

**Literatura**

- VELÍŠEK J. (1999): Chemie potravin 1, OSSIS Tábor, s. 215-216
- VIJN I., SMEEKENS S. (1999): Fructan: more than a reserve carbohydrate? *Plant Physiology*, 120 (2), s. 351-359.
- CRITTENDEN R.G., PLAYNE M. J. (1996): Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends in Food Science and Technology* 7 (11), s. 353-361.
- ROBERFRÖID M. B., VAN LOO J.A.E., GIBSON G.R. (1998): The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *The Journal of Nutrition* 128 (1), s.11-19.
- YUN J.W. (1996): Fructooligosaccharides - occurrence, preparation and application. *Enzyme and Microbial Technology* 19 (2), s. 107-117.
- GIBSON G.R., PROBERT H.M., VAN LOO J., RASTALL R.A., ROBERFRÖID M.B. (2004): Dietary Modulation of the Human Colonic Mikrobiota: Updating the concept Prebiotics. *Nutrition Research Review* 17, s. 259-275.
- SUCHÁNEK M. (1999): KVALIMETRIE 6. Stanovení nejistoty analytického měření. *EURACHEM-ČR*, Praha, druhé vydání.

Přijato do tisku 5. 11. 2010

Lektorováno 19. 11. 2010

## VÝBĚR BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ S PROBIOTICKÝMI VLASTNOSTMI

Šárka Horáčková, Kateřina Žaludová, Milada Pločková

Ústav technologie mléka a tuků, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT v Praze

### Selection of lactic acid bacteria with probiotic properties

#### Souhrn

Mezi nejvíce zkoumané mikroorganismy s probiotickými vlastnostmi patří zástupci rodu *Lactobacillus*. Cílem práce bylo porovnat charakteristiky vybraných kmenů rodu *Lactobacillus* spojené s probiotickými vlastnostmi ve srovnání s komerčním probiotickým kmenem *L. casei* Lafti L26. U testovaných kmenů byly zjištěny rozdíly v růstových vlastnostech v MRS bujónu i mléce, enzymatické a hemolytické aktivitě. Rozdíly v rezistenci k antibiotikům byly nevýrazné. Kmeny vykazovaly rozdílnou odolnost vůči nízkému pH a přítomnosti žlučových solí. Všechny kmeny byly schopny různého stupně adaptace k žlučovým solím po 24 h kultivaci. Významné rozdíly v přežívání buněk při nízkém pH byly zjištěny v případě izolovaných buněk a buněk kultivovaných v mléce. Jako nejodolnější k podmínkám trávicího traktu byl vyhodnocen kmen *L. acidophilus* CCDM 151.

**Klíčová slova:** probiotika, *Lactobacillus*, tolerance ke žluči, tolerance k pH, enzymatická aktivita, antibiotická rezistence

#### Abstract

*Lactobacilli* are widely used and studied as probiotic microorganisms. The aim of this study was to compare the

properties associated with probiotic characters of selected *Lactobacillus* strains in comparison with commercial strain *L. casei* Lafti L26. The differences in growth properties in MRS broth and milk, in enzymatic and haemolytic activities were found. The differences in antibiotic resistance were insignificant. The strains showed different resistance against low pH and against bile salt concentration. All strains were able to adapt to the presence of bile salt after 24 h incubation. A significant difference in survival under low pH was found for the isolated cells compared to cells cultivated in milk. The strain *L. acidophilus* CCDM 151 was evaluated as the most resistant to the conditions of the digestive tract.

**Key words:** probiotic, *Lactobacillus*, bile tolerance, pH tolerance, enzymatic activity, antibiotic resistance

#### Úvod

Vliv mikroorganismů obsažených ve fermentovaných mléčných produktech na zdraví člověka je studován již od přelomu 19. a 20. století, kdy jejich pozitivní účinky popsal jako první ruský vědec Ilja Mečnikov. Probiotika jsou v současné době definována jako živé mikroorganismy, které při konzumaci v dostatečném množství mají prokazatelně příznivý vliv na zdraví hostitele (Vasiljevic, Shah, 2008).

Aby mohl být určitý mikroorganismus potvrzen jako probiotický, musí splňovat řadu kritérií: od bezpečnostních (původ kmene, bez přítomnosti patogenních účinků či přenositelných genů rezistence k antibiotikům), přes funkční (přežívání prostředí trávicího traktu, zdravotní benefit pro hostitele) až po technologická (vhodnost pro danou technologii, stabilita při skladování) (Saarela a kol., 2000). Nejčastěji bývají studována kritéria týkající se přežívání daného mikroorganismu v gastrointestinálním traktu a zdravotní benefity, které mikroorganismus přináší svému hostiteli. Přežívání a toleranci podmínek trávicího traktu mohou napomáhat i média či "nosiče", které vytvářejí ochranné prostředí pro probiotika. K takovýmto médiím patří i mléčné výrobky, které jsou dnes již běžně obohacovány probiotickými kmeny. Tuto funkci plní také prebiotika - nestravitelné složky potravy, často sacharidického původu, která by měla selektivně napomáhat růstu žádaných mikroorganismu (Huebner a kol., 2007).

V současné době se hledají stále nové kmeny bakterií, které by splňovaly výše uvedená kritéria. Cílem práce bylo porovnat růstové a některé funkční vlastnosti vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení, které by bylo možné použít v dalším výzkumu jaké vhodné nosiče probiotických vlastností.

#### Materiál a metody

Použité mikroorganismy

- L. casei* Lafti L26 - DSM Food Specialities, Nizozemsko; gastrointestinální původ, komerční probiotický kmen
- L. acidophilus* CCDM 151 - sbírkový kmen, Laktoflora, MILCOM a.s.

**Tab. 1** Růst sledovaných laktobacilů v mléce (počet mikroorganismů, KTJ/ml) a dosažené pH

Doba kultivace Kmen	0 h		3 h		6 h		24 h	
	Počet	pH	Počet	pH	Počet	pH	Počet	pH
<i>L. casei</i> Lafti L26	$6,1 \cdot 10^6$	6,53	$2,0 \cdot 10^8$	6,28	$4,8 \cdot 10^8$	5,98	$1,8 \cdot 10^9$	4,77
<i>L. acidophilus</i> CCDM 151	$6,6 \cdot 10^7$	6,54	$3,4 \cdot 10^8$	6,30	$5,7 \cdot 10^8$	6,00	$3,7 \cdot 10^{10}$	4,34
<i>L. paracasei</i> ST68	$4,2 \cdot 10^7$	6,54	$7,2 \cdot 10^8$	6,29	$1,4 \cdot 10^9$	6,00	$1,8 \cdot 10^9$	5,21
<i>L. casei</i> CCDM 198	$9,3 \cdot 10^7$	6,54	$1,5 \cdot 10^8$	6,30	$6,3 \cdot 10^8$	6,03	$2,5 \cdot 10^9$	5,09
<i>L. rhamnosus</i> CCDM 150	$5,8 \cdot 10^7$	6,54	$4,5 \cdot 10^8$	6,30	$3,1 \cdot 10^9$	6,04	$2,6 \cdot 10^9$	5,33

*L. casei* CCDM 198 - sbírkový kmen, Laktoflora, MIL-COM a.s.

*L. rhamnosus* CCDM 150 - sbírkový kmen, Laktoflora, MILCOS a.s.

*L. paracasei* ST 68 - VŠCHT Praha, Ústav technologie mléka a tuku; izolát ze syra eidamského typu

Kmeny byly kultivovány při teplotě 37 °C v atmosféře CO<sub>2</sub> (4%), pro stanovení počtu (KTJ/ml) na MRS agaru (Merck, Německo) po dobu 48 hodin. Růst v mléce byl zjišťován plotnovou metodou na MRS agaru. Aktivní kyselost byla měřena na pH metru (3020 pH Meter, Jenway, Velká Británie) se skleněnou elektrodou při pokojové teplotě. Hemolytická aktivita kmenů byla testována kultivací na krevním agaru (Merck) při 37 °C po dobu 48 h. Pozitivní reakce se projevila vytvořením žluté zóny kolem kolonií (α-hemolýza). Rezistence kmenů laktobacilů k antibiotikům byla stanovena pomocí antibiotestů Micronaut - S MRSA/IFSG Gram+ (Merlin Diagnostika, Německo) dle návodu výrobce; enzymová aktivita pomocí API-ZYM testu (BioMerieux, Francie).

Tolerance laktobacilů k nízkému pH v bujónu a v mléce byla stanovena metodou dle Noriegy a kol. (2004): odstředěné buňky (po kultivaci 16 h, MRS bujón, 37 °C, atmosféra CO<sub>2</sub>) byly přeneseny do MRS bujónu o pH 2 a inkubovány po dobu 2 hodin při teplotě 37 °C v atmosféře CO<sub>2</sub>. V mléce byly jednotlivé kmeny kultivovány stejným způsobem, pH zakysaného mléka bylo upraveno přímo na hodnotu pH 2. Pokles počtu živých buněk zjištěn pomocí plotnové metody. Výsledky jsou průměrem ze dvou stanovení.

Pro stanovení tolerance ke žlučovým solím (Burns a kol., 2008) byl použit MRS bujón s obsahem žlučových solí (sodná sůl kyseliny tauroglykocholeové, Merck) 0; 0,3; 0,5 a 1 % (w/v), pH 6,6. Tato média byla zaočkována čerstvou kulturou (1 % inokulum) a v časech 2, 4, 7 a 24 h byla měřena absorbance při vlnové délce 560 nm. Výsledky se vyhodnocovaly jako procentuální růst vzhledem ke kontrolní kultuře (0 % žlučových solí). Stanovení se provádělo třikrát a výsledky byly statisticky zpracovány za použití Dean-Dixonova testu.

## Výsledky a diskuse

Všechny sledované kmeny vykazovaly dobrý růst v mléce (Tab. 1.), během 24 h kultivace došlo k nárůstu asi o 2 - 3 řády KTJ/ml. Rozdíly jsou patrné v dosaženém pH, nejnižší hodnoty byly zjištěny u kmenů *L. acidophilus* CCDM 151 a *L. casei* Lafti L26.

Studované kmeny byly charakterizovány z hlediska hemolytické aktivity, enzymové aktivity a rezistence vůči antibiotikům.

Z testovaných kmenů pouze *L. casei* Lafti L26 a *Lbc. acidophilus* CCDM 151 vykazovaly po kultivaci na krevním agaru α-hemolytickou aktivitu. Řada autorů rovněž potvrzuje zjištění α-hemolytické aktivity u zástupců rodu *Lactobacillus* (Maragoudakis a kol., 2006), která se jeví jako kmenově specifická vlastnost.

Pro stanovení enzymatické aktivity laktobacilů byly použity API-ZYM testy. Znalost přítomnosti a aktivity enzymů u bakterií může napomáhat při volbě vhodné kultury v potravinářské technologii. U každého z testovaných kmenů bylo zjištěno několik aktivních enzymů, které štěpí sacharidické vazby. Aktivita těchto enzymů potvrzuje, že tyto kmeny mohou mít schopnost využívat substráty obsahující složitější sacharidy (např. prebiotika). Odlišnosti v enzymových aktivitách byly zaznamenány u kmene *L. rhamnosus* CCDM 150, který jako jediný nevykazoval aktivitu α-glukosidasy. *L. acidophilus* CCDM 151 vykazoval aktivitu trypsinu i chymotrypsinu, *L. casei* LAFTI L26 aktivitu chymotrypsinu, u ostatních kmenů nebyly tyto dva enzymy aktivní. Další odlišností *L. acidophilus* CCDM 151 byla neaktivní α-galaktosidasa. Aktivita enzymu α-galaktosidasy je významná například pro výrobu fermentovaných sojových nápojů (Yoon, Hwang; 2008).

Pro zjištění schopnosti rezistence k různým antibiotikům byl použit antibiotest MICRONAUT - S MRSA/IFSG Gram+. Získané výsledky potvrdily, že testované kmeny

**Tab. 2** Stanovení tolerance izolovaných buněk laktobacilů k pH 2 v prostředí MRS bujónu po 2 h inkubace

Kmen	Původní počet [KTJ/ml]	Počet po inkubaci v pH 2 [KTJ/ml]
<i>L. casei</i> LAFTI L26	$1,8 \cdot 10^{12}$	$1,6 \cdot 10^7$
<i>L. acidophilus</i> CCDM 151	$1,2 \cdot 10^{10}$	$1,4 \cdot 10^8$
<i>L. paracasei</i> ST68	$3,2 \cdot 10^{11}$	$2,3 \cdot 10^7$
<i>L. casei</i> CCDM 198	$1,0 \cdot 10^{10}$	$4,8 \cdot 10^5$
<i>L. rhamnosus</i> CCDM 150	$9,1 \cdot 10^{10}$	$8,1 \cdot 10^7$

**Tab. 3** Stanovení tolerance izolovaných buněk laktobacilů k pH 2 v prostředí MRS bujónu po 2 h inkubace

Kmen	Původní počet [KTJ/ml]	Počet po inkubaci v pH 2 [KTJ/ml]
<i>L. casei</i> LAFTI L26	$1,5 \cdot 10^9$	$1,1 \cdot 10^7$
<i>L. acidophilus</i> CCDM 151	$9,9 \cdot 10^8$	$5,1 \cdot 10^7$
<i>L. paracasei</i> ST68	$1,2 \cdot 10^9$	$4,6 \cdot 10^7$
<i>L. casei</i> CCDM 198	$7,8 \cdot 10^8$	$3,6 \cdot 10^7$
<i>L. rhamnosus</i> CCDM 150	$1,1 \cdot 10^9$	$8,5 \cdot 10^6$

Tab. 4 Stanovení tolerance laktobacilů ke žlučovým solím (v % vůči kontrolní kultivaci)

Koncentrace žluč. solí	0,30%			0,50%			1,0%		
	2 h	4 h	24 h	2 h	4 h	24 h	2 h	4 h	24 h
<i>L. casei</i> Lafti L26	89,4	43,5	66,9	80,3	51,9	57,1	57,4	30,2	40,5
<i>L. acidophilus</i> CCDM 151	55,5	32,0	85,4	68,9	32,2	83,4	31,1	6,2	73,5
<i>L. paracasei</i> ST68	58,2	28,9	97,9	44,1	21,6	85,6	33,7	6,7	76,8
<i>L. casei</i> CCDM 198	78,8	38,0	100,8	50,6	24,3	87,3	35,9	7,2	75,1
<i>L. rhamnosus</i> CCDM 150	88,6	34,0	101,5	60,4	23,8	88,3	17,3	7,4	75,8

jsou citlivé k  $\beta$ -laktamovým antibiotikům (penicilin, ampicilin, cefotaxin), naopak rezistence se projevila vůči teicoplaninu, vankomycinu, fosfomycinu, linezolidu, kyselině fusidinové. Ke gentamycinu byla rezistence pozorována pouze v nízkých koncentracích (0,5 - 8  $\mu\text{g/ml}$ ), při vysoké koncentraci (500  $\mu\text{g/ml}$ ) byla zjištěna senzitivita. Podobné výsledky získal ve své práci Zhou a kol. (2005) pro kmeny *L. rhamnosus* HN001, HN067 a GG, *L. acidophilus* HN017 a La1. K vankomycinu byl rezistentní i homofermentativní kmen *L. acidophilus* CCDM 151, u něhož byla očekávána senzitivita vzhledem k používání médií s vankomycinem pro selektivní stanovení růstu heterofermentativních laktobacilů (Coeuret a kol., 2004). Rozdíly v rezistenci vůči různým antibiotikům mezi jednotlivými testovanými kmeny nebyly významné.

Rezistence k antibiotikům, pokud se nejedná o přenositelnou formu, může být výhodou pro daný mikroorganismus i hostitele. Například mohou tyto kmeny pomoci v případech, kdy dochází k narušení rovnováhy střevní mikroflóry či rozsáhlejšímu snížení počtů mikroorganismů ve střevě podáváním bakteriostatických léčiv či antibiotik. Takovéto kmeny tyto kritické podmínky přežijí a rekonvalescence (znovuustavení rovnováhy ve střevě) je pak rychlejší a snazší (Zhou a kol., 2005). Přenositelná forma rezistence je naopak nežádoucí, neboť může docházet k rozšíření rezistence na větší spektrum (i patogenních) mikroorganismů a k následnému ztížení léčby antibiotiky (Robredo a kol., 2000). Toto nebezpečí se týká zejména enterokoků, jejichž některé kmeny druhů *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* vykazují také probiotické vlastnosti (Klein, 2003).

Dalšími testovanými parametry bylo přežívání mikroorganismů za podmínek, se kterými se setkávají při průchodu trávicím traktem člověka. Tolerance laktobacilů k nízkému pH (pH 2) byla měřena jak v prostředí MRS bujónu (Tab. 2), tak v prostředí mléka (Tab. 3). Z výsledků je patrné, že zatímco u samostatných buněk, které byly přeneseny do prostředí s nízkým pH, došlo k úbytku buněk až o 5 řádů KTJ/ml, v prostředí mléka je tento úbytek pouze o 2 řády. Srovnatelné výsledky s izolovanými buňkami získal i Vinderola a Reinheimer (2003).

Koncentrace žlučových solí se v trávicím traktu mění, a tak byly pro testování odolnosti vůči sodné soli kyseliny tauroglykocholové zvoleny koncentrace 0; 0,3; 0,5 a 1,0% w/v. Výsledky byly vyjádřeny v % proti hodnotě zjištěné v médiu s nulovou koncentrací žlučové soli (Tab. 4).

Z tab. 4 je patrné, že se zvyšující se koncentrací žlučových solí klesá odolnost laktobacilů po 2 i 4 h kultiva-

vace. Při tomto pokusu však byla prodloužena doba kultivace až na 24 h. Bylo zjištěno, že všechny testované laktobacily mají schopnost se adaptovat v prostředí žlučových solí a dosahují po této době v některých případech podobného nárůstu jako kontrolní kultury. Tato adaptační schopnost byla zjištěna nejnižší u *L. casei* Lafti L26, u kterého byl po 24 h při koncentraci 1% žlučových solí zaznamenán pouze 40 % nárůst vůči kontrolnímu vzorku, na rozdíl od ostatních kmenů, kde bylo dosaženo asi 75% nárůstu ve srovnání s kontrolním vzorkem. Vlivu různých koncentrací žlučových solí na inhibici růstu mikroorganismů se zabývá řada vědeckých prací (Burns a kol., 2008; Guglielmotti a kol., 2007). Autoři uvádějí většinou expozici žlučovými solemi do 3 - 4 hodin. Pouze v práci Vinderola a Reinheimer (2003) byly nalezeny srovnatelné výsledky pro dobu kultivace 24 h. Delší expozice prostředí se žlučovými solemi dává přesnější představu o možnosti přežívání v tenkém střevě. Lze také předpokládat, že v další části traktu, kde již žlučové sole nepůsobí, dochází k obnově normálního růstu.

Získané výsledky prokázaly rozdílnost vlastností vybraných kmenů laktobacilů. Bylo potvrzeno, že mléko může působit jako ochranné médium pro mikroorganismy při průchodu trávicím traktem a že jednotlivé kmeny jsou schopny adaptace pro růst v prostředí s obsahem žlučových solí. Z hlediska růstových vlastností a odolnosti vůči podmínkám trávicího traktu byl jako nejlepší v porovnání s komerčním probiotickým kmenem *L. casei* Lafti L26 vyhodnocen kmen *L. acidophilus* CCDM 151, dobrých výsledků bylo dosaženo i u kmene *L. casei* CCDM 198.

Práce byla podpořena grantem Ministerstva zemědělství ČR č. QI101B090.

#### Literatura

- BURNS P., VIDEROLA G., BINETTI A., QUIBERONI A., DE LOS REYES-GAVILÁN C.G., REINHEIMER J.: Bile-resistant derivatives from non-intestinal dairy lactobacilli. *Int. Dairy J.* 18, s. 377-385 (2008).
- COEURET V., GUEGUEN M., VERNOUX J.P.: Numbers and strains of lactobacilli in some probiotic products. *Int. J. Food Microbiol.* 97, s. 147-156 (2004).
- GUGLIELMOTTI D., MARCÓ M.B., GOLOWCZYC M., REINHEIMER J.A., DEL L. QUIBERONI A.: Probiotic potential of *Lactobacillus delbrueckii* strains and their phage resistant mutants. *Int. Dairy J.* 17, 916-925 (2007).
- HUEBNER J., WEHLIG R.L., HUTKINS R.W.: Functional activity of commercial probiotics. *Int. Dairy J.* 17, 770-775 (2007).
- KLEIN G.: Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int. J. Food Microbiol.* 88, 123-131 (2003).
- MARAGKOUAKIS P.A., ZOUMPOPOULOU G., MIARIS CH., KALANZOPOULOS G., POT B., TSAKALIDOU E.: Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *Int. Dairy J.* 16, 189-199 (2006).

- NORIEGA L., GUEIMONDE M., SÁNCHEZ B., MARGOLLES A., DE LOS REYES-GAVILÁN C.G.: Effect of the adaptation to high bile salts concentrations on glycosidic activity, survival at low pH and cross-resistance to bile salts in *Bifidobacterium*. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 79-86 (2004).
- ROBREDO B., SINGH K.V., BAQUERO R., MURRAY B.E., TORRES C.: Vancomycin-resistant enterococci isolated from animals and food. *Int. Food Microbiol.* 54, 197-204 (2000).
- SAARELA M., MORGENSEN G., FONDÉN R., MÄTTÖ J., MATTILA-SANDHOLM T.: Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.* 84, 197-215 (2000).
- VASILJEVIC T., SHAH N.P.: Probiotics - From Metchnikoff to bioactives. *Int. Dairy J.* 18, 714-728 (2008).
- 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 Res. Int.* 36, 895-904 (2003).
- YOON M.Y., HWANG H.-J.: Reduction of soybean oligosaccharides and properties of  $\alpha$ -D-galactosidase from *Lactobacillus curvatus* R08 and *Leuconostoc mesenteroides* JK55. *Food Microbiol.* 25, 815-823 (2008).
- ZHOU J.S., PILLIDGE C.J., GOPAL P.K., GILL H.S.: Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Int. J. Food Microbiol.* 98, 211-217 (2005).

Přijato do tisku 27. 10. 2010

Lektorováno 4. 11. 2010

## HYGIENICKÁ KVALITA MLÉKA V EKOLOGICKÝCH CHOVECH ČR

R. Seydlová, MILCOM a. s.

### Hygienic milk quality in ecological farm

#### Abstrakt

Mikrobiologická a bakteriologická kvalita mléka je důležitá nejenom z hlediska obsahových složek a nutriční kvality mléka, ale i z hlediska ochrany zdraví lidské populace. Nehygienické dojení a nehygienická manipulace s mlékem po podojení včetně bakteriálních zánětů mléčné žlázy jednoznačně zvyšují bakteriální počty v mléce. Proto kontrola hygienické kvality mléka je naprosto nezbytná. Cílem této studie bylo porovnat bakteriologické hodnoty mléka z konvenčního a ekologického systému hospodaření se standardy. Celkem bylo odebráno 302 individuálních vzorků mléka dojnic suspektních na mastitidu ze 3 ekologických farem v období od dubna do října. Vzorky mléka pocházely od dojnic v různém laktačním stadiu. Výsledky prokázaly, že *Staphylococcus aureus* je patogenem, který se vyskytuje jak v mléce z ekologických tak konvenčních farem. Hygienická kvalita ekologického mléka jako celku však dosahuje vyšší úrovně než hygienická kvalita mléka z konvenčního systému hospodaření.

#### Abstract

Microbiology and bacteriology raw milk quality is of high importance for its nutrition value and human health safety. Nonhygienic milking, nonhygienic handling with

milk after milking and udder inflammation caused by bacteria increase the total bacterial counts. Hygienic milk quality control is mandatory especially in farm milk with the goal to reach hygienic standards. The aim of this study was to compare bacteriological results of milk from conventional and ecological farm system with the standards. We collected 302 individual samples of cow's milk from 3 ecological farms during the period from April to October. All cows were suspected to have mastitis. Milk samples originated from animals from different lactation phase. Based on the presented results it can be concluded that the pathogen *Staphylococcus aureus* is the most abundant one both in farm and conventional milk. On the whole, hygienic quality of farm milk reaches much higher level than milk from conventional system of agriculture.

#### Úvod

Hygienická kvalita syrového mléka je základní indikátor požadavků v mlékárenském průmyslu na mléčnou surovinu (Kirin, 2001). Vstupní mikrobiologická kvalita syrového mléka je velmi důležitým faktorem pro kvalitu finálních výrobků, pro jejich nutriční hodnotu a zabezpečení zdraví lidské populace. V minulosti byl kontrolován zejména mléčný tuk. V současné době vedle obsahu tuku je sledován obsah bílkovin, celkový počet mezofilních mikroorganismů a počet somatických buněk. Všechny tyto hodnoty se podílejí na ekonomice výroby a zpracování mléka.

Hygienická kvalita mléka je jedním ze základních atributů kvality mléka vedle látkového složení a obsahu specifických složek jako jsou vitamíny, minerální a bioaktivní látky. Je v zásadě určována úrovní celkového počtu mezofilních mikroorganismů, počtu somatických buněk a nálezy diagnostikovaných patogenů. Mikroorganismy z vnějšího prostředí mají možnost kontaminovat mléčnou žlázu, de facto mléko, mnoha cestami. Nejčastějším zdrojem kontaminace je povrch mléčné žlázy, ruce a oblečení obsluhy dojíren, samotné dojící jednotky, přisávaný vzduch do systému a technologická voda (Piton and Richard, 1985). Největší množství mikroorganismů však proniká do mléčné žlázy strukovým kanálkem.

Nehygienické dojení, nehygienická manipulace s mlékem po podojení, nevhodné skladování a vzplanutí bakteriálních mastitid zvyšují celkové množství bakterií v 1 mililitru mléka až na hodnoty 107 (Ariznabareta et al., 2002). Proto je naprosto nezbytná kontrola hygienické kvality mléka od prvovýroby až po zpracování.

Mikroorganismy způsobující záněty mléčné žlázy, mastitidy, jsou rozdělovány do dvou hlavních skupin podle původu, a to environmentální a kontagiózní (Thomson, 2000) nebo podle diferenciálního barvení dle Gramma na grampozitivní a gramnegativní.

Produkcí biomléka a jeho finalizaci je nutné chápat jako návrat k přírodě a jejím přirozeným zdrojům. Optima by bylo dosaženo, pokud by se podařilo skloubit výživové hodnoty biomléka s maximálně dosažitelnými parametry jeho hygienické kvality.