

STANOVENÍ ODOLNOSTI VYBRANÝCH KMENŮ LAKTOBACILŮ VŮČI MODELOVÝM PODMÍNKÁM TRÁVICÍHO TRAKTU

Kejmarová M., Drbohlav J., Šalaková A., Kunová G.
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Determination of selected *Lactobacilli* strains
resistance to model conditions
of the digestive tract

Abstrakt

Cílem práce bylo testovat odolnost vybraných kmenů *Lactobacillus rhamnosus* a *Lactobacillus casei* ze Sbírký mlékárenských mikroorganismů Laktoflora® a zkoumat jejich chování v simulovaných podmínkách trávicího traktu. Byl sledován vliv nízkého pH, žaludeční šťávy, pankreatické šťávy a hovězí žluči na počty sledovaných bakterií. Výsledky ukazují, že testované kmeny (5 kmenů *Lactobacillus casei* a 10 kmenů *Lactobacillus rhamnosus*) jsou rezistentní vůči nízkému pH, pankreatinu, hovězí žluči a tolerantní vůči žaludeční šťávě. Sledované bakterie *Lbc. casei* a *Lbc. rhamnosus* přežívají simulované podmínky trávicího traktu v dostatečném množství a jsou vhodné pro další využití k výrobě probiotických potravin.

Klíčová slova: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, pepsin, pankreatin, hovězí žluč, vepřová žluč

Abstract

The aim of the study was resistance investigation of strains *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus casei* (Culture Collection of Dairy Microorganisms Laktoflora®) in simulated model conditions of digestion. The effects of low pH, gastric and pancreatic juice and bovine biles on counts of probiotic microorganisms were investigated. Results show resistance of tested strains - 5 strains *L. casei* and 10 strains *L. rhamnosus* to low pH, stomach and pancreatic juice and bovine bile, tolerance is to pepsin. Tested strains are able to survive the simulated conditions of digestion in high amount and they are suitable for next use in the production of probiotic food.

Key words: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, pepsin, pancreatin, bovine bile, swine bile

1. Úvod

V naší práci jsme se zaměřili na sledování životaschopnosti vybraných kmenů laktobacilů ze Sbírký mlékárenských mikroorganismů Laktoflora®, která je součástí Českého genofondu mikroorganismů a malých živočichů a rostlin podle zákona č.252/1997 Sb. ve znění pozdějších předpisů,

v simulovaných podmínkách zažívacího traktu člověka. Sledované mikroorganismy pro svoji dostupnost se mohou stát po ověření probiotických a dalších technologických vlastností zdrojem inovací pro české mlékárenské výroby.

Byla studována rezistence vybraných probiotických mikroorganismů především vůči nízkému pH (pH3) a vůči žaludeční šťávě, který je součástí žaludečního sekretu a tak simuluje působení žaludeční šťávy. Dále jsme stanovili odolnost testovaných bakterií k simulované pankreatické šťávě za použití pankreatinu a k hovězí žluči.

Probiotika je označení pro mikroorganismy, které mají pozitivní vliv na zdraví spotřebitele. Mezi probiotika patří bakterie mléčného kvašení zejména laktobacily a bifidobakterie. Jmenované bakterie jsou součástí přirozené ochranné bariery trávicího traktu proti nepříznivým podmínkám vnějšího prostředí. Chrání vnitřní prostředí organismu a to cestou degradace kaseinu na peptidy, inhibují proliferaci lymfocytů a prozánětlivých cytokinů. Dlouhodobá konzumace kysaných výrobků snižuje koncentraci hnilobných bakterií v gastrointestinálním traktu. Tímto se snižuje i množství nežádoucích metabolitů - toxických enzymů, které jsou hnilobnými bakteriemi produkovány. Probiotické mikroorganismy jsou nepatogenní a netoxické, pokud jsou aplikovány v dostatečném množství, mají schopnost příznivého působení v lidském organismu jako prevence, ale i jako terapeutický prostředek v léčbě některých chorob.

V mléčných výrobcích s obsahem probiotik je kladen důraz na vysoké počty živých mikroorganismů a na jejich dobrou životaschopnost po celou dobu minimální trvanlivosti výrobku. Nezbytná je jejich schopnost přežít pasáží zažívacího traktu hostitele, to znamená rezistenci či alespoň toleranci k nepříznivým podmínkám v průběhu trávení v žaludku a tenkém střevě.

Původně za probiotické bakterie byly pokládány pouze laktobacily: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* v monokultuře nebo ve směsi. Později se začaly k výrobě používat bifidobakterie: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis* (Maxa, V., Rada, V. 2000).

Konzumací probiotických bakterií - především v mléčných výrobcích, můžeme předcházet různým trávicím potížím, probiotické bakterie pozitivním způsobem ovlivňují klinické projevy některých onemocnění (Rogejl, I., et al. 2002), produkují vitaminy, mají antialergické účinky, pozitivně ovlivňují imunitní systém (Vaughan, E.E., Mollet, B. 1999), metabolizují různé nekarzinogenní a antimikrobiální látky, zabraňují kolonizaci střev patogenními mikroorganismy, (Fuller, R., 1989, Gibson, G.R., et al. 1995).

Studiem rezistence celé řady různých probiotických mikrobiálních kmenů a kultur vůči nízkému pH a žluči se zabývala řada autorů v minulosti i v současnosti.

Kimono-Nira, H., et al. (2009) ve své studii sledovali souvislosti mezi žlučovou rezistencí a zastoupením některých mastných kyselin v buňce u 14 kmenů laktokoků v různých mediích (M17 - bez laktosy, GM17 - s glukosou, LM17 - s laktosou). Plynovou chromatografií tuků a kore-

lační analýzou všech kmenů narostlých na obou mediích zjistili významné pozitivní vztahy mezi žlučovou rezistencí a obsahem hexadekanové a oktadekanové kyseliny a negativní vztahy mezi žlučovou rezistencí a obsahem hexadecenové a C-19 cyklopropan mastné kyseliny. Zjistili také, že žlučová rezistence je závislá na druhu, kmenu a růstovém mediu. Kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* rezistentní vůči žluči pěstované na GM 17 měly významně více oktadecenové kyseliny než žlučově senzitivní kmeny. V LM 17 mediu měli žlučově rezistentní kmeny významně více oktadecenové kyseliny a významně méně C19 cyklopropan mastné kyseliny. U testovaných kmenů *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* se mění žlučová rezistence podle růstového media. Některé kmeny byly rezistentní k žluči v GM17, ale citlivé v LM17, některé byly rezistentní v obou testovaných mediích.

Xiaodong Pan, et al. (2009), izolovali probiotický kmen *Lactobacillus acidophilus* NIT z dětských feaces. Kmen byl testován na rezistenci vůči pH 2-4 a koncentraci žluči 1-3%, na adhezi na Caco-2 buňky, byla testována jeho antimikrobiální aktivita proti střevním patogenním bakteriím. *L. acidophilus* NIT vykázal toleranci vůči žluči, kyselosti a silnou antimikrobiální aktivitu vůči testovaným enteropathogenům, dále bylo v pokusu zjištěno, že má dobrou adhezenci a významný potenciál ke snižování adheze patogenů ke Caco-2 buňkám. Tyto výsledky ukazují, že *Lactobacillus acidophilus* NIT může být užitečný pro zlepšení probiotických receptur s ohledem na jeho schopnost ochrany proti enteropathogenním infekcím.

Pisano, M.B., et.al.(2008) izolovali 14 kmenů laktobacilů ze sýra Fiore Sardo, které byly schopné růst při pH 2,0 a v přítomnosti 0,3% žluči. Byly vyhodnoceny pro své funkční typické vlastnosti k použití jako probiotické kultury. Většina kmenů přežila podmínky v trávicím traktu, vykázala antagonistickou aktivitu proti *L. monocytogenes* ATCC 7644, *E. coli* ATCC 35 150 a *Y. enterocolitica* ATCC 9610. Šest kmenů vykázalo in vitro několik kmenových vlastností a bylo by jich vhodné využít jako doplněk do kultur pro vývoj probiotických sýrů.

Millette, M., et al.(2008) zkoumali odolnost kmenů *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei* a *L. rhamnosus* v zažívacím traktu a jejich přizpůsobení střevní mikroflóře. Komerční směsi *L. acidophilus* a *L. casei* jsou využívány pro produkci probioticky fermentovaných mlék a proto u nich byla hodnocena rezistence vůči žlučovým solím a kyselému prostředí ve srovnání s ostatními mléčnými bakteriemi (LAB: *L. rhamnosus* ATCC 53 103, ATCC 9595 a RW- 9595M). Tyto komerční kultury a 3 kmeny *L. rhamnosus* vykazovaly úplnou odolnost vůči pH $\geq 2,5$. Minimální inhibiční koncentrace žlučových solí byla 50 g/l pro všechny bakterie. Kmeny byly testovány také metodou in vivo na zdravých myších C 57BI/6. Analyzované vzorky fekální mikroflóry ukázaly celkové zvýšení kulturních LAB a snížení populace *Staphylococcus spp.* Bylo zjištěno, že tyto kultury by mohly zlepšit zdraví střev.

Girija Aswathy et al.(2008) uvádí, že LAB - mléčné bakterie byly izolovány z fermentované zeleniny, kynutého

těsta, mléčných výrobků a ze vzorků lidských feaces. U nově izolovaných kultur byly hodnoceny probiotické vlastnosti jako odolnost vůči žlučovým solím, chloridu sodnému, nízkému pH, hydrofobicita povrchu buněk, odolnost k nízké koncentraci fenolu, antimikrobiální aktivita a citlivost vůči vancomycinu a erythromycinu. Vybrané kultury byly testovány z hlediska jejich schopnosti produkce vybraných složek jako kyseliny listové a exopolysacharidů. Dva izoláty CB2 ze zelí a kynutého těsta SD2 byly shledány jako producenti extracelulárních a intracelulárních folátů. Jeden izolát z jogurtu MC-1 a 1 izolát ze syrovátky W3 tvořily významné množství EPS - exopolysacharidů, max. produkce: 8,79 + nebo 0,05 g/l u MC-1.

Guglielmotti, D., et al. (2007), zkoumali mutagenní kmen *Lactobacillus delbrueckii* rezistentní vůči fágům s požadovanou tolerancí vůči žluči a tři komerční k fágům senzitivní kmeny *L. delbrueckii* (Ab1, YSD V, Ib3) a 4 kmeny, které vznikly spontánní mutací (A7, A17, V2, I39). Všechny kmeny s probiotickými vlastnostmi dříve vykázaly toleranci ke žlučovým solím (volská žluč). Minimální inhibiční koncentrace (MICs) byla od 0,30% do 0,35% volské žluči. Kultury byly vystaveny postupně zvyšujícím se koncentracím žluči s cílem získat ke žluči rezistentní izoláty. Stabilní izoláty tolerující až 0,9% žluči byly získány z *L. delbrueckii* Ab1 a stejně tak i jeho fágorezistentních mutantů A7, A17. RAPD-PCR analýza odhalila silnou genetickou homologaci mezi izoláty odolnými vůči žluči a jejich neadaptabilitu k původním kmenům. Izoláty udržely obecně fenotypovou fágovou rezistenci neodolných kmenů (s výjimkou A7). Izoláty s nejvyšší tolerancí vůči žlučové soli se staly senzitivní k fágům, ale izoláty s nízkou nebo střední rezistencí si uchovaly rezistenci fágovou. Technologické vlastnosti izolátů rezistentních vůči žluči byly srovnatelné s původními kmeny. Výsledky ukázaly možnost získat přirozenou selekční strategií probiotické kmeny s požadovanou tolerancí vůči žluči. Pokud si izoláty udržují tyto vlastnosti, bylo by je možné využít pro výrobu funkčních potravin.

Mätto, J., et.al. (2004) uvedli metodiku testování rezistence bifidobakterií, kterou jsme upravili podle podmínek naší laboratoře a zjišťovali rezistenci některých probiotických bakterií ze sbírky Laktoflora® v r 2009.

Pimentel - Gonzalez, D.J., et.al. (2009) ověřovali životaschopnost a odolnost buněk *Lactobacillus rhamnosus*, obalených dvěma emulzemi na základě sladké syrovátky, vůči simulovaným podmínkám zažívacího traktu. Kontrolní neobalené buňky vykazovaly log CFU. ml⁻¹ 6,57 ± 0,3 a procento rezistence vůči nízkému pH a žlučovým solím 71 - 89%. Buňky obalené, chráněné emulzemi vykazovaly log CFU. ml⁻¹ 6,74 ± 0,2 a procento rezistence 108 - 128%.

Vinderola, C.G., et. al. (2003) zjišťovali probiotické charakteristiky (dekonjugaci žlučových solí, hydrofobicitu, beta-galaktosidázovou aktivitu) a rezistenci proti biologickým bariérám (žaludeční šťáva a žlučovým solím) u 24 kmenů bakterií mléčného kvašení (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*,

Lactococcus lactis) a 24 kmenů probiotických bakterií (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium* sp.). Nejlepší probiotické charakteristiky a vysokou rezistenci vůči žaludeční šťávě a žlučovým solím vykazovaly kmeny *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

Materiál

Přehled testovaných kmenů

Lactobacillus rhamnosus (CCDM: 118, 157, 158A, 233, 441, 579, 610, 821, 963A, 963B) katalogové číslo sbírky Laktoflora®

Lactobacillus casei (CCDM: 145, 198, 199, 422, 650) katalogové číslo sbírky Laktoflora®

Metodika

Chemikálie a roztoky:

dehydratovaná hovězí žluč - SIGMA B 3883, pepsin ze sliznic žaludků prasat - SIGMA P 7000, pankreatin-SIGMA p 3292, NaCl, dest. H₂O, 0,2M HCl, 0,2M KCl, 0,1M KH₂PO₄, 0,1M NaOH

A) příprava acidického roztoku pH 3:

0,2 ml 0,2M HCl + 9,8 ml destilované vody, kontrola pH, sterilace, uchování při 4 °C

B) příprava testovacího živného média o koncentraci 0,3% žluče

Příprava 10 % roztoku hovězí žluče:

10 g práškové žluči rozpustit ve 100 ml destilované vody, sterilace, uchování při 4 °C,

Příprava média: 100 ml sterilního MRS agarů + 3 ml 10% roztoku žluče

C) příprava simulované žaludeční šťávy o koncentraci 0,3% pepsinu:

Příprava pufru pH 2: 50 ml 0,2M KCl + 13 ml 0,2M HCl

Příprava šťávy: 10 ml pufru o pH 2 + 0,03 g pepsinu + 0,05 g NaCl + 10 ml pufru pH 2, sterilace, uchování při -60 °C

D) příprava simulované pankreatické šťávy o koncentraci 0,1% pankreatinu:

Příprava pufru pH 8: 100 ml 0,1M KH₂PO₄ + 93,4 ml 0,1M NaOH

Příprava šťávy: 10 ml pufru pH 8 + 0,01 g pankreatinu + 0,05 g NaCl, sterilace, uchování při -60 °C

Lyofilizované kultury použitých kmenů byly nejprve obnoveny několikanásobným přeočkováním v MRS bujonu pro účely zjištění rezistence a v obnoveném mléce nebo obnoveném mléce s kvasničným autolyzátem - pro účely ověření použití kultur pro výrobu mléčných probiotických výrobků.

Po 4. přeočkování v MRS bujonu, bylo provedeno mikroskopické vyšetření testovaných kmenů a byly stanoveny počty. Počty mikroorganismů testovaných kmenů byly stanoveny v rozmezí 10⁸ až 10⁹. Následovala příprava primární suspenze kmenů bakterií a stanovení

rezistence vůči nízkému pH, rezistence vůči hovězí žluči, žaludeční šťávě, pankreatické šťávě.

Stanovení rezistence bylo založeno na kultivačních metodách, kdy se porovnávaly počty charakteristických bakterií narostlých na kontrolním MRS agaru s počty bakterií narostlých na MRS agaru s přidavkem sterilního roztoku hovězí žluče, s přidavkem sterilního roztoku simulované žaludeční šťávy, pankreatické šťávy, roztoku HCl o pH 3 s výdrží 30 minut.

Plotny byly očkované přelivem příslušného desítkového ředění a inkubovány za specifických kultivačních podmínek vhodných pro daný druh laktobacilů (37°C po dobu 72 hodin, anaerobně). Po kultivaci byly vyhodnoceny počty KTJ/1 ml, logaritmus počtů se porovnal s kontrolou a vyjádřil v procentech.

Zhodnocení rezistence: ≤ 90- 100 % bakterie jsou rezistentní, 50 - 90 % bakterie jsou tolerantní, ≤ 50 % bakterie jsou inhibované.

Výsledky

Tab. 1 Rezistence testovaných kmenů vůči vybraným inhibitorům v procentech

kmen	pH 3	hovězí žluč 0,3%	žaludeční šťáva	pankreatická šťáva
CCDM 145	103 %	99 %	0 %	103 %
CCDM 198	102 %	99 %	59 %	100 %
CCDM 199	101 %	102 %	59 %	101 %
CCDM 422	100 %	99 %	59 %	102 %
CCDM 650	102 %	99 %	65 %	100 %
CCDM 118	102 %	98 %	46 %	99 %
CCDM 157	100 %	100 %	51 %	100 %
CCDM 158 A	98 %	99 %	61 %	99 %
CCDM 233	99 %	99 %	64 %	103 %
CCDM 441	99 %	96 %	67 %	96 %
CCDM 579	98 %	97 %	64 %	100 %
CCDM 610	101 %	96 %	54 %	98 %
CCDM 963 A	98 %	96 %	58 %	99 %
CCDM 963 B	99 %	96 %	54 %	101 %
CCDM 821	101 %	95 %	70 %	99 %

Tab. 2 Rezistence testovaných kmenů vůči vybraným inhibitorům (log KTJ/ml)

kmen	pH 3	hovězí žluč 0,3%	žaludeční šťáva	pankreatická šťáva
CCDM 145	8,32	8,58	≤ 3,00	8,34
CCDM 198	8,32	8,63	4,93	8,40
CCDM 199	7,99	8,62	4,79	8,15
CCDM 422	8,56	8,81	5,00	8,59
CCDM 650	7,90	8,23	5,23	8,04
CCDM 118	8,28	8,26	3,85	8,30
CCDM 157	8,67	8,91	4,45	8,61
CCDM 158 A	8,34	8,52	5,15	8,38
CCDM 233	8,23	8,48	5,32	8,53
CCDM 441	8,53	8,45	5,83	8,43
CCDM 579	8,08	8,18	5,23	8,23
CCDM 610	8,34	8,32	4,54	8,32
CCDM 963 A	8,04	8,11	4,71	8,04
CCDM 963 B	7,87	7,79	4,26	7,97
CCDM 821	8,56	6,83	6,0	8,57

Diskuze

Sledované kmeny vykazovaly velmi dobrou odolnost vůči nízkému pH, hovězí žluči a pankreatické šťávě. Simulovaná žaludeční šťáva s pepsinem snížila počty mikroorganismů, u kmene CCDM 821 o 2 řády, u dalších kmenů až 3-5 řádů, kmeny CCDM 145 a 118 byly simulovanou žaludeční šťávou významně inhibovány. Zatímco inhibitory - nízké pH, hovězí žluč a pankreatická šťáva působily na testovaný soubor kmenů vyrovnaně, u sledované odolnosti vůči žaludeční šťávě byly zaznamenány významné rozdíly mezi kmeny. Nejvyšší počty mikroorganismů po působení modelových inhibitorů trávicího traktu byly stanoveny u kmene *Lactobacillus rhamnosus* CCDM 157.

Závěr

Z dosažených výsledků vyplývá, že kmeny testovaných bakterií *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus rhamnosus* CCDM 198, 199, 422, 650, 157, 158A, 233, 441, 579, 610, 963A, 963B, 821 ze Sbírký mlékárenských mikroorganismů Laktoflora® jsou rezistentní nebo tolerantní vůči simulovaným podmínkám v trávicím traktu a lze je využít k výrobě probiotických potravin. Testované bakterie mají dobré růstové schopnosti jak v syntetických živných médiích, tak i v mléce, kde dosahují počty 10^8 - 10^9 v 1 ml média.

Výzkum byl řešen v rámci výzkumného záměru MSM 2672286101.

Seznam literatury:

- MAXA, V., RADA, V.: Význam probiotik a prebiotik pro výživu a zdraví. Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2000.
- VAUGHAN, E.E., MOLLET, B.: Probiotics in the new millennium. *Nahrung*, 1999, 43, s. 148-153.
- ROGEJL, I., MATIAŠIČ, B.B., MAJHENIČ, A.Č., STOJKOVIČ, S.: The survival and persistence of *Lactobacillus acidophilus* LF221 in different ecosystems. *Int. J. Food Microbiol.*, 2002, 76, s. 83-91.
- GIBSON, G.R., BEATTY, E.R., WANG, X., CUMMINGS, J.H.: Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofruktose and inulin. *Gastroenterology*, 1995, 108, s. 975-982.
- KIMOTO-NIRA, H., KOBAYASHI, M., NOMURA, M., SASAKI, K., SUZUKI, C.: *Int. Journal of Food Microbiology*, 2009, 131, s.183-188.
- XIAODONG PAN, FENGIN CHEN, TIANXING WU, HONGGANG TANG, ZHANYU ZHAO: The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *Food Control*, 2009, 20, s. 598-602.
- PISANO, M.B., CASULA, M., CORDA, A., FADDA, M.E., DEPLANO, M., COSENTINO, S.: In vitro probiotic characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from Fiore Sardo cheese. *Italian Journal of Food Science*, 2008, 20, s. 505-516.
- MILLETTE, M., LUQUET, F.M., RUIZ, M.T., LACROIX, M.: Characterization of probiotic properties of *Lactobacillus* strains. *Dairy Science & Technology*, 2008, 88, s. 695-705.
- GIRIJA ASWATHY, R., BINDHUMOL ISMAIL, PAPPY JOHN, R., MADHAVAN NAMPOOTHIRI, K.: Evaluation of the probiotic characteristics of newly isolated lactic acid bacteria. *Applied Biochemistry & Biotechnology*, 2008, 151, s. 244-255.
- GUGLIELMOTTI, D., MARCO, M.B., VINDEROLA, C., REYES GAVILAN, C.DE LOS, REINHEIMER, J., QUIBERONI, A.: Spontaneous *Lactobacillus delbrueckii* phage-resistant mutants with acquired bile tolerance. *Int. Journal of Food Microbiology*, 2007, 119, s. 236-242.
- MÄTTO, J. ET AL. Genetic heterogeneity and functional properties of intestinal bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 2004: 97, s. 459-470.

- PIMENTEL-GONZÁLEZ, D.J., CAMPOS-MONTIEL, R.G., LOBATO-CALLEROS, C., PEDROZA-ISLAS, R., VERNON-CARTER, and E.J.: Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* in double emulsions formulated with sweet whey as emulsifier and survival in simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 2009, 42, s. 292-297.
- VINDEROLA, C.G., REINHEIMER, J.A.: Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative "in vitro" study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*, 2003, 36, s. 895-904.

Přijato do tisku 2. 9. 2010

Lektorováno 23. 9. 2010

VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ METODY KONTROLY MANUÁLNÍHO ODBĚRU BAZÉNOVÝCH VZORKŮ MLÉKA

Sojková, K.¹ - Kopunec, P.² - Hanuš, O.³ - Dufek, A.³

¹ Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o., Rapotín;

² Českomoravská společnost chovatelů, a.s., Praha;

³ Agrovýzkum Rapotín s.r.o.

Evaluation of control method results for manual bulk milk sampling

Abstrakt

Vzorkování bazénového mléka je důležité pro kontrolu kvality syrového mléka a podporu bezpečnosti a kvality mléčného potravinového řetězce. Kontrolou kvality syrového mléka je plněna důležitá společenská zakázka. Dodržování metodického pokynu si klade za cíl přispět ke zvyšování kvality činností, které předcházejí hodnocení jakosti mléka v akreditovaných laboratořích. Cílem práce bylo vyhodnotit výsledky, které byly získány od pracovníků, kteří prodělali v ČR oficiální školení podle platné metodiky manuálního vzorkování (MV). Z 86 kontrolních MV 23,3 % nevyhovělo. To je vysokém číslo a zdůrazňuje význam vzorkování pro kontrolu kvality mléka. Údaj potvrzuje nezbytnost kontroly vzorkovací činnosti. Podle kontrolovaných parametrů MV nevyhovělo: 8,1 % MV u tuku (T) obou nádrží; 3,5 % MV u bodu mrznutí mléka (BMM) 2. nádrže; 3,5 a 9,3 % MV u tuku směsných vzorků. Nejnáročnějším kritériem byla homogenita odběru mléka s ohledem na tuk. Celkový počet mikroorganismů (CPM) nebyl problematický. Limity pro splnění MV byly původně odvozeny kvalifikovaným odhadem. Nyní byly odvozeny exaktním postupem na hladině pravděpodobnosti 95 % (konvenčně, směrodatná odchylka $\times 1,96$). Konkrétně by tedy limity odchylek pro budoucí aplikaci metody kontroly a certifikace MV pro T, BMM a CPM mohly činit $\pm 0,1025$ %; $3,7841$ m°C $\times (-1)$; 17,35 %. Nicméně, přísnější předchozí limity (T a BMM, 0,04 a 3) prostřednictvím kvalifikovaného odhadu jsou v praxi užitečnější pro zlepšování MV.