracování ochucujících složek, aby se optimalizovaly dodávky ochucujících složek a nedocházelo tak k napojování a zpracování kontejnerů až několik dní před expirací data spotřeby ochucujících složek.

Jak již bylo popsáno v kapitole 3, zakysané mléčné výrobky bývají znehodnoceny nežádoucí mikrobiální činností různých druhů plísní nebo kvasinek, jež jsou schopny růstu při nižších hodnotách pH, charakteristických pro zakysané mléčné výrobky, ale i nižších teplotách. (Martin a kol., 2021) Kontaminace plísněmi a kvasinkami byla právě tak stanovena i u departážních vzorků zakysané smetany analyzovaných pro účely diplomové práce. Výskyt plísňové či kvasinkové kontaminace departážních vzorků je zaznamenán ve

sloupci „komentář“ v Tabulce 13 až 29, které zobrazují výsledky analýzy jednotlivých druhů zakysané smetany.

Jak uvádí Martin (2021), v roce 2017 se podařilo izolovat 83 mikrobiálních izolátů z 30 mléčných výrobků na bázi jogurtu. Mezi izolované mikroorganismy patřily *Torulaspora delbrueckii*, *Clavispora lusinaniae* a rod *Penicillium* jako nejčastěji izolovaný z daných vzorků. Jiné studie identifikovaly z jogurtu jako mikrobiální kontaminant kvasinky rodu *Debaryomyces*, *Rhodotorula*, *Kluyveromyces* a *Candida* a plísně rodu *Penicillium*, *Rhizomucor*, *Sistotrema* a *Mucor*. Například Rohm a kol. (1992) zkoumal a porovnával biochemické vlastnosti 1 013 druhů kvasinek izolovaných z různých druhů mléčných výrobků (např. jogurt, kefir a sýry). Dále Buehler a kol. (2017) izoloval z mléčných výrobků v rámci své studie 361 fungálních mikroorganismů, přičemž nejčastěji zastoupeným rodem byl *Penicillium*, dále *Debaryomyces* a nakonec *Candida*. Garnier (2017) uvádí, že mezi nejčastější fungální kontaminanty mléčných výrobků patří rody *Penicillium*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Meyerozyma*, *Candida*, *Rhodotorula* a *Yarrowia*. Jak již bylo zmíněno v kapitole 3, plísně a kvasinky jsou jako kontaminanty schopny u zakysaných mléčných výrobků tvořit cizí pachy, cizí chutě nebo plyn prostřednictvím fermentace laktózy, lipolýzy, proteolýzy a dalších metabolických procesů. (Martin a kol., 2021) U analyzovaných departážních vzorků byly identifikovány narostlé kolonie plísní i kvasinek, zjištěn cizí pach i tvorba plynu, jež zapříčinila až vznik bombáží (Tabulka 13 až 29). Vzhledem k nálezům různorodé mikrobiální aktivity bych mlékárně mimo jiné doporučila zaslat část případných budoucích kontaminovaných departážních vzorků do akreditované laboratoře pro stanovení druhů kontaminujících mikroorganismů.

V souvislosti s mikrobiální kontaminací potravin se často hovoří o rekontaminaci zpracovaných produktů prostřednictvím nedostatečného nebo nesprávného čištění a sanitace, jejichž důsledkem je pak vznik nežádoucích mikrobiálních biofilmů. Biofilmy se mohou tvořit na inertních i živých površích. (Martin a kol., 2021) Proces čištění a sanitace je v mlékárně řízen především detailně zpracovaným, funkčním sanitačním řádem. Správná výrobní praxe a hygiena pracovního procesu je podpořena rozsáhlým systémem kontrol účinnosti čištění a sanitace. Kontroly jsou prováděny mimo jiné například formou stěrů z cisteren, výrobní technologie, obalového materiálu, rukou a pracovních oděvů výrobních pracovníků apod. S ohledem na výsledky analýzy mikrobiologické kvality departážních vzorků zakysané smetany, výrobní technologii a výrobní proces bych mlékárně doporučila

zaměřit se na kontrolu procesu ošetření kontejnerů ochucující složky stracciatella a ochucená stracciatella při připojení a odpojení.

Jak bylo zmíněno již v kapitole 5, oddělení kvality v mlékárně se domnívá, že k mikrobiální kontaminaci zakysané ochucené smetany u druhu stracciatella a ochucená stracciatella dochází prostřednictvím přenosu mikrobiálních spor pocházejících z čokoládových kousků obsažených v obou ochucujících složkách. Ochucující složky lze zařadit mezi středně vlhké potraviny (intermediate moisture foods, IMF), jejichž aktivita vody se pohybuje v hodnotách 0,90 až 0,60. (Barbosa-Canovas, 2007) Středně vlhké potraviny jsou náchylné ke kontaminacím xerofilními fungálními mikroorganismy a osmofilními kvasinkami. (De Clercq a kol., 2015) Ochucující složka stracciatella a ochucená stracciatella ovšem obsahují čokoládové kousky. Čokoláda vykazuje nižší aktivitu vody (hodnoty $< 0,60$), jež brání mikrobiálnímu růstu. Přesto byly z čokoládových výrobků izolovány xerofilní mikroorganismy. Pravděpodobnou příčinou přítomnosti těchto mikroorganismů u vybraných čokoládových výrobků byla stanovená postkontaminace způsobená zvýšenou aktivitou vody na rozhraní čokolády a obalu. (De Clercq a kol., 2015) K analogické postkontaminaci by tedy mohlo docházet i v případě obou ochucujících složek při kontaktu čokoládových kousků s cukernovodnou fází ochucujících složek a následně při kontaktu ochucujících složek se základní surovinovou skladbou zakysané smetany. Opět bych tedy mlékárně doporučila zaměřit se na stanovení druhů kontaminujících mikroorganismů.

ZÁVĚR

Již v úvodu diplomové práce bylo zmíněno, že rozsáhlé celosvětové ztráty na potravinách, způsobené ať už mikrobiálním znehodnocením nebo jednoduše plýtváním potravin, představují v dnešní době velice citlivé téma, kterému je věnována zvýšená pozornost. K mikrobiálnímu znehodnocení potravin může docházet v jakékoli části dlouhého řetězce od prvovýroby, přes výrobu potravin, jejich distribuci na trh a prodej konečnému spotřebiteli, až po úchovu potraviny u konzumenta. Cílem výrobců potravin je samozřejmě poskytovat svým zákazníkům své výrobky v co nejvyšší kvalitě. Mnozí výrobci potravin se tedy uchylují k implementaci různých ochranných opatření pro zajištění kvality svého produktového portfolia. Mezi tato opatření můžeme zařadit například úpravu výrobní a zpracovatelské technologie a postupů, řízení chladírenského řetězce, implementaci obalů s řízenou nebo modifikovanou atmosférou apod.

V posledních letech si ovšem pozornost získávají bioprotektivní mikrobiální kultury. Pro zakysané mléčné výrobky je typická mikrobiální kontaminace plísněmi nebo kvasinkami. To je dáno charakteristickými vlastnostmi zakysaným mléčných výrobků, ke kterým patří především nízké pH pohybující se pod hodnotou 4,6, při které dochází k inhibici růstu většiny bakterií. Naopak plísně a kvasinky jsou schopny růst při nižších hodnotách pH, ale i nižších teplotách. Bioprotektivní kultury jsou využívány právě jako ochrana před nežádoucím působením plísní a kvasinek v mnoha druzích potravinářských výrobků, především pak v mléčných výrobcích, kde jsou bioprotektivní kultury využívány po boku starterových kultur. Bakterie mléčného kvašení jsou nejběžnější mikroorganismy využívané jako bioprotektivní činitelé.

K implementaci bioprotektivních kultur se uchýlila i mlékárna, v níž byla zpracovávána tato diplomová práce. Jak bylo popsáno již v úvodu, mlékárna má zavedené vysoké výrobní a hygienické standardy, každý rok úspěšně obhájí jeden z nejnáročnějších potravinářských certifikátů, klade vysoké nároky na kvalitu a bezpečnost materiálu a surovin pro výrobu svých produktů, přesto se potýká u departážních vzorků vybraného, specifického typu zakysané ochucené smetany s mikrobiální kontaminací. Mlékárna implementovala několik ochranných opatření pro eliminaci tohoto mikrobiologického problému a v rámci této diplomové práce byla zkoumána úspěšnost zavedených opatření. Hlavním cílem diplomové práce tedy bylo sledování a vyhodnocení vlivu vybraných parametrů na kvalitu vzorků zakysané ochucené smetany.

Pro zpracování experimentální části diplomové práce byly vyrobeny vzorky zakysané ochucené smetany v týdenním intervalu ve sledovaném období 01.06. až 31.12.2021 v mlékárně na území České republiky. Vzorky zakysané smetany byly vyrobeny v ochucení jahoda, vaječný likér, nugát, stracciatella a ochucená stracciatella. U druhů stracciatella a ochucená stracciatella mlékárna dlouhodobě eviduje u departážních vzorků mikrobiální kontaminaci, departážní vzorky druhu jahoda, vaječný likér a nugát nevykazují zásadní kvalitativní potíže.

Pro vyrobené vzorky zakysané ochucené smetany byl založen skladovací experiment. Vzorky byly skladovány ve dvou teplotních režimech. Část vzorků byla vystavena teplotní zátěžové zkoušce při teplotě 28 až 30 °C a skladována po dobu čtyř a sedmi dnů. Druhá část vzorků byla skladována při chladírenských teplotách 2 až 8 °C, a to do konce data spotřeby. Zvýšený výskyt mikrobiální kontaminace byl zjištěn u vzorků z teplotních zátěžových testů analyzovaných po sedmi dnech, a dále u vzorků analyzovaných na konci data spotřeby.

Pro eliminaci mikrobiální kontaminace mlékárna zavedla několik ochranných opatření. Prvním opatřením byla implementace ochranné kultury FreshQ od výrobce Chr.Hansen. Tato ochranná kultura byla následně nahrazena ochrannou kulturou Delvo Guard od výrobce DSM Food Specialties BV. Zavedení ochranných kultur se týkalo všech pěti druhů zakysané ochucené smetany. Nakonec bylo zavedeno třetí opatření ve formě změny plnění kontejnerů s ochucujícími složkami, týkající se pouze druhu stracciatella a ochucená stracciatella. Na základě výsledků lze konstatovat, že použití ochranné kultury Delvo Guard mělo pozitivní vliv na mikrobiální kvalitu zakysané smetany. U druhu jahoda, vaječný likér a nugát došlo k eliminaci mikrobiální kontaminace. U druhu stracciatella a ochucená stracciatella bylo na základě výsledků zjištěno, že synergickým efektem působení ochranné kultury Delvo Guard a změny plnění kontejnerů ochucujících složek došlo k redukci mikrobiální kontaminace. Vzhledem k přetrvávající mikrobiální kontaminaci departážních vzorků zakysané smetany druhu stracciatella a ochucená stracciatella, ač výrazně redukované, byla mlékárně doporučena další opatření, mimo jiné prověření objednávkového systému ochucujících složek stracciatella a ochucená stracciatella, prověření zpracování ochucujících složek stracciatella a ochucená stracciatella, aby se optimalizovaly dodávky ochucujících složek a nedocházelo tak k napojování a zpracování kontejnerů až několik dní před expirací data spotřeby ochucujících složek, což bylo zjištěno v rámci analýzy zpracování kontejnerů ochucujících složek. Dále bylo mlékárně

doporučeno, aby byly ve spolupráci s akreditovanou laboratoří stanoveny druhy kontaminujících mikroorganismů za účelem případného zjištění jejich původu, a tedy určení zdroje kontaminace. Nakonec bylo mlékárně doporučeno zaměřit se na kontrolu procesu ošetření kontejnerů při připojení a odpojení.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Anonym. *Smlouva o spolupráci*. Zpracovatelský závod. 2015 [citováno 2022-04-26].

Anonym. *Systém HACCP*. Zpracovatelský závod. 2021. [citováno 2022-03-12].

Anonym. *Zpráva o výsledcích aktivity 002.2*. Zpracovatelský závod. 2016a. [citováno 2022-04-26].

Anonym. *Zpráva o výsledcích aktivity 002.4*. Zpracovatelský závod. 2016b. [citováno 2022-04-27].

Anonym. *Zpráva o výsledcích aktivity 002.5*. Zpracovatelský závod. 2018a. [citováno 2022-04-27].

Anonym. *Zpráva o výsledcích aktivity 002.6*. Zpracovatelský závod. 2018c. [citováno 2022-04-27].

BAJPAI, V.K., RATHER, I.A., MAJUMDER, R., SHUKLA, S., AERON, A., KIM, K., KANG, S.-CH., DUBEY, R.C., MAHESHWARI, D.K., LIM, J., PARK, Y.-H. [Classification of bacterial exopolysaccharides]. In *Exopolysaccharide and lactic acid bacteria: Perception, functionality and prospects* [online]. 2015 [citováno 2022-05-02].
Dostupné online na:
https://www.researchgate.net/publication/287151403_Exopolysaccharide_and_lactic_acid_bacteria_Perception_functionality_and_prospects.

BARBOSA-CANOVAS, G. V. *Water activity in foods: fundamentals and applications*. 1. vydání. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2007, 435 s. ISBN 978-0-8138-2408-6.

BEN SAID, L., GAUDREAU, H., DALLAIRE, L., TESSIER, M., FLISS, I. Bioprotective culture: A new generation of food additives for the preservation of food quality and safety. In *Industrial Biotechnology*, 2019, 15:138-147. Databáze online [citováno 2022-04-20].
Dostupné online na: <https://doi.org/10.1089/ind.2019.29175.lbs>.

BUEHLER, A. J., EVANOWSKI, R. L., MARTIN, N. H., BOOR, K. J., WIEDMANN, M. Internal transcribed spacer (ITS) sequencing reveals considerable fungal diversity in dairy products. In *Journal of Dairy Science*, 2017, 100: 8814-8825. Databáze online [citováno 2022-04-29]. Dostupné online na: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12635>.

BUEHLER, A. J., MARTIN, N. H., BOOR, K. J., WIEDMANN, M. Psychrotolerant spore-former growth characterization for the development of a dairy spoilage predictive model. In

Journal of Dairy Science, 2018a, 101:6964-6981. Databáze online [citováno 2022-04-21]. Dostupné online na: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14501>.

BUEHLER, A. J., MARTIN, N. H., BOOR, K. J., WIEDMANN, M. Evaluation of biopreservatives in Greek yogurt to inhibit yeast and mold spoilage and development of a yogurt spoilage predictive model. In *Journal of Dairy Science*, 2018b, 101:10759-10774. Databáze online [citováno 2022-04-21]. Dostupné online na: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15082>.

BUEHLER, A. J., EVANOWSKI, M., WIEDMANN, M., MARTIN, N. H. Internal transcribed spacer (ITS) sequence-based characterization of fungal isolates from multiple yogurt facilities – A case study. In *Journal of Dairy Science*, 2019, 102:3646-3653. Databáze online [citováno 2022-04-21]. Dostupné online na: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15636>.

CLEUSIX, V., LACROIX, CH., VOLLENWEIDER, S., DUBOUX, M., LE BLAY, G. Inhibitory activity spectrum of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* against intestinal bacteria. In *BMC Microbiology* 2007, 7:101. Databáze online [citováno 2022-05-01]. Dostupné na: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1471-2180-7-101>.

DE CLERCQ, N., VAN COILLIE, E., VAN PAMEL, E., DE MEULENAER, B., DEVLIEGHERE, F., VLAEMYNCK, G. Detection and identification of xerophilic fungi in Belgian chocolate confectionery factories. In *Food Microbiology*, 2015, 46: 322-328. Databáze online [citováno 2022-05-04]. Dostupné online na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002014002111?via%3Dihub>.

DSM FOOD SPECIALTIES BV. Ochranná kultura Delvo Guard, 2021. Aplikační list. [citováno 2022-04-26].

DOYLE, M. P., BEUCHAT, L. R. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Georgia, USA: Center for Food Safety, The University of Georgia. Washington, USA: ASM Press, 2007. ISBN 978-1-55581-407-6.

EISEN, J.A. Environmental Shitgun Sequencing: Its Potential and Challenges for Studying the Hidden World of Microbes. In *Peer-Reviewed Open-Access Journal*, 2007, s. e82. Databáze online [citováno 2022-04-21]. Dostupné online na: <https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.0050082>.

EVANOWSKI, R. L., KENT, D. J., WIEDMANN, M., MARTIN, N. H. Milking time hygiene interventions on dairy farms reduce spore counts in raw milk. In *Journal of Dairy Science*, 2020, 103:4088-4099. Databáze online [citováno 2022-04-20]. Dostupné online na: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17499>.

FEDOROVÁ, M., PROKEŠ, M., PISTL, J., NEMCOVÁ, R. Exopolysacharidy ako významné produkty probiotík. In *Chemické Listy* 112, 770 – 776. 2018. Košice: Katedra lekárenstva a sociálnej farmácie, Katedra epizootológie a parazitológie, Katedra mikrobiológie a imunológie, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach. Databáze online [citováno 2022-03-13]. Dostupné na: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/3215/3189>.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) [online]. Global Food Losses and Food Waste, 2011. [citováno 2022-05-01]. Dostupné online na: <https://www.fao.org/3/mb060e/mb060e00.htm>.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. In *Journal of Applied Bacteriology*, 1989, 66, 365 – 378. Databáze online [citováno 2022-04-30]. Dostupné online na: <http://www.performanceprobiotics.com/Downloads/Articles/Fuller%201989%20Probiotics%20in%20man%20and%20animals.pdf>.

GARNIER, L., VALENCE, F., PAWTOWSKI, A., AUHUSTSINAVA-GALERNE, L., FROTTE, N., BARONCELLI, R., DENIEL, F., COTON, E., MOUNIER, J. Diversity of spoilage fungi associated with various French dairy products. In *International Journal of Food Microbiology*, 2017, 241: 191 – 197. Databáze online [citováno 2022-04-25]. Dostupné online na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.026>.

GÉSAN-GUIZIOU, G. Removal of bacteria, spores and somatic cells from milk by centrifugation and microfiltration techniques. In *Improving the Safety and Quality of Milk*, 2010, s. 349 – 372. Cambridge, UK: Woodhead Publishing.

HANSEN E. B. Microorganisms. In *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*. 2004. New York: Macerl Dekker, Inc. ISBN 0-8247-4780-1.

Společnost Glopolis, o.p.s. [online]. Škoda vyhazovat, 2022. [citováno 2022-05-01]. Dostupné online na: <https://www.eatresponsibly.eu/cs/foodwaste/1#section-bin>.

HARUTOSHI T. *Exopolysaccharides of Lactic Acid Bacteria for Food and Colon Health Applications*. 2013. InTech. Databáze online [citováno 2022-05-02]. Dostupné na: <https://www.intechopen.com/books/lactic-acid-bacteria-r-d-for-food-health-and-livestock->

purposes/exopolysaccharides-of-lactic-acid-bacteria-for-food-and-colon-health-applications.

HORÁČKOVÁ, Š., ŠVIRÁKOVÁ, E. *Probiotické mikroorganismy v mlékárenském průmyslu*. In *Mlékařské listy* č. 113/114. 2009. Praha: Ústav technologie mléka a tuků, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Databáze online [citováno 2022-04-30]. Dostupné online na: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2009/113;114_s_12-14.pdf.

HUCK, J. R., HAMMOND, B. H., MURPHY, S. C., WOODCOCK, N. H., BOOR, K. J. Tracking spore-forming bacterial contaminants in fluid milk-processing systems. In *Journal of Dairy Science*, 90:4872-4883. 2007. Databáze online [citováno 2022-04-21]. Dostupné na: <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0196>.

HUCK, J. R., SONNEN, M., BOOR, K. J. Tracking heat-resistant, cold-thriving fluid milk spoilage bacteria from farm to packaged product. In *Journal of Dairy Science*, 91:1218-1228. 2008. Databáze online [citováno 2022-04-21]. Dostupné online na: <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0697>.

CHR.HANSEN. Ochranná kultura FreshQ. 2020. [citováno 2022-04-26].

LAČANIN, I., MOUNIER, J., PAWTOWSKI, A., DUŠKOVÁ, M., KAMENÍK, J., KARPÍŠKOVÁ, R. Assessment of the antifungal activity of *Lactobacillus* and *Pediococcus* spp. for use as bioprotective cultures in dairy products. In *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2017, 33:188. Databáze online [citováno 2022-04-21]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2354-y>.

LEDENBACH, L. H., MARSHALL, R. T. Microbiological spoilage of dairy products. In *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages*, s. 41 – 67. New York, New York, NY: W. H. Sperber and M. P. Doyle, eds. Springer.

LILLY, D. M., STILLWELL, R. H. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. In *Science*, 1965, 147 (3659): 747-8. Databáze online [citováno 2022-03-13]. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14242024>.

MAGNUSSON, M. CHRISTIANSSON, A., SVENSSON, B., KOLSTRUP, C. Effect of different premilking manual teat-cleaning methods on bacterial spores in milk. In *Journal of Dairy Science*, 2006, 89:3866-3875. Databáze online [citováno 2022-04-20]. Dostupné online na: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72429-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72429-8).

MARTIN, N.H., TORRES-FRENZEL, P., WIEDMANN, M. Invited review: Controlling dairy product spoilage to reduce food loss and waste. In *American Dairy Science Association*, 2021, 104: 1251 – 1261. Databáze online [citováno 2022-04-16]. Dostupné online na: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19130>.

Společnost MILCOM a.s. [online]. MILCOM a.s., 2022. [citováno 2022-04-26]. Dostupné online na: <https://www.milcom-as.cz/>.

MORYA, S., AERON, G. Probiotics as Therapeutics. In *Journal of Advanced Research in Biotechnology*, 2017, 2(3): 1-6. Databáze online [citováno 2022-05-01]. Dostupné online na: <http://dx.doi.org/10.15226/2475-4714/2/3/00127>.

[Nové výrobní zařízení (plnicí oblast) – pohled z přední strany výrobní haly]. Interní databáze mlékárny. 11. února 2018, 2018b. [citováno 2022-04-27].

[Nové výrobní zařízení (plnicí oblast) – pohled ze zadní strany výrobní haly]. Interní databáze mlékárny. 11. února 2018, 2018b. [citováno 2022-04-27].

[Nové výrobní zařízení (oblast skládání naplněných obalů do kartonů)]. Interní databáze mlékárny. 11. února 2018, 2018b. [citováno 2022-04-27].

PLOCKOVÁ, M.: Zákysové kultury a způsoby jejich aplikace. In KADLEC, P., et al. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. 2012. 1. vyd. Ostrava: Key Publishing, 569 s. ISBN 978-80-7418-145-0.

ROHM, H., ELISKANES-LECHNER, F., BRAUER, M. Diversity of yeasts in selected dairy products. In *Journal of Applied Bacteriology*, 1992, 72: 370 – 376. Databáze online [citováno 2022-04-29]. Dostupné online na: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.tb01848.x>.

SIEDLER, S., RAU, M. H., BIDSTRUP, S., VENTO, J. M., AUNSBJERG, S. D., BOSMA, E. F., MCNAIR, L. M., BEISEL, C. L., NEVES, A. R. Competitive exclusion is a major bioprotective mechanism of lactobacilli against fungal spoilage in fermented milk products. In *Applied and Environmental Microbiology Journal*, 2020, 86:e02312-19. Databáze online [citováno 2022-04-21]. Dostupné online na: <https://doi.org/10.1128/AEM.02312-19>.

TANG, CH., LU, Z. Health promoting activities of probiotics. In *Journal of Food Biochemistry*, 2017, 10.1111/jfbc.12944. Databáze online [citováno 2022-05-01]. Dostupné na: <https://onlinelibrary-wiley-com.proxy.k.utb.cz/doi/epdf/10.1111/jfbc.12944>.

URRUTIA-BACA, V. H., ESCAMILLA-GARCÍA, E., DE LA GARZA-RAMOS, M. A., TAMEZ-GUERRA, P., GOMEZ-FLORES, R., URBINA-RÍOS, C. S. In Vitro

Antimicrobial Activity and Downregulation of Virulence Gene Expression on *Helicobacter pylori* by Reuterin. In *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2018 10, 168-175. Databáze online [citováno 2022-05-01]. Dostupné online na: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12602-017-9342-2>.

Vyhláška č. 397/2016 ze dne 2. prosince 2016, o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje, ve znění pozdějších předpisů.

YANG, S.-C., LIN, C.-H.T. SUNG, C., FANG, J.-Y. Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. In *frontiers in Microbiology*, 2014, 10.3389/fmicb.2014.00241. Databáze online [citováno 2022-04-30]. Dostupné online na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4033612/>.

YEUNG, M. ADSA Foundation Scholar Award: Trends in cultureindependent methods for assessing dairy food quality and safety: Emerging metagenomic tools. In *Journal of Dairy Science*, 2012, 95:6831-6842. Databáze online [citováno 2022-04-21]. Dostupné online na: <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5677>.

ZHENG, J., WITTOUCK, S., SALVETTI, E., FRANZ, M.A.P.CH., HARRIS, M.B.H., MATTARELLI, P., O'TOOLE, W.P., POT, B., VANDAMME, P., WALTER, J., WATANABE, K., WUYTS, S., FELIS, E.G., GÄNZLE, G.M., LEBEER, S. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1902, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. In *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2020, 70:2782-2858. Databáze online [citováno 2022-04-30]. Dostupné online na: <https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:000584502400078>.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CCP	anglicky Critical Control Point (kritický kontrolní bod)
CIP	anglicky Cleaning In Place (čištění na místě)
CPM	celkový počet mikroorganismů
ČOV	čistička odpadních vod
EPS	exopolysacharidy
ESL	anglicky Extended Shelf Life (mléko s prodlouženou trvanlivostí)
FAO	anglicky Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organizace pro výživu a zemědělství)
GTK	živná půda s glukózou, tryptonem a kvasničným extraktem
IMF	anglicky Intermediate moisture foods (středně vlhké potraviny)
MntH	přenašeč manganu
OSN	Organizace spojených národů
SIP	anglicky Sterilization In Place (sterilizace na místě)
SitABC	přenašeč manganu
VČŽL	živná půda s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a laktózou

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Rozdělení mikrobiálních exopolysacharidů (zpracováno a přeloženo dle Bajpai a kol., 2015)	18
Obrázek 2 – Různé aplikace mikrobiálních exopolysacharidů v různých odvětvích (zpracováno a přeloženo dle Bajpai a kol., 2015).....	19
Obrázek 3 – Příklady mikroorganismů s probiotickými vlastnostmi (zpracováno a přeloženo dle Morya a Aeron, 2017).....	21
Obrázek 4 - Grafické schéma funkcí a zdravotních benefitů probiotik (zpracováno a přeloženo dle Morya a Aeron, 2017)	22
Obrázek 5 – Výrobní diagram pro výrobu smetanového ochuceného jogurtu, použita termofilní jogurtová kultura.....	24
Obrázek 6 - Výrobní diagram pro výrobu zakysané neochucené smetany, použita mezofilní smetanová kultura	25
Obrázek 7 – Znázornění přenosu manganu prostřednictvím přenašeče MntH (Chr.Hansen, 2020).....	30
Obrázek 8 – Nové výrobní zařízení (plnicí oblast) – pohled z přední strany výrobní haly (Anonym, 2018b).....	36
Obrázek 9 – Nové výrobní zařízení (plnicí oblast) – pohled ze zadní strany výrobní haly (Anonym, 2018b).....	36
Obrázek 10 – Nové výrobní zařízení (oblast skládání naplněných obalů do kartonů) (Anonym, 2018b).....	37
Obrázek 11 – Grafické schéma implementace jednotlivých technologických opatření v mlékárně pro zvýšení kvality zakysané ochucené smetany.....	42

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 - Mikrobiologické požadavky na jednotlivé mléčné výrobky a na druhy živých mikroorganismů mléčného kysání v kysaných mléčných výrobcích (Výňatek z Přílohy č. 1 Vyhlášky č. 397/2016).....	13
Tabulka 2 – Navrhované názvy nových rodů vyčleněných z původního rodu <i>Lactobacillus</i> (zpracováno dle Zheng a kol, 2020)	15
Tabulka 3 – Příklady změn taxonomických názvů u mléčných tyčinek z roku 2020, významných v mlékárenském průmyslu (zpracováno dle Zheng a kol, 2020)	16
Tabulka 4 – Porovnání průměru mlékárny a celorepublikového průměru kvality syrového mléka za rok 2016 (celkový počet mikroorganismů/1 ml) (přepřacováno dle Anonym, 2016a)	34
Tabulka 5 – Přehled hygienických požadavků mlékárny na nové výrobní zařízení (zpracováno a upraveno dle (Anonym, 2016b) *	35
Tabulka 6 – Ředění vzorků.....	43
Tabulka 7 – Vybrané charakteristiky ochucujících složek pro výrobu zakysané smetany .	44
Tabulka 8 – Přehled počtu vyrobených palet a kusů finálního výrobku a počtu analyzovaných vzorků za účinnosti jednotlivých technologických opatření.....	48
Tabulka 9 – Přehled celkového počtu vyrobených palet a kusů finálního výrobku a počtu analyzovaných vzorků za celé sledované období od 01.06. do 31.12.2021	49
Tabulka 10 - Mikrobiologická kontrola kvality syrového mléka před pasterací, pasterovaného mléka a pasterované smetany	50
Tabulka 11 – Mikrobiologická analýza vzorků ochucující složky ochucená stracciatella odebraných z kontejnerů třikrát napojených.....	52
Tabulka 12 - Sumarizace výsledků testu skladování	54
Tabulka 13 – Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany JAHODA – OBDOBÍ PŮVODNÍHO TECHNOLOGICKÉHO POSTUPU	56
Tabulka 14 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 4 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany VAJEČNÝ LIKÉR – OBDOBÍ PŮVODNÍHO TECHNOLOGICKÉHO POSTUPU	57
Tabulka 15 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany NUGÁT – OBDOBÍ PŮVODNÍHO TECHNOLOGICKÉHO POSTUPU	58
Tabulka 16 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany OCHUCENÁ STRACCIATELLA – OBDOBÍ PŮVODNÍHO TECHNOLOGICKÉHO POSTUPU.....	59
Tabulka 17 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany STRACCIATELLA – OBDOBÍ PŮVODNÍHO TECHNOLOGICKÉHO POSTUPU.....	60

Tabulka 18 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany JAHODA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY FreshQ.....	61
Tabulka 19 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany VAJEČNÝ LIKÉR – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY FreshQ...	62
Tabulka 20 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany NUGÁT – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY FreshQ.....	62
Tabulka 21 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany OCHUCENÁ STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY FreshQ.....	63
Tabulka 22 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY FreshQ .	63
Tabulka 23 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany JAHODA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard.....	65
Tabulka 24 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany VAJEČNÝ LIKÉR – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard	67
Tabulka 25 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany NUGÁT – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard.....	69
Tabulka 26 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany OCHUCENÁ STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard.....	71
Tabulka 27 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHR. KULTURY Delvo Guard ..	71
Tabulka 28 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany OCHUCENÁ STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard a OBDOBÍ ZMĚNY PLNĚNÍ KONTEJNERŮ OCHUCUJÍCÍCH SLOŽEK	73
Tabulka 29 - Mikrobiologické výsledky teplotních zátěžových testů v teplé místnosti po 4 a 7 dnech, a mikrobiologické výsledky analýzy na konci data spotřeby zakysané smetany STRACCIATELLA – OBDOBÍ IMPLEMENTACE OCHRANNÉ KULTURY Delvo Guard a OBDOBÍ ZMĚNY PLNĚNÍ KONTEJNERŮ OCHUCUJÍCÍCH SLOŽEK	75