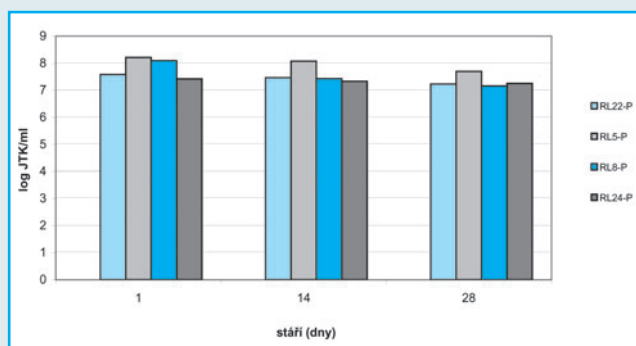


Obr. 2 Změny v obsahu živých buněk probiotických kmenů laktobacilů stanovené na RCA55 agaru během skladování kefiru po dobu 28 dní při 4-6 °C

ových substrátů potřebných pro růst kvasinek nebo inhibičním působením metabolitů produkovaných laktobacily - bakteriociny, kyselina 3-fenylmléčná (Lacroix a kol., 2008, Bayrock a Ingledew, 2004).

Positivní vliv na senzoričké vlastnosti kefiru měly zejména kmeny *Lactobacillus acidophilus* RL22-P a *Lactobacillus plantarum* RL26-P. Výrazně negativní vliv na senzoričké vlastnosti nebyl pozorován u žádného z testovaných kmenů laktobacilů.



Obr. 3 Změny v obsahu živých buněk kvasinek stanovené na GKCH agaru během skladování kefiru po dobu 28 dní při 4-6 °C

Závěr

Všechny testované probiotické kmeny laktobacilů byly schopné přežít v počtech vyšších než 10^6 JTK/ml po celou dobu skladování. U testovaných kmenů laktobacilů nebyl pozorován výrazně negativní vliv na senzoričké vlastnosti kefirového nápoje.

Pro výrobu kefirového nápoje obohaceného probiotickými kmeny by mohly být použité všechny testované kmeny laktobacilů, jelikož přežívaly v dostatečně vysokých počtech po 28 dnech skladování při teplotě 4-6 °C a negativně neovlivňovaly senzoričké vlastnosti kefirového nápoje.

Poděkování:

Tato práce vznikla díky finanční podpoře Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy v rámci grantu 2B06053 a výzkumného záměru MSM 2672286101.

Literatura

- WARMINSKA-RADYKO, I., LANIEWSKA-MOROZ, L., BABUCHOWSKI, A.: Possibilities for stimulation of *Bifidobacterium* growth by propionibacteria. *Lait*, 82, s. 113 - 121 (2002).
- FARNWORTH, E., R.: Kefir - a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Funct. Food 2*, s. 1 - 17 (2005).
- NEDOPILOVÁ, R.: Použití čistých mléčkárenských kultur při výrobě zakysaných výrobků. UTB Zlín (2008). [Bakalářská práce] .32 s.
- TAMIME, A., Y.: Probiotic dairy products. Blackwell Publishing, Oxford, 215 s. (2005).
- ISOLINI, D., GRAND, M., GLÄTTLI, H.: Selektive medium zum Nachweis von obligat. und fakultativ. heterofermentativen Laktobazillen. *Schweiz. Milchw. Forschung*, 19, s.57 - 59 (1996).
- THIERRY, A., MADEC M.,N.: Enumeration of propionibacteria in raw milk using a new selective medium. *Lait*, 75, s. 315 - 323 (1995).
- LACROIX, C., TRUTTMANN, S., JANS, C., SPORNOLI, C., BIGLER, L., MEILE, L.: Characterization of low-molecular-weight antiyeast metabolites produced by a food-protective *Lactobacillus-Propionibacterium* coculture. *J. Food Prot.*, 71, s. 2481-7 (2008).
- BAYROCK, D.P., INGLEDEW W.M.: Inhibition of yeast by lactic acid bacteria in continuous culture: nutrient depletion and/or acid toxicity? *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 31, s. 362-8 (2004).

Přijato do tisku 27. 10. 2010

Lektorováno 18. 11. 2010

VLIV ZPŮSOBU DOJENÍ A PŘÍPRAVY MLÉČNÉ ŽLÁZY NA MIKROBIOLOGICKÉ A CHEMICKÉ PARAMETRY DOJNÝCH OVCÍ

Švejcarová M.¹, Elich O.¹, Pechačová M.², Zainab A.¹, Malá G.³

¹ - Výzkumný ústav mléčkárenský s.r.o., Praha

² - MILCOM a.s., Praha

³ - Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Praha

The effect of milking way and treatment of lacteal gland and on microbiological and chemical parameters of sheep milk

Abstrakt

Na třech farmách byla sledována v průběhu laktace variabilita mikrobiologických a chemických parametrů ovčího mléka. Byly hodnoceny vzorky individuální a bazénové. Z mikrobiologických ukazatelů byly sledovány celkové počty mikroorganismů (CPM), koliformní bakterie (CB), *Escherichia coli* (*E. coli*), kvasinky a plísně. Byla sledována úroveň kvality ustájení (spady) a hygiena vemene před dojením (stěry s povrchu struků). Z chemických parametrů byly hodnoceny celkový obsah tuku, bílkovin, kaseinu, laktózy a tukuprosté sušiny na přístroji MilkoScan FT2.

Abstract

The variability of microbiological and chemical parameters of sheep milk during lactation was monitored on

Tab. I Průměrné procentuální zastoupení density celkového počtu mikroorganismů v 1 ml mléka u jednotlivých farem

CPM/ 1 ml	Počet vzorků	<100	10 ² -10 ³	10 ³ - 10 ⁴	10 ⁴ - 10 ⁵	10 ⁵ - 10 ⁶	10 ⁶ - 1,5*10 ⁶	>1,5*10 ⁶
Farma II.	163	2%	27%	15%	2%	31%	9%	13%
Farma I.	147	4%	20%	50%	19%	6%	-	-
Farma III.	80	4%	31%	24%	16%	15%	4%	6%

3 farms. Individual samples as well as tank ones were evaluated. Total bacterial count (TBC), coliform bacteria (CB), *Escherichia coli* (*E. coli*), yeasts and moulds were the main microbiological parameters. The quality of stables and hygiene of udders prior to milking were monitored. Total fat, casein, protein, lactose and solids non fat concentrations were the chemical parameters determined using the MilkoScan FT2 equipment.

Úvod

Mléko jako plnohodnotná potravina je přirozeným zdrojem živin a energie. Ovčí mléko je kaseinové, má vysoký obsah bílkovin, tuku a minerálních látek. Proto je toto mléko velmi dobrou vstupní surovinou pro výrobu sýrů a fermentovaných výrobků bez přídavku sušeného kravského mléka, zahušťovadel a stabilizátorů.

Kvalita mléka závisí na jeho získávání, způsobu ustájení a ošetření v prvovýrobě. Velký vliv na zdravotní stav zvířete má kvalita krmné dávky. Při posuzování mléka jako suroviny k dalšímu technologickému zpracování se klade důraz na mikrobiologické parametry. Druhové zastoupení mikroorganismů výrazně ovlivňuje hygiena vemene, zdravotní stav, kvalita krmné dávky a teplota skladování. Z látkového složení mléka je důležitým faktorem obsah bílkovin, tuku a tukuprosté sušiny.

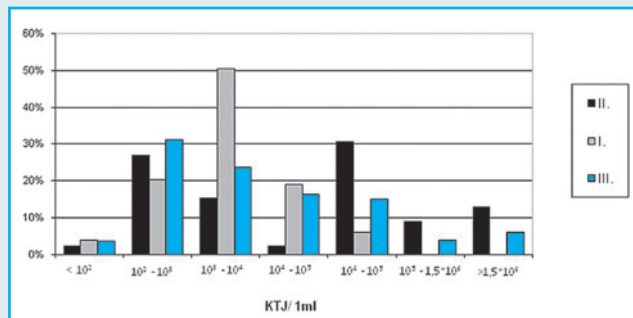
Materiál a metody

V průběhu laktace ovcí (duben až říjen) byly na třech farmách prováděny odběry individuálních a bazénových vzorků mléka. Na farmě I chováno 122 bahnic, které byly po celé vegetační období dojeny na pastvině ve stacionární dojárně. Při ošetření struků před dojením byla použita suchá toaleta vemene. Na farmě II chováno 154 bahnic na pastvinách. Tyto bahnice byly dojeny v dojárně v uzavřeném objektu. Struky před dojením byly ošetřeny zvlhčenou papírovou utěrkou. Na farmě III chováno 344 kříženek. Ovce umístěné v pastevním areálu byly dojeny v mobilní kruhové dojárně. Struky byly ošetřeny zvlhčenou papírovou utěrkou.

Plotnovými metodami byly stanoveny následující skupiny mikroorganismů: celkový počet MO (CPM), koliformní bakterie (CB), *Escherichia coli* (*E. coli*), kvasinky a plísně.

Tab. II Procentuální zastoupení density CPM na 1 cm² plochy struku

Chov	Měsíc odběru	Počet vzorků	<10	10 ¹ - 10 ²	10 ² - 10 ³	10 ³ - 10 ⁴	10 ⁴ - 10 ⁵	10 ⁵ - 10 ⁶
II.	5	32	-	3%	13%	41%	41%	3%
II.	8	24	-	-	42%	54%	4%	-
III.	6	24	-	-	21%	79%	-	-
III.	8	24	-	4%	33%	63%	-	-
I.	9	24	-	4%	75%	21%	-	-

**Graf 1** Procentuální zastoupení CPM na jednotlivých farmách

Rozbory byly provedeny v souladu s normou ČSN ISO. Metodou spadů na Petriho miskách s příslušnou agarovou půdou byla hodnocena kvalita ovzduší před dojením. Vyhodnocením stěrů z povrchové kůže struků byla sledována hygiena vemene. K odběru vzorků s povrchu struků byly použity transportní stěry. Stanovení látkového složení (bílkoviny, tuk a tukuprostá sušina) bylo provedeno na přístroji MilkoScan FT2.

V průběhu celé laktace bylo vyhodnoceno na mikrobiologické parametry 394 vzorků a u 380 vzorků mléka stanoveno látkové složení. Dále bylo provedeno 128 odběrů stěrů ze struků a 45 krát vyhodnoceny spady z ovzduší. (Kontrolní spad - 10 m od testované lokality)

Výsledky a diskuse

Z výsledků mikrobiologických rozborů vzorků mléka je možné konstatovat:

- Nejlepších výsledků CPM (limit 1,5x10⁶ KTJ/ 1 ml, nařízení ES 853/2004) dosaženo na farmě III, zde pouze u 6 % vzorků detekovány hodnoty řádově 10⁵-10⁶ KTJ/ 1 ml. Limit ES nebyl u žádného z testovaných vzorků překročen. Na farmě I 6 % vzorků nesplňuje stanovené parametry. Nejhorších výsledků bylo dosaženo na farmě II, kde u 30 % vzorků detekovány CPM řádově 10⁵-10⁶ KTJ/ 1 ml a u 13 % vzorků byl překročen limit EU.

Z výsledků stanovení koliformních bakterií (CB) lze vyvodit následující závěry:

- Nejlepších výsledků bylo dosaženo na farmě I a III, zde u 80 % vzorků byly detekovány hodnoty CB řádově

Tab. III Procentuální zastoupení denzity koliformních bakterií na 1 cm² plochy struku

Chov	Měsíc odběru	Počet vzorků	<10	10 ¹ - 10 ²	10 ² - 10 ³	10 ³ - 10 ⁴
II.	5	32	91%	6%	3%	-
II.	8	24	50%	21%	25%	4%
III.	6	24	96%	4%	-	-
III.	8	24	100%	-	-	-
I.	9	24	88%	13%	-	-

Tab. VI. Procentuální zastoupení denzity kvasinek na 1 cm² plochy struku

Chov	Měsíc odběru	Počet vzorků	<10	10 ¹ - 10 ²	10 ² - 10 ³	10 ³ - 10 ⁴
II.	5	32	63%	25%	13%	-
II.	8	24	8%	75%	17%	-
III.	6	24	4%	75%	21%	-
III.	8	24	79%	21%	-	-
I.	9	24	58%	42%	-	-

Tab. VI. Procentuální zastoupení denzity kvasinek na 1 cm² plochy struku

Chov	Měsíc odběru	Počet vzorků	<10	10 ¹ - 10 ²	10 ² - 10 ³	10 ³ - 10 ⁴
II.	5	32	63%	25%	13%	-
II.	8	24	8%	75%	17%	-
III.	6	24	4%	75%	21%	-
III.	8	24	79%	21%	-	-
I.	9	24	58%	42%	-	-

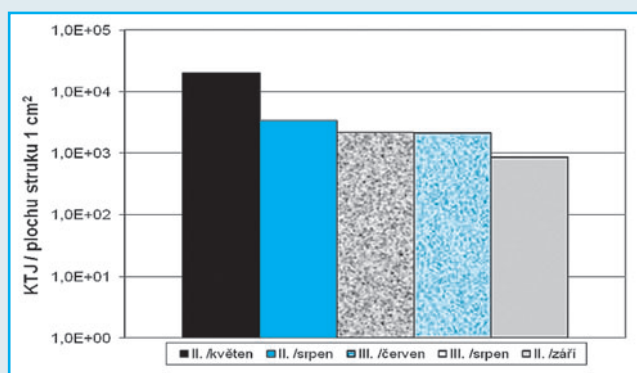
10² KTJ/ 1 ml. Nejhorší výsledky byly zjištěny na farmě II, kde u 20 % vzorků byly detekovány CB v denzitě vyšší než 10⁴ KTJ/ 1 ml. Nejhorší výsledky byly naměřeny v období letních měsíců, kdy vysoké teploty stimulují růst těchto bakterií a mléčná žláza je náchylnější k zánětlivým procesům.

Z výsledků hodnocení *Escherichia coli* je patrné:

- Nejhorších výsledků bylo opět dosaženo na farmě II (v letních měsících). Nejlepších výsledky byly zjištěny na farmě III, kde u 96 % vzorků byly detekovány hodnoty do 10 KTJ/ 1ml.

Z výsledků hodnocení hygieny struků pomocí stěrů jsou tyto závěry:

- Mezi oběma struky není v hodnotách CPM významný rozdíl. Při detekci koliformních bakterií a kvasinek se

**Graf 2** Průměrné hodnoty denzity CPM při jednotlivých odběrech**Tab. VI-VIII** Látkové složení v průběhu laktace - průměrné hodnoty v %

FARMA I					
odběr	tuk	bílkoviny	TPS	laktóza	kasein
16.6.	5,70	4,81	10,46	5,14	3,71
27.7.	6,33	5,31	10,81	4,93	4,11
8.9.	7,32	6,45	11,51	4,57	4,52
6.10.	6,24	7,28	12,27	-	-

FARMA II					
odběr	tuk	bílkoviny	TPS	laktóza	kasein
20.4.	3,93	5,06	10,57	5,09	3,86
19.5.	5,06	5,49	10,94	5,00	4,11
23.6.	5,81	5,61	11,08	4,99	4,19
14.7.	6,01	5,29	10,58	4,84	3,96
11.8.	5,41	5,53	10,60	4,78	4,07
15.9.	7,23	6,30	11,58	4,83	4,53

FARMA III					
odběr	tuk	bílkoviny	TPS	laktóza	kasein
21.5.	5,83	5,51	10,87	4,86	4,07
9.6.	6,98	5,40	10,86	4,86	4,07
22.6.	7,05	5,60	10,90	4,71	4,11
21.7.	8,70	5,83	11,08	4,55	4,25
13.8.	8,56	5,96	11,11	4,57	4,37

významný rozdíl projevil. S největší pravděpodobností zvýšené hodnoty CB a kvasinek signalizují možný zánětlivý proces struku. V podzimním období byly ve stěrech zjištěny zvýšené hodnoty plísní. Nejlepší hygieny vemene bylo dosaženo na farmě I a nejhorších na farmě II.

Z výsledků hodnocení kvality ovzduší lze konstatovat:

- Nejvyšší hodnoty CPM byly detekovány na farmě II. Naměřené výsledky korespondují s tím, že tato farma má nejhorší výsledky při kontrole hygieny vemene (stěry). Na této farmě byly opakovaně zjištěny vysoké počty sporulujících bakterií rodu *Bacillus*. Bakterie rodu *Bacillus* negativně ovlivňují kvalitu mléka jako suroviny v průběhu zpracování. Dále na farmě II byly opakovaně detekovány kvasinky rodu *Rhodotorulla*, která je podmíněný patogen při zánětlivých procesech. Na farmách I a III nebyla v průběhu sledování tato kvasinka zjištěna. Nejvyšší denzity plísní ve spadech bylo dosaženo na farmě I (dojení na pastvině), ale dobrou úroveň hygieny vemene při dojení nebyla kvalita mléka negativně ovlivněna.

Z výsledků látkového složení lze usoudit:

- Během jednotlivých odběrů byla u jednotlivých ovcí na všech sledovaných farmách zaznamenána stoupající tendence všech sledovaných složek vyjma laktózy. Průběh základních ukazatelů kvality ovčího mléka v průběhu laktace byl shodný s Dragounová a Hejtmánková (2006).

Závěr

Z výsledků šetření mikrobiologických parametrů a základních chemických ukazatelů na třech sledovaných farmách po celou dobu laktace je možné vyvodit následující závěry:

Mikrobiologická kvalita syrového mléka je nejvíce závislá na způsobu dojení, na kvalitní hygieně vemene před dojením a na zdravotním stavu ovcí. Průběh laktace nemá na sledování mikrobiologických parametrů vliv. Při hodnocení látkového složení mléka byl zjištěn zvyšující se obsah tuku, bílkovin, kaseinu a tukuprosté sušiny. Obsah kaltozy v průběhu laktace klesal.

Ze zjištěných CPM se prokázalo, že je reálné limit CPM $1,5 \cdot 10^6$ KTJ/ 1 ml dle Nařízení ES 853/2004 splnit i na malých farmách. Je k tomu důležité zajistit kvalitní hygienu vemene, krmné dávky a vyloučit nemocná zvířata. Nadojené mléko je nutné co nejrychleji zchladit na teplotu 4°C. Splnění výše uvedených požadavků vede ke z kvalitnění vstupní suroviny pro další technologické zpracování ovčího mléka na farmách.

Poděkování

Práce byla podporována prostředky projektu MZe QH72286 a výzkumným záměrem MSM 2672286101.

Literatura je k dispozici u autorů.

Přijato do tisku 11. 11. 2010

Lektorováno 23. 11. 2010

OVĚŘENÍ SELEKTIVITY MUPIROCINU PRO STANOVENÍ BIFIDOBACTERIÍ

L. Volná², L. Dymáčková¹, I. Lacmanová¹, V. Dráb²

¹ MILCOM a.s., Praha

² Výzkumný ústav mlékárenský, s.r.o., Praha

Checking on mupirocin selectivity for bifidobacterium determination

Abstrakt

Vliv mupirocinu na 21 typových kmenů bifidobakterií byl stanoven na půdách ARC, ARCP a TOS. Počty kolonie tvořících jednotek byly na třech porovnávaných půdách srovnatelné na hladině významnosti 95 % s výjimkou kmene *Bifidobacterium gallicum* LMG 11596^T, jehož růst byl na půdě ARCP slabší. Kmen *Bifidobacterium animalis* ssp. *animalis* CCM 4988^T prokázal dobrou růstovou schopnost pouze na půdě TOS. Při pozorování vlivu mupirocinu byl stanoven mírný inhibiční vliv na růst v případě 4 kmenů bifidobakterií na hladině pravděpodobnosti 95 %.

V případě inokulace směsných kultur a kmenů z jiných rodů než *Bifidobacterium* na půdy ARC a ARCP byla zaznamenána přítomnost kolonií různých tvarů, velikostí a různé intenzity modré barvy. Na půdě TOS byly ve většině případů detekovány drobné bílé kolonie velikosti menší než 0,5 mm. Po přidavku mupirocinu do živné půdy byl růst všech testovaných kmenů a kultur významně inhibován s výjimkou kmene *Propionibacterium freudenreichii*

subsp. *shermanii* CCDM 160 na půdách ARC-M a ARCP-M a keřirové kultury. V tomto případě jsou vyšší hodnoty na půdách s mupirocinem způsobeny pravděpodobně přítomností kvasinek v MTO36LV kultuře.

Abstract

In this study selective enumeration of bifidobacteria using lithium mupirocin was tested. The effect of mupirocin on 21 strains of bifidobacteria was determined on ARC, ARCP and TOS media. Counts of colonies on media without addition of mupirocin were equivalent at probability level 95 % excepting *Bifidobacterium gallicum* LMG 11596^T, which level of growth was lower on ARCP medium. Strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* CCM 4988^T was able to grow merely on TOS medium. There was determined slight inhibitory effect of mupirocin on 4 tested bifidobacteria strains at probability level 95 %.

In case of inoculation of mixed cultures and strains from other genera on ARC and ARCP media, there were detected colonies of different shapes, sizes and with different intensity of blue colour. On TOS medium were detected mostly small white colonies with diameter less than 0,5 mm. The growth of all tested strains and cultures was markedly inhibited by addition of mupirocin to growth media exception *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* CCDM 160 on ARC-M and ARCP-M, and MTO36LV. In case of MTO36LV were detected higher counts of colonies probably due to presence of yeasts.

1. Úvod

Různé kmeny rodu *Bifidobacterium* jsou spolu s dalšími bakteriemi a v současnosti i některými kvasinkami označovány jako probiotické mikroorganismy. Dle definice uvedené WHO a FAO v roce 2001 jsou probiotické mikroorganismy "živé mikroorganismy, které mají při podání v dostatečném množství pozitivní vliv na zdraví svého hostitele". Za dostatečné množství je považován denní příjem 10^8 - 10^9 KTJ/ml (Shah, 2000), což je ekvivalentní denní konzumaci 100 g probiotického výrobku s koncentrací 10^6 KTJ/ml probiotických mikroorganismů. Legislativně ošetřená je tato skutečnost vyhláškou Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. V této vyhlášce je požadavek na kysané mléčné výrobky s bifidokulturou přítomnost bifidobakterií v minimální koncentraci 10^6 /g výrobku a to po celou dobu trvanlivosti. Jelikož nejčastěji používanými probiotickými mikroorganismy v mléčných výrobcích jsou právě různé kmeny bifidobakterií vyskytující se spolu s dalšími druhy bakterií, je tedy nutné jejich selektivní stanovení v těchto produktech.

Pro stanovení bifidobakterií byla vyvinuta řada médií s různou citlivostí, selektivitou a použitelností. Jejich přehled je uveden v práci Roy a kol. (2000). V roce 2000 byla publikována práce navrhuje pro stanovení bifidobakterií použití litné soli mupirocinu (Rada a Koc, 2000). Selektivita mupirocinu pro stanovení bifidobakterií byla