

<http://vvl.vfu.cz/Mykoplazmata.pdf>, listopad 2010

ZOUHAROVA, M., RYSANEK, D. (2008): Multiplex PCR and RPLA identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains from bulk tank milk, *Zoonoses and Public Health* 55, (6), s. 313-319.

Přijato do tisku 20. 2. 2011

Lektorováno 14. 3. 2011

METABOLICKÁ AKTIVITA VYBRANÝCH MIKROORGANISMŮ V KRAVSKÉM A KOZÍM MLÉCE

Němcová Michaela¹ - Kalhotka Libor¹ - Fišerová Helena²

¹ Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, AF MENDELU, Zemědělská 1, 613 00, Brno

² Ústav biologie rostlin, AF MENDELU, Zemědělská 1, 613 00, Brno

METABOLIC ACTIVITY OF CHOSEN MICROORGANISMS IN COW AND GOAT MILK

Abstrakt

Cílem této práce bylo zjistit dynamiku růstu vybraných druhů bakterií ve vzorcích kozího a kravského pasterovaného mléka. Dále stanovit v daných vzorcích produkci oxidu uhličitého, etanu a etylenu. Ve vzorcích kozího a kravského syrového a pasterovaného mléka byly zjištěny počty významných skupin mikroorganismů (celkový počet mikroorganismů, koliformní bakterie a enterokoky). Dále byl zjištěn podíl těchto mikroorganismů respektive jejich metabolické aktivity na kažení vybraných produktů. Vzorky mléka byly inokulovány vybranými mikroorganismy (*Enterococcus faecium*, *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*). Čisté kultury mikroorganismů pro inokulaci vzorků byly pořízeny z České sbírky mikroorganismů (CCM). V průběhu jejich kultivace (3 dny) při 6, 25 a 30 °C byly podle norem nebo doporučení stanovovány jejich počty. U vzorků byly stanoveny plynovou chromatografií během kultivace při teplotě 6, 25 a 30 °C koncentrace 3 druhů plynů - oxid uhličitý, etan a etylen. Se zvyšující se teplotou, se zvyšovaly také počty mikroorganismů a byla tedy zjištěna i vyšší produkce plynů, tento rozdíl byl zvláště patrný mezi teplotami 6 a 25 °C resp. 30 °C, mezi teplotou 25 a 30 °C nebyl rozdíl tak výrazný.

Klíčová slova: mikroorganismy, mléko, oxid uhličitý, etylen, etan

Abstract

The aim of this paper was to determine growth dynamic of bacteria species in samples of cow and goat milk and production of ethane, ethylene and carbon dioxide. In samples of goat and cow milk (raw and pasteurized), counts of microor-

ganisms were found such as total count of microorganisms, coliform bacteria and enterococci. A complete content of these microorganisms resp. their metabolic activity responsible for food spoilage was found out as well. Samples of milk were inoculated by chosen microorganisms (*Enterococcus faecium*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*). The pure culture of microorganisms for inoculation were given by Czech Collection of Microorganisms (CCM). During cultivation (3 days) at 6, 25 and 30 °C were determined counts of microorganisms according to recommendations or standards. Samples were also tested by gas chromatography for carbon dioxide, ethane and ethylene concentration during cultivation at 6, 25 and 30 °C. Concentrations of 3 gasses (carbon dioxide, ethane and ethylene) in samples were set during cultivation at temperatures 6, 25 and 30 °C by gas chromatography. Counts of microorganisms increased with increasing temperature thus more intense gas production was detected. This difference was noted between 6 and 25 °C resp. 30 °C. Difference between 25 and 30 °C was not that significant.

Key words: microorganisms, milk, carbon dioxide, ethylene, ethane

Úvod

Mléko a mléčné výrobky představují vhodné prostředí pro růst mikroorganismů, které svojí metabolickou činností mohou ovlivnit příznivě nebo nepříznivě kvalitu a biologickou hodnotu výrobku.⁹ Mikroorganismy v mléce mohou vyvolat různé změny, které jsou závislé především na druhu mikroorganismu a na složce mléka, které tyto mikroorganismy rozkládají.³ Mezi významné mikrobiální kontaminanty mléka patří například *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecium* a *Pseudomonas fluorescens*. Bakterie *Escherichia coli* a *Enterobacter aerogenes* patří mezi koliformní bakterie, které jsou schopné fermentovat laktosu za vzniku kyseliny mléčné, kyseliny octové, oxidu uhličitého a vodíku.^{7,10} Enterokoky v potravinářské mikrobiologii na první pohled působí protichůdně, v nefermentovaných potravinách poukazují na nedostatečné zahřátí suroviny a na nedostatečnou sanitaci výrobního zařízení, ve fermentovaných potravinách mají probiotické vlastnosti, jsou schopny tvořit bakteriociny a jsou potřebné při zrání sýrů.^{7,8} Významným kontaminantem mléka jsou rovněž psychrotrofní mikroorganismy. Nejčastěji izolovaným rodem z mléka je r. *Pseudomonas*.¹ Jejich samotný růst v mléce nezpůsobuje vážné problémy, protože se většinou pasterací devitalizují.¹ Význam psychrotrofních mikroorganismů spočívá v tom, že produkují termostabilní extracelulární enzymy s proteolytickými a lipolytickými účinky, které se mohou podílet na degradaci některých složek mléka.^{9,11}

Metodika

Inokulace a kultivace mikroorganismů

Ve vzorcích kozího (Farma dojných a kašmírských koz, Šošůvka) a kravského (ŠZP Žabčice) syrového a pas-

terovaného mléka byly stanoveny podle norem nebo doporučení výrobce kultivačních médií tyto skupiny mikroorganismů: celkový počet mikroorganismů (ČSN ISO 6610), koliformní bakterie (ČSN ISO 5541/1), enterokoky (COMPASS ENTEROCOCCUS AGAR za 24 hodin při 44 °C).

Lahvičky s 10 ml kozího nebo kravského pasterovaného mléka byly inokulovány bakteriemi *Pseudomonas fluorescens* (kravské mléko $1,12 \cdot 10^7$ KTJ/ml, kozí mléko $9,36 \cdot 10^8$ KTJ/ml), *Enterococcus faecium* (kravské mléko $5,50 \cdot 10^7$ KTJ/ml, kozí mléko $1,12 \cdot 10^8$ KTJ/ml), *Enterobacter aerogenes* (kravské mléko $5,14 \cdot 10^6$ KTJ/ml, kozí mléko $2,72 \cdot 10^5$ KTJ/ml), *Escherichia coli* (kravské mléko $2,23 \cdot 10^7$ KTJ/ml, kozí mléko $1,39 \cdot 10^8$ KTJ/ml).

V průběhu jejich kultivace (3 dny) při teplotě 6, 25 a 30 °C byly stanovovány jejich počty. *Escherichia coli* byla kultivována na VRBL (Biokar Diagnostic, France) při 37 °C za 24 hodin. *Pseudomonas fluorescens* na PCA with skimmed milk (Biokar Diagnostic, France) při 30 °C za 72 hod a *Enterococcus faecium* na COMPASS ENTEROCOCCUS AGAR (Biokar Diagnostic, France) při 44 °C za 24 hodin. *Enterobacter aerogenes* byl kultivován na VRBL (Biokar Diagnostic, France) při 37 °C za 24 hodin. U kontrolních neinokulovaných vzorků mléka se stanovoval celkový počet mikroorganismů na PCA with skimmed milk (Biokar Diagnostic, France) při 30 °C za 72 hod.

Stanovení produkce etanu, etylenu a oxidu uhličitého

V inokulovaných vzorcích byly stanoveny 3 druhy plynů - oxid uhličitý, etan a etylen. Inokulované vzorky o objemu 10 ml byly umístěny do sterilních sérovek a inkubovány za stanovených podmínek (6, 25 a 30 °C). Odběr plynu byl prováděn po 24 hodinách po dobu 3 dnů přes pryžovou

membránu jehlou s 2 ml stříkačkou, které byly zapíchnuty s odebraným vzorkem plynu do označených pryžových zátek. Odebrané vzorky plynů byly analyzovány na plynových chromatografech.^{5,6,14} Obsah etanu a etylenu byl stanoven v 1 ml sledovaného ovzduší odebraného tuberkulinovou stříkačkou na plynovém chromatografu firmy FISSONS INSTRUMENT s kapilární 24 m dlouhou kolonou HP-PLOT/Al₂O₃. Teplota detektoru byla 200 °C, nástřiku 230 °C a kolony 40 °C.^{4,5,6} Obsah oxidu uhličitého byl stanoven na plynovém chromatografu CHROM 5 s katharometrem s 1,5 m dlouhou náplňovou kolonou plněnou PORAPAKem Q.¹⁴

Výsledky

Ve vybraných vzorcích syrového kravského a kozího mléka byly zjištěny počty mikroorganismů (tab. 1). Surové mléko bylo pasterováno při teplotě 72 °C 30 s. Výchozí vzorky pasterovaného kozího a kravského mléka před inokulací vybranými mikroorganismy obsahovaly relativně nízké počty mikroorganismů. Pasterované kravské a kozí mléko bez inokulovaných mikroorganismů bylo použito jako kontrolní vzorek (tab. 2). Z výsledků je zřejmé, že již po 24 hodinách při 6 °C vzrostly počty CPM z 10^2 KTJ/ml na hodnoty 10^5 KTJ/ml u kravského mléka. Tento nárůst

Tab. 1 Stanovené skupiny mikroorganismů (KTJ/ml) v syrovém a pasterovaném kozím a kravském mléce

Mikroorganismy	Surové kravské mléko	Surové kozí mléko	Pasterované kravské mléko	Pasterované kozí mléko
CPM	$6,4 \cdot 10^3$	$2,0 \cdot 10^4$	$2,1 \cdot 10^2$	$1,5 \cdot 10^3$
Koliformní m.	$2,6 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^4$	14	< 10
Enterokoky	17	$4,2 \cdot 10^3$	< 10	< 10

Tab. 2 Počty mikroorganismů v KTJ/ml a produkce plynů u kontrolních vzorků kravského a kozího mléka kultivovaných 3 dny při daných teplotách

Kontrola	den	Kultivace při 6 °C		Kultivace při 25 °C		Kultivace při 30 °C	
		Kravské mléko	Kozí mléko	Kravské mléko	Kozí mléko	Kravské mléko	Kozí mléko
CPM	1	$9,6 \cdot 10^5$	$9,1 \cdot 10^3$	$5,7 \cdot 10^8$	$5,3 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^9$	$6,1 \cdot 10^7$
	2	$6,5 \cdot 10^5$	$7,7 \cdot 10^3$	$1,3 \cdot 10^9$	$4,9 \cdot 10^8$	$7,8 \cdot 10^9$	$5,9 \cdot 10^8$
	3	$3,6 \cdot 10^5$	$3,5 \cdot 10^5$	$3,6 \cdot 10^5$	$6,9 \cdot 10^8$	$1,9 \cdot 10^9$	$6,8 \cdot 10^8$
Koliformní m.	1	$1,9 \cdot 10^4$	14	$1,0 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^6$	$4,4 \cdot 10^2$
	2	$2,1 \cdot 10^4$	17	$7,0 \cdot 10^5$	$3,1 \cdot 10^2$	$5,2 \cdot 10^5$	$4,5 \cdot 10^2$
	3	$2,7 \cdot 10^3$	19	$5,6 \cdot 10^5$	$2,6 \cdot 10^3$	$3,1 \cdot 10^5$	$4,7 \cdot 10^3$
Enterokoky	1	$9,4 \cdot 10^2$	8	$1,0 \cdot 10^4$	$8,6 \cdot 10^4$	$9,2 \cdot 10^4$	$2,7 \cdot 10^5$
	2	$9,9 \cdot 10^2$	8	$1,2 \cdot 10^5$	$8,9 \cdot 10^5$	$8,9 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^5$
	3	$4,6 \cdot 10^2$	25	$5,0 \cdot 10^6$	$7,9 \cdot 10^4$	$2,7 \cdot 10^5$	$2,4 \cdot 10^5$
CO ₂ (μl/l)	1	7,42	6,67	42,39	5,65	127,55	12,54
	2	3,32	2,97	187,02	88,29	104,33	135,63
	3	8,25	5,08	159,69	258,45	270,70	325,41
Etan (nl/l)	1	29,22	21,33	40,40	7,42	52,88	31,65
	2	20,43	4,53	40,28	32,85	53,18	38,95
	3	37,45	10,1	63,75	58,97	28,22	60,33
Etylen (nl/l)	1	41,77	21,87	41,79	24,86	77,70	22,60
	2	29,49	18,80	43,29	21,16	47,93	21,78
	3	30,62	14,58	77,21	86,50	16,98	14,86

Tab. 3 Inokulované mikroorganismy (KTJ/m) a jejich produkce plynů v pasterovaném kravském a kozím mléce

Kontrola	den	Kultivace při 6 °C		Kultivace při 25 °C		Kultivace při 30 °C	
		Kravské mléko	Kozí mléko	Kravské mléko	Kozí mléko	Kravské mléko	Kozí mléko
<i>Enterococcus faecium</i>							
KTJ/ml	1	5,6 · 10 ⁶	5,2 · 10 ⁶	1,9 · 10 ⁷	5,5 · 10 ⁸	4,8 · 10 ⁷	4,5 · 10 ⁸
	2	3,7 · 10 ⁶	3,9 · 10 ⁶	4,7 · 10 ⁷	2,0 · 10 ⁸	9,5 · 10 ⁷	2,4 · 10 ⁸
	3	4,0 · 10 ⁶	5,7 · 10 ⁶	6,4 · 10 ⁸	8,7 · 10 ⁸	6,2 · 10 ⁷	4,9 · 10 ⁸
CO ₂ (μl/l)	1	10,28	6,96	74,59	31,40	269,63	53,40
	2	6,10	1,74	277,49	139,35	189,66	62,06
	3	8,97	6,73	160,41	306,65	185,27	296,18
Etan (nl/l)	1	18,21	21,63	30,12	11,35	42,18	58,99
	2	17,80	3,06	39,64	14,68	44,06	5,36
	3	34,68	6,59	47,23	30,32	20,92	19,23
Etylen (nl/l)	1	34,01	22,94	35,52	56,77	79,10	65,77
	2	27,87	28,71	34,90	21,92	23,00	220,22
	3	41,66	18,90	39,79	12,65	17,9	17,08
<i>Enterobacter aerogenes</i>							
KTJ/ml	1	9,4 · 10 ⁴	4,5 · 10 ²	2,9 · 10 ⁸	3,6 · 10 ⁶	2,7 · 10 ⁸	3,2 · 10 ⁸
	2	2,4 · 10 ⁴	5,0 · 10 ²	9,4 · 10 ⁷	1,4 · 10 ⁸	5,4 · 10 ⁷	3,4 · 10 ⁸
	3	9,1 · 10 ²	5,5 · 10 ²	2,7 · 10 ⁸	3,6 · 10 ⁸	2,7 · 10 ⁶	6,1 · 10 ⁸
CO ₂ (μl/l)	1	8,91	5,12	113,06	11,29	173,11	15,60
	2	5,15	1,96	210,52	263,66	148,37	418,91
	3	7,70	5,06	197,65	441,88	233,56	360,42
Etan (nl/l)	1	27,67	9,19	20,07	6,84	38,41	11,67
	2	16,59	6,94	24,88	27,17	31,30	21,29
	3	35,18	4,82	45,88	28,18	22,20	32,26
Etylen (nl/l)	1	38,44	44,27	46,89	32,06	53,00	21,75
	2	24,90	26,00	36,20	10,46	50,41	15,58
	3	30,10	6,70	17,40	10,69	24,60	11,75
<i>Escherichia coli</i>							
KTJ/ml	1	1,5 · 10 ⁴	4,0 · 10 ⁷	5,4 · 10 ⁷	1,1 · 10 ⁹	1,7 · 10 ⁷	2,0 · 10 ⁸
	2	3,6 · 10 ⁷	7,5 · 10 ⁷	4,4 · 10 ⁷	1,5 · 10 ⁹	1,0 · 10 ⁷	1,3 · 10 ⁹
	3	4,5 · 10 ²	6,0 · 10 ⁷	3,4 · 10 ⁷	1,2 · 10 ⁹	9,1 · 10 ⁵	9,0 · 10 ⁸
CO ₂ (μl/l)	1	7,70	9,57	88,46	85,72	152,32	96,06
	2	5,03	1,90	194,65	78,54	322,79	120,94
	3	9,17	15,42	192,91	77,67	337,17	131,95
Etan (nl/l)	1	27,70	9,13	32,75	12,43	52,75	13,29
	2	17,16	5,38	18,30	3,95	19,70	7,06
	3	30,90	5,35	43,25	9,62	21,80	5,94
Etylen (nl/l)	1	41,64	48,00	38,15	36,36	45,60	27,87
	2	17,26	31,86	130,68	17,61	26,80	38,95
	3	28,00	29,29	34,55	22,66	21,34	10,50
<i>Pseudomonas fluorescens</i>							
KTJ/ml	1	6,9 · 10 ⁶	1,3 · 10 ⁷	5,8 · 10 ⁸	2,7 · 10 ⁹	7,8 · 10 ⁸	3,3 · 10 ⁹
	2	6,4 · 10 ⁶	7,4 · 10 ⁷	6,7 · 10 ⁸	2,0 · 10 ⁹	4,8 · 10 ⁸	1,8 · 10 ⁹
	3	1,6 · 10 ⁶	7,1 · 10 ⁹	3,7 · 10 ⁸	1,8 · 10 ⁹	8,1 · 10 ⁷	1,7 · 10 ⁹
CO ₂ (μl/l)	1	8,55	15,39	88,46	164,81	152,32	100,66
	2	5,55	3,30	194,65	203,77	322,79	368,88
	3	6,81	115,19	192,91	241,90	337,17	368,56
Etan (nl/l)	1	24,22	10,83	39,13	6,55	41,08	15,00
	2	23,69	5,15	37,63	9,35	29,67	9,67
	3	27,30	5,44	69,79	13,79	29,96	9,92
Etylen (nl/l)	1	55,61	43,19	32,24	15,00	74,13	13,41
	2	29,10	32,02	37,38	6,30	22,72	22,79
	3	130,12	12,86	49,75	14,41	30,45	10,29

není v podstatě ovlivněn teplotou kultivace. Množství koliformních bakterií v kontrolních vzorcích kozího mléka dosahovalo v průběhu sledování relativně nízkých hodnot,

což bylo způsobeno buď nízkou kultivační teplotou (6 °C) nebo byly bakterie potlačeny ostatní kontaminující mikroflórou (při kultivační teplotě 25 a 30 °C). V kravském

mléce byly počty koliformních bakterií vyšší o několik řádů (tab. 2). Počty enterokoků kultivovaných při 6 °C byly i po 3 dnech nízké, při kultivaci ve 25 a 30 °C se však jejich počty pohybovaly řádově mezi 10⁴ až 10⁶ KTJ/ml. V tabulce 2 je také vyjádřena produkce plynu v kontrolních vzorcích. Oxid uhličitý vzniká jak při rozkladu tuků a bílkovin, tak i při fermentaci laktosy.¹³ Etylen patří mezi fyziologicky účinné plyny, hormon uvolňovaný rostlinou do prostředí, jehož prekurzorem je ACC (1-amino-cyklopropan-1-karboxylová kyselina), která vzniká v rostlinách z aminokyseliny methioninu. Etan vzniká při oxidaci tuků¹⁶ a je uváděn jako indikátor lipidové peroxidasy.² Je produkován poškozenými buňkami. Produkce etanu a etylenu byla sledována především ve vztahu ke stresu¹¹ a poměr obou uhlovodíků je pravděpodobně indikátorem stupně stresu. V kontrole při 25 a 30 °C třetí den kultivace byla zaznamenána u všech kontrolních vzorků vyšší tvorba oxidu uhličitého. Výsledky sledování počtů jednotlivých druhů bakterií inokulovaných do kravského a kozího mléka a jejich produkce plynů při teplotách 6, 25 a 30 °C po dobu 3 dnů jsou uvedeny v tabulce 3.

Enterococcus faecium byl inokulován do kravského mléka v množství řádově 10⁷ KTJ/ml, do kozího mléka 10⁸ KTJ/ml, tomu pak odpovídala koncentrace ve vlastních vzorcích cca 10⁶ resp. 10⁷ KTJ/ml. Počty bakterie *Enterococcus faecium* při 6 °C se v průběhu 72 hodin sledování příliš neměnily, u kozího mléka byl ale zaznamenán jistý pokles počtů bakterií oproti výchozí koncentraci. Při kultivaci ve 25 °C docházelo během prvních 24 h k nárůstu počtů cca o jeden řád, u kravského mléka se počet po 72 h kultivace ještě zvýšil a to z 10⁶ na 10⁸ KTJ/ml. Velmi podobně se *Enterococcus faecium* choval též při kultivaci ve 30 °C. *Enterococcus faecium* lépe rostl v kozím mléce. Při teplotě 25 a 30 °C byla v kozím mléce zjištěna vysoká koncentrace oxidu uhličitého, která činila cca 300 µl/l. Vyšší koncentrace CO₂ může být způsobena oxidací laktátu nebo glycerolu¹⁸ či dekarboxylací aminokyselin.¹²

Enterobacter aerogenes byl inokulován do kravského mléka v množství řádově 10⁵ KTJ/ml, do kozího mléka řádově 10⁵ KTJ/ml. Výchozí počet bakterií byl pak v mléce o 1 řád nižší. Při 6 °C pak nedošlo k nárůstu množství bakterie, ale k jejímu razantnímu poklesu. V kravském a kozím mléce při kultivaci v 25 a 30 °C došlo ke zvýšení počtů o několik řádů. *Enterobacter* tvoří ze sacharidů plyny CO₂ a H₂.⁷ Produkce plynů kolísala a to bez ohledu na dynamiku růstu bakterií. Lze tedy do jisté míry uvažovat o určité hladině mikroorganismů, která je schopna produkovat jisté množství plynu bez ohledu na jejich úbytek nebo přírůstek. Při teplotách 25 a 30 °C byla naměřena také vysoká koncentrace oxidu uhličitého. Se zvyšující se teplotou se produkce zvyšovala. Podobná byla produkce etylenu.

E. coli byla inokulována do kravského mléka v množství řádově 10⁷ KTJ/ml, do kozího mléka 10⁸ KTJ/ml, což odpovídá koncentraci cca 10⁶ resp. 10⁷ KTJ/ml ve vlastním vzorku. U *E. coli* při 6 °C byl v kravském mléce zazna-

menán pokles počtu bakterií, u kozího mléka se hodnoty podstatně neměnily. U kultivace při 25 °C se počty *E. coli* v kravském mléce po 24 h zvýšily o jeden řád a v kozím mléce dokonce o dva řády. Ve 30 °C je růstový trend podobný. Jen po 72 h kultivace dochází k poklesu počtu bakterií u obou druhů mléka pravděpodobně vlivem vyčerpání substrátu a nahromadění zplodin metabolismu. *E. coli* je schopna fermentovat laktosu za vzniku kyseliny mléčné, kyseliny octové a plynů CO₂ a H₂.⁷ To potvrzují i zjištěné vyšší hladiny CO₂ ve vzorcích mléka kultivovaného při 25 a 30 °C. Hladiny etanu a etylenu byly v porovnání s CO₂ až na výjimky nízké.

Pseudomonas fluorescens byla inokulována do kravského mléka v množství cca 10⁷ KTJ/ml a do kozího mléka 10⁸ KTJ/ml. Výchozí počet bakterií v mléce byl pak řádově 10⁶ resp. 10⁷ KTJ/ml. Vezmeme-li při porovnání v úvahu množství inokula, je dynamika růstu této bakterie v obou vzorcích mléka podobná. Při 6 °C se počty mikroorganismů pohybují velmi blízko stanovené hodnotě výchozí koncentrace inokula. Ke zvýšení počtu dochází až po 72 h kultivace u kozího mléka, kdy se počty zvýšily bakterií z 10⁷ KTJ/ml na 10⁹ KTJ/ml. U ostatních teplot kultivace (25 a 30 °C) došlo již po 24 h kultivace k nárůstu počtů cca o dva řády. Tyto počty se během kultivace v podstatě neměnily. *Pseudomonas* má silné proteolytické schopnosti umožňující jí rozklad bílkovinných potravin. Jejich lipolytické vlastnosti se uplatňují při kažení tuků.¹⁷ *Pseudomonady* jsou schopné degradovat řadu hexos (glukosu, galaktosu atd.).¹⁵ Metabolická aktivita *Pseudomonas* se projevila produkcí plynů. Produkce CO₂ se zvyšovala se vzrůstající teplotou kultivace. Největší produkce byla zaznamenána zpravidla 3 den kultivace. Vyšší produkce etanu byla zaznamenána v kravském mléce a to i přes nižší počet bakterií ve srovnání s kozím mlékem. Nejvyšší produkce etanu byla zaznamenána v kravském mléce při teplotě 25 °C (69,76 nl/l).

Závěr

Z výsledků je patrné, že mléko je dobrým prostředím pro rozvoj mikroorganismů. U obou druhů mléka je nárůst mikroorganismů podobný, přesto se však kozí mléko do jisté míry jeví jako lepší substrát pro rozvoj mikroorganismů. Je zřejmé, že se zvyšující se teplotou, se zvyšují také počty mikroorganismů a je tedy i vyšší produkce plynů. Tento rozdíl je zvláště patrný mezi teplotami 6 a 25 °C resp. 30 °C, mezi teplotou 25 a 30 °C není rozdíl tak výrazný. Při srovnání produkce etylenu u všech skupin mikroorganismů je jeho produkce diskutabilní. Nelze jednoznačně říci, že by produkce etylenu byla přímo úměrným ukazatelem množení mikroorganismů, ale patrně by mohla být v kombinaci s dalšími sledovanými plyny ukazatelem kvality mikrobiální aktivity a stresu. V rámci pokusu byla sledována rovněž produkce etanu. Největší produkce byla naměřena první den kultivace, kdy byla patrně nejvyšší lipolytická aktivita, poté většinou docházelo k poklesu produkce, ne vždy však byl současně zaznamenán úbytek

mikroorganismů. Kolísavá produkce byla zaznamenána i u oxidu uhličitého.

Poděkování

Tato práce vznikla s podporou projektů IGA AF MENDELU - IP 2003/2010 Metabolická aktivita kontaminujících mikroorganismů v mléce a mléčných výrobcích.

Literatura

- BURDOVÁ O., 1998: Kvalita mléčných výrobků v závislosti od mikrobiální kontaminace surového mléka. *Mlékarstvo* 29 (4): 44 - 45.
- CELIKEL, F. G., VANDOORN, W. G., 1995: Solute leakage, lipid peroxidation and protein degradation during the senescence of Iris tepals. *Physiologia Plantarum* 94 : 515 - 521.
- CEMPÍRKOVÁ E., LUKÁŠOVÁ J., HEJLOVÁ Š., 1997: *Mikrobiologie potravin*, Skriptum Jihočeská univerzita, České Budějovice, 165 s.
- FIŠEROVÁ, H., HRADILÍK, J., 1994: Produkce etylénu a etanu při tvorbě adventivních kořenů na stonkových segmentech révy vinné. (Ethylene and ethane production during adventitious root formation on vine stem segments) *Rostlinná výroba*, 40: 755 - 762.
- FIŠEROVÁ, H., KULA, E., KLEMŠ, M., REINÖHL, V., 2001: Phytohormones as indicators of the degree of damage in birch. *Biologie*, 56 (4): 405 - 409.
- FIŠEROVÁ, H., MIKUŠOVÁ, Z., KLEMŠ, M., 2008: Estimation of ethylene production and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid content in plants by means. *Plant, Soil and Environment : Rostlinná výroba*. 54 (2): 55 - 60.
- GÖRNER F., VALÍK Ľ., 2004: *Aplikovaná mikrobiologie požívatin*. Malé centrum, Bratislava, 528 s.
- GREIFOVÁ M., GREIF G., LEŠKOVÁ E., MĚRIOVÁ K., 2003: Enterokoky - ich hodnotenie v mliekarenskej technológii. *Mliekarstvo*, 34 (2): 42 - 45.
- GRIEGER, C., LUKÁŠOVÁ, J., 1990: Mikroorganismy v mlékařství, s. 39 - 58. In: GRIEGER, C., HOLEC, J., (eds): *Hygienu mléka a mléčných výrobků*. Příroda, Bratislava, 397 s.
- HAYES M. C., BOOR K., 2001: Raw Milk and fluid milk products, s. 59 - 76. In: MARTH E.H., STEELE J.L., (eds): *Applied Dairy Microbiology*. Marcel Dekker, Inc. New York, 744 s.
- CHROMINSKI, A., et al., 1986: Ethylene and ethane production in response to salinity stress. *Plant. Cell and Environment*, 9: 687 - 691.
- KALÁČ, P., KRÍŽEK, M., 2002: Biogenní aminy a polyaminy v potravinách. *Výživa a potraviny*, 1: 12 - 13.
- KÁŠ, V., 1964: *Zemědělská mikrobiologie*. SZN, Praha, 463 s.
- PROKEŠ, J., FIŠEROVÁ, H., HELÁNOVÁ, A., HARTMANN, J., 2006: Význam oxidu uhličitého a ethylenu v procesu sladování. *Kvasný průmysl*, 52 (11-12): 349-352.
- PALLERONI, N. J., 2005: Genus I Pseudomonas, s. 323 - 397. In: GARRITY, G. M., (eds.) *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology vol. two part B*. Springer, NY USA, 1106 s.
- RIELY, C. A., et al., 1974: Ethane evolution: a new index of lipid peroxidation. *Science*, 183: 208 - 210.
- ŠILHÁNKOVÁ, L., 2002: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologu*. ACADEMIA, Praha, 363 s.
- ŠVEC, P., DEVRIESE, L. A., 2009: Genus I. Enterococcus, s. 594 - 607. In: WHITMAN, W. B., (eds.) *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology vol. three*. Springer, NY USA, 1450 s.

Kontaktní adresy:

Ing. Michaela Němcová, Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, AF MENDELU v Brně, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Česká republika, e-mail: xnemco13@node.mendelu.cz

Ing. Libor Kalhotka, Ph.D., Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, AF MENDELU v Brně, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Česká republika, e-mail: xkalhotk@node.mendelu.cz

Dr. Ing. Helena Fišerová, Ústav biologie rostlin, AF MENDELU v Brně, Zemědělská 1, 613 00, Brno, Česká republika, e-mail: helena.fiserova@node.mendelu.cz

Přijato do tisku: 14. 3. 2011

Lektorováno 7. 4. 2011

VYBRANÉ INFORMACE ZE XIV. DNE VÚM

31.3.2011 Praha



Některé souhrny prezentací

Tvorba biogenních aminů sýrařskými kulturami v modelových výrobcích sýrů

Š. Havlíková, V. Černý, E. Kvasničková
VÚM s.r.o.



Ze souboru kmenů bakterií s prokázanou dekarboxylázovou aktivitou bylo vybráno 14 kmenů *Lactobacillus curvatus*. Tyto kmeny byly podrobně testovány na tvorbu biogenních aminů za různých podmínek: růst v obnoveném mléce, růst v obnoveném mléce s přidavkem kvasničného autolyzátu, různé hodnoty a_w , nadbytek volných aminokyselin. Byla u nich sledována schopnost proteolýzy kaseinu až na aminokyseliny. Dále byly testovány na tvorbu biogenních aminů 25 izolátů ze sýrařských kultur z rodu *Streptococcus* a *Lactobacillus*. U všech ČMK byly za podmínek testu výsledky negativní.

Testované kmeny *Lbc. curvatus* byly dále naočkovány do mléka použitého k výrobě pokusných sýrů eidamského typu, u nichž byl kromě sledování dalších parametrů stanoven obsah biogenních aminů po výrobě, po jednom a dvou měsících zrání. Kompletní výsledky jsou u dvou sérií pokusných výrob, tj. 6 kmenů *Lbc. curvatus* a dvou kontrolních, další dvě série pokusných výrob byly provedeny na začátku roku 2011 a zrání a rozborů nejsou ukončeny. Dosavadní výsledky potvrzují, že u sýrů vyrobených s přidavkem kmenů schopných produkce biogenních aminů jejich obsah stoupá s dobou zrání, u tyraminu až nad zákonem stanovený limit 200 mg/kg. Přítomnost heterofermentativních bakterií *Lactobacillus curvatus* lze tedy u délezrajících sýrů považovat za rizikovou nejen z hlediska možnosti vzniku vzhledových a konzistenčních vad, ale i obsahu biogenních aminů.