

tukovou pachutí (v zimě) a bílý jetel sladkou a smetanovou chutí (v zimě).

Výsledky z první sezóny slouží jako důležitý vstup pro další rozsáhlé studie, nicméně možno konstatovat, že ani univerzální preference chuti biomléka nemají opodstatnění, ale tato je závislá více od konkrétního složení krmné dávky a ročního období než od managementu ekologického systému produkce¹⁷.

Korespondence:

MVDr. Ivan Holko, Ph.D.

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta Technologická

Nám. T. G. Masaryka 275

762 72 Zlín

Literatura

1. DANGOUR A.D., LOCK K., HAYTER A., AIKENHEAD A., ALLE E., UAUY R. (2010): Nutrition-related health effects of organic foods: a systematic review. *American J. Clin. Nutr.* 92, s. 203.
2. <http://www.organicvalley.coop/> staženo 15. ledna 2011.
3. ELLIS K. A., INNOCENT D., GROVE-WHITE D., CRIPPS P. AND MCLEAN W.G. (2006): Comparing the fatty acid composition of organic and conventional milk. *J. Dairy Sci.* 89, s. 1938.
4. BUTLER G., NIELSEN J. H., SLOTS T., SEAL C., EYRE M. D., SANDERSON R. AND LEIFERT C. (2008): Fatty acid and fat-soluble antioxidant concentrations in milk from high- and low- input conventional and organic systems: seasonal variation. *J. Sci. Food Agric.* 88, s. 1431.
5. VALLONE L., BOSCARIOL D., DRAGONI I. (2006): Aflatoxins in organic milk and dairy products. *Vet. Res. Commun.* 30, s. 369.
6. WALTHER C. AND PERRETTEN V. (2007): Methicillin-resistant staphylococci and dairy food. *J. Dairy Sci.* 90, s. 5351.
7. RIBEIRO M. G., GERALDO J. C., LANGONI H., LARA G. H. B., SIQUEIRA A. K., SALERNO T., FERNANDES M. C. (2009): Pathogenic microorganisms, somatic cell count and drug residues evaluation in organic bovine milk. *Pesq. Vet. Bras.* 29, s. 52.
8. GHIDINI S., ZANARDI E., BATAGLIA A., VARISCO G., FERRETTI E., CAMPANINI G. (2005): Comparison of contaminant and residue levels in organic and conventional milk and meat products from northern Italy. *Food Addit. Contam.* 22, s. 9.
9. WINTER C. K. AND DAVIS S. F. (2006): Scientific status summary - Organic foods (2006). *J. Food Sci.* 71, s. 117.
10. BENNENSDGAARD T. W., THAMBSBORG S. M., AARESTRUP F. M., ENEVOLDSEN C., VAARST M., CHRISTOFFERSEN A. B. (2006): Resistance to penicillin of *Staphylococcus aureus* isolates from cows with high somatic cell counts in organic and conventional dairy herds in Denmark. *Acta Vet. Scand.* 48, s. 24.
11. BASKAYA R., AYDIN A., YILDIZ A., BOSTAN K. (2006): Aflatoxin M1 levels of some cheese varieties in Turkey. *Medycyna Wet.* 62, s. 778.
12. PITTEA A. (1999): Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds. An updated review. *Rev. Med. Vet.* 149, s. 479.
13. JAHREIS G., FRITSCHKE J. AND STEINHART H. (1996): Monthly variation of milk composition with special regard to fatty acids depending on season and farm management system - conventional versus ecological. *Fett-Lipid* 98, s. 356.
14. BERGAMO P., FEDELE E., IANNIBELI L. AND MARZILLO G. (2003): Fat soluble vitamin contents and fatty acid composition in organic and conventional Italian dairy products. *Food Chem.* 82, s. 625.
15. TOLEDO P. AND ANDREN A. (2002): Composition of raw milk sustainable production systems. *Int. Dairy J.* 12, s. 75.
16. HESS J. AND RAHMANN G.: *Ende der Nische, Beiträge zur 8. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau*, Kassel 2005.
17. VESTERGAARD J. S., KRISTENSEN T., ERIKSEN J., SOEGAARD K., FRETTE X. C. AND BREDIE W. L. P.: *Sensory quality of organic milk based on grazing and high ratio of legumes in the feeding ration. 7th Pangborn Sensory Science Symposium*, Minneapolis, MN, USA, 12-16 August 2007.

Přijato do tisku 19. 4. 2011

Lektorováno 16. 5. 2011

IZOLACE DNA Z MLÉČNÝCH A PROBIOTICKÝCH VÝROBKŮ POMOCÍ MAGNETICKÝCH MIKROČÁSTIC

Trachtová Štěpánka, Rittich Bohuslav

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Purkyňova 464/118, Brno

DNA isolation from dairy and probiotic products using magnetic particles

Abstrakt

Cílem práce bylo ověřit použití magnetických částic P(HEMA-co-GMA) pro izolaci DNA z mléčných výrobků, mléčné kojenecké výživy, probiotických doplňků stravy apod. Kvalita a množství izolované DNA byla ověřena spektrofotometricky, pomocí PCR amplifikace s následnou gelovou elektroforézou a pomocí PCR v reálném čase (qPCR). Za použitých experimentálních podmínek magnetické mikročástice neovlivňovaly průběh amplifikace ani kvantifikaci DNA u PCR v reálném čase.

Klíčová slova: izolace DNA, magnetické částice P(HEMA-co-GMA), polymerázová řetězová reakce, mléčné výrobky

Abstract

The aim of this study was to use magnetic particles P(HEMA-co-GMA) for DNA isolation from milk products, milk baby formula, probiotic food supplements and so one. The quality and quantity of isolated DNA was checked spectrometrically using PCR amplification followed by gel electrophoresis and using of real-time PCR (qPCR). Under the experimental conditions the magnetic microparticles did not affect the course of amplification or DNA quantification in real-time PCR.

Key words: DNA isolation, magnetic particles P(HEMA-co-GMA), Polymerase chain reaction, milk products

Úvod

Metody magnetické separace s využitím magnetických částic jsou řazeny mezi moderní bioseparační metody, které lze využít i pro separaci DNA z komplexních reálných vzorků biologického původu. Umožňují izolovat DNA o vysoké čistotě. Jsou založeny na reversibilní imobilizaci (adsorpci) DNA na pevnou fázi - magnetické částice.

Magnetické separační techniky s výhodou využívají tzv. superparamagnetické nano- a mikročástice. Superparamagnetické částice se vyznačují magnetickými vlastnostmi

pouze v přítomnosti vnějšího magnetického pole, dojde-li k jeho odstranění, částice své magnetické vlastnosti ztrácejí. V nepřítomnosti magnetického pole nevykazují tzv. zbytkový magnetismus, v důsledku čehož nedochází k jejich následné nežádoucí agregaci. Biokompatibilní magnetické polymerní mikročástice jsou tvořeny magnetickým jádrem, které je nositelem magnetických vlastností a polymerní ochrannou vrstvou. Úkolem této vrstvy je ochrana magnetického jádra, zabránění jeho kontaktu s analytem a v neposlední řadě slouží k funkcionalizaci povrchu částic vhodnými ligandy za účelem specifické separace vybraných cílových látek.

Při izolaci DNA se osvědčily magnetické částice pokryté karboxylovými skupinami. Metoda magnetické separace DNA v prostředí PEG 6000 a NaCl (DNA se adsorbuje v kondenzovaném stavu¹⁻³), byla úspěšně použita na izolaci chromosomální DNA v kvalitě vhodné pro PCR z různých druhů bakteriálních buněk⁴⁻⁶ a rozdílných typů komplexních vzorků, včetně různých potravin^{7,8} obsahujících inhibitory PCR. V porovnání s klasickými izolačními metodami je práce s magnetickými částicemi rychlá, jednoduchá, dostatečně citlivá, bezpečná. Tato metoda je v plné míře využitelná nejen v laboratorních podmínkách, ale také v každodenní výrobní praxi.

Cíl práce

Cílem práce byla izolace DNA z různých typů komplexních reálných vzorků, jako jsou mléčné výrobky (jogurt, mléčné nápoje), kojenecká výživa, probiotické doplňky stravy a pod., s použitím magnetických nosičů s následnou identifikací bakterií pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR).

Materiál a metody

Chemikálie a zařízení

Agarosa byla dodána firmou Serva (Heidelberg, Německo), ethidium bromid firmou Sigma (St. Louis, Missouri, USA). Primery pro PCR byly syntetizovány ve firmě Generi-Biotech (Hradec Králové, ČR); TaqI DNA polymerasa a SYBR Green-q-PCR kit byly od firmy (Top-Bio, Praha, ČR). DNA marker (100 bp žebříček) pro gelovou elektroforézu byl z Malamité (Moravské Prusy, ČR). PEG 6000 byl dodán firmou Sigma (St. Louis, USA). Ostatní chemikálie byly čistoty p.a. a pocházely z běžných komerčních zdrojů.

Bakteriální kmen *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* CCDM 211 byl získán ze Sbírký mlékárenských mikroorganismů Laktoflora (CCDM, Tábor, ČR); kmen *Lactobacillus gasseri* K7 byl získán ze Sbírký mikroorganismů Chair of Dairy Science, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Slovinsko. Seznam analyzovaných výrobků, které byly zakoupeny v komerční síti, je uveden v Tabulce 1.

Magnetické P(HEMA-co-GMA) (1/1 hm/hm) mikročástice byly připraveny disperzní kopolymerizací 2-hydroxyethyl-methakrylátu (HEMA) a glycidyl methakrylátu (GMA) v přítomnosti koloidního magnetitu (Fe_3O_4), stabi-

Tab. 1 Koncentrace a čistota DNA izolované pomocí magnetických mikročástic z hrubých lyzátů buněk výrobků

Číslo	Výrobek	Koncentrace DNA (ng/ μl)	$A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$
1	Activia, příchutě lesní plody	26,8	1,84
2	Activia, bílá	25,0	1,80
3	Zott bílý	21,0	1,68
4	Bílý jogurt z ovčího mléka	21,3	1,80
5	Beba premium	10,0	1,84
6	Baby lactum	25,5	1,91
7	Hipp folgemilch	35,2	1,67
8	Biopron Junior	42,0	1,87
9	Junior mléko BIFIDUS	10,5	1,78
10	Pangamin	30,3	1,94
11	Linex forte	60,3	1,98

$A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ -----poměr absorbcí DNA

lizovaného kyselinou olejovou⁹. Průměr částic byl 2,2 μm ; obsah karboxylových skupin 2,61 mmol/g. Částice byly připraveny na Makromolekulárním ústavu AV ČR v Praze Ing. Danielem Horákem, CSc.

Dále byly použity následující přístroje a pomůcky: magnetický separátor Dynal (Oslo, Norsko). DNA thermo cycler Rotorgene 6000 (Corbett Research, Austrálie), vana pro horizontální agarosovou gelovou elektroforézu (Bio-Rad, USA), UltraLum EB-20E UV transilluminator (Paramount, USA) pro vizualizaci PCR produktů, UV/Vis NanoPhotometer (Implen, Německo).

Příprava hrubých lyzátů buněk

Hrubé lyzáty buněk byly připraveny z vybraných reálných výrobků a z čistých bakteriálních kultur *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* CCDM 211 a *Lactobacillus gasseri* K7, které byly použity jako kontrola. V případě tekutých výrobků byl pro přípravu hrubých lyzátů buněk odebrán 1 ml vzorku po předchozí homogenizaci. Pokud byl vzorek ve formě tablety nebo prášku, byl do sterilní Eppendorfovy zkumavky navážen 1 g vzorku. Takto připravený vzorek byl resuspendován v 1 ml sterilní vody. Po centrifugaci (10 000 ot/5 min) byl supernatant slit a sediment obsahující buňky byl opětovně resuspendován v 1 ml roztoku A (10 mM Tris-HCl, pH 7,8; 5 mM EDTA, pH 8,0). Po opakované centrifugaci byl sediment resuspendován v 500 μl lyzačního roztoku (lysozym 5 mg/ml, 10 mM Tris-HCl, pH 7,8; 5 mM EDTA, pH 8,0). Vzorky byly ponechány při laboratorní teplotě po dobu 1 hodiny, poté bylo k vzorkům přidáno 25 μl 10 % SDS a 5 μl proteinasy K (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) a vzorky byly inkubovány při teplotě 55 °C do druhého dne.

Hrubé lyzáty buněk kontrolních bakteriálních kultur byly připraveny z 1 ml bakteriální kultury *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* CCDM 211 a *Lactobacillus gasseri* K7, připravené kultivací na MRS mediu při teplotě 37 °C/24 hodin. Sedimenty buněk byly následně zpracovávány stejným způsobem jako při přípravě hrubých lyzátů z reálných vzorků.

Adsorpce DNA z reálných vzorků na magnetické částice

Jednotlivé komponenty separační směsi (100 µl magnetických částic o koncentraci 2mg/ml, 100 µl hrubého lyzátu buněk, 400 µl PEG 6000 a 400 µl 5 M NaCl) byly smíchány (konečný objem byl 1000 µl), po 15 minutové inkubaci byly pomocí magnetu odseparovány magnetické nosiče s navázanou DNA. Při izolaci DNA byly testovány separační směsi obsahující 16 % PEG 6000 a 8% PEG 6000. Nosiče s DNA byly následně promyty 1000 µl a 500 µl 70% ethanolu a po odseparování magnetem sušeny v termostatu do odpaření ethanolu. Elucí do 50 µl TE pufru (15 min) byla z magnetických částic uvolněna DNA. Pomocí vnějšího magnetického pole byly z roztoku odstraněny magnetické částice a byl odebrán supernatant s DNA. Kvalita a množství izolované DNA byla ověřena spektrofotometricky.

Konvenční polymerázová řetězová reakce

Amplifikovatelnost DNA izolované magnetickými částicemi byla ověřena pomocí PCR za využití primerů specifických pro doménu *Bacteria*¹⁰ (velikost produktů PCR-490 bp) a primerů specifických pro rod *Lactobacillus*¹¹ (velikost produktů PCR-250 bp).

Směs pro PCR při použití primerů pro doménu *Bacteria* obsahovala 0,5 µl 10 mM dNTP, 1 µl (10 pmol/µl) každého primeru, 1 µl Taq 1.1 polymerasy (1 U/µl), 2,5 µl 10xPCR reakčního pufru (1,5 mM Mg²⁺ iontů) a 1 µl vzorku DNA. Celkový objem použité PCR směsi byl 25 µl (konečný objem byl doplněn vodou pro PCR). V případě směsi pro PCR pro rod *Lactobacillus* se složení PCR směsi odlišovalo v množství použitých primerů, které bylo 0,5 µl (10 pmol/µl) každého primeru.

Amplifikace DNA byla provedena za následujících podmínek: počáteční denaturace 5 min/95 °C, denaturace 30 s/95 °C, připojení primerů 30 s/55 °C a syntéza 30 s/72 °C. Na závěr byla polymerizace v posledním cyklu PCR prodloužena na 10 minut. Celkový počet cyklů byl 30.

Polymerázová řetězová reakce v reálném čase

Kvantifikace DNA, izolované pomocí magnetických částic, byla provedena pomocí PCR v reálném čase za využití primerů specifických pro doménu *Bacteria*¹⁰ a rod *Lactobacillus*¹¹. Směs pro PCR obsahovala 12,5 µl qPCR SYBR Green master mixu, po 1 µl primerů (10 pmol/µl) specifických pro rod *Lactobacillus* nebo doménu *Bacteria* a 1 µl vzorku DNA. Směs byla doplněna vodou pro PCR na objem 25 µl. Program amplifikace byl shodný s konvenční PCR. Poté následoval tzv. melting program (analýza křivek tání) pro ověření specifiky amplikonů, během kterého byla teplota zvyšována od 50 °C do 95 °C.

Pro kvantifikaci byla použita metoda absolutní kvantifikace, využívající kalibrační křivku, ze které je přímo odečítáno množství kopií DNA v analyzovaných vzorcích. Pro sestavení kalibrační křivky byla použita purifikovaná DNA bakteriálního kmene *Lactobacillus gasseri* K7. Kalibrační řada obsahovala DNA v množství 100 ng/µl, 10 ng/ l, 1 ng/µl, 100 pg/ l, 10 pg/ l a 1 pg/ l.

Statistické vyhodnocení výsledků bylo provedeno pomocí softwaru PCR cyklu Rotorgene 6000 (verze 1.7.87). Odpovídající množství DNA bylo vypočteno pomocí Ct hodnoty z kalibrační křivky. Hodnota Ct (práh detekce) představuje cyklus na počátku exponenciální fáze amplifikace, v němž došlo k překročení prahové hodnoty fluorescence. Reakční účinnost (r. e.) byla vypočtena pomocí lineární regrese sklonu amplifikačních křivek (M)

$$r. e. = 10^{(-1/M)} - 1$$

Robustnost metody byla odhadnuta na základě korelačního koeficientu lineární regrese (R²).

Testování inhibičního vlivu magnetických mikročástic na průběh PCR

Možnost interference magnetických polymerních mikročástic P(HEMA-co-GMA) v PCR byla studována pomocí amplifikace DNA *Lactobacillus gasseri* K7 o koncentraci 10ng/µl v přítomnosti různého objemu nanočástic v PCR směsi. Jako kontrola byly použity vzorky obsahující pouze purifikovanou DNA bez přítomnosti magnetických částic ve směsi pro PCR. Při PCR byly využity primery specifické pro doménu *Bacteria* a pro rod *Lactobacillus*¹¹.

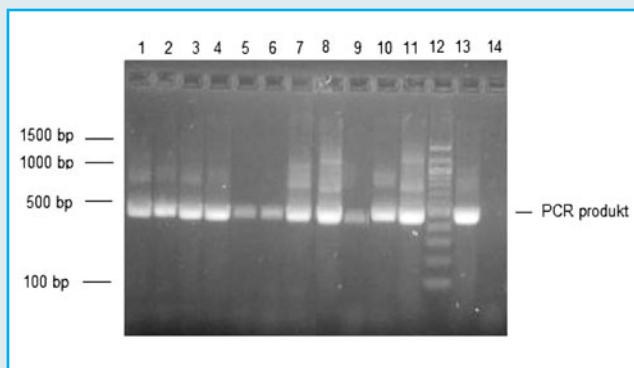
Výsledky a diskuze

Testování inhibičního vlivu magnetických mikročástic na průběh qPCR

Byla porovnávána účinnost amplifikace purifikované DNA v přítomnosti rozdílného množství částic v PCR směsi a bez jejich přítomnosti. Na základě dosažených hodnot Ct a kvantifikovaného množství DNA v PCR směsi bylo provedeno vyhodnocení interference částic v PCR. Bylo zjištěno, že reakční účinnost (hodnota r.e.) v přítomnosti různého množství částic byla shodná pro standard DNA a testované směsi DNA s rozdílným množstvím částic. Na základě těchto výsledků bylo prokázáno, že za uvedených experimentálních podmínek 5 µl a méně roztoku (mikročástic (2 mg/ml) v celkovém objemu PCR směsi 25 µl) neovlivňuje průběh amplifikace ani kvantifikaci DNA u PCR v reálném čase.

Izolace DNA z reálných vzorků magnetickými mikročásticemi

Metoda magnetické separace byla použita pro izolaci DNA z hrubých lyzátů buněk reálných komplexních vzorků. K izolaci DNA byla použita směs s 16% PEG 6000 a 2M NaCl. Pomocí této směsi bylo izolováno větší množství DNA než pomocí směsi s 8% PEG 6000. DNA eluovaná z částic byla následně použita jako matrice do PCR a qPCR. Celkem bylo testováno 11 reálných komplexních vzorků (4 mléčné výrobky, 4 výrobky mléčné kojenecké výživy a 3 druhy probiotických doplňků stravy - viz Tabulka 1. Za podmínek izolace byla ze všech reálných vzorků izolována DNA v dostatečném množství a čistotě (Tabulka 1). Po amplifikaci byly ve všech vzorcích detegovány specifické produkty PCR o velikosti 490 bp, respektive 250 bp.

Obr. 1 Agarosová gelová elektroforéza produktů PCR (490 bp) specifických pro doménu *Bacteria*

Běh č.: (1) Activia, příchutí lesní plody, (2) Activia bílá, (3) Zott bílý, (4) Bílý jogurt z ovčího mléka, (5) Beba premium, (6) Baby lactum, (7) Hipp folgemilch, (8) Biopron Junior, (9) Junior mléko BIFIDUS, (10) Pangamin, (11) Linex forte, (12) DNA standard - 100 bp žebříček, (13) pozitivní kontrola DNA *Lactobacillus gasseri* K7 10 ng/μl, (14) negativní kontrola.

Tab. 2 Vyhodnocení výsledků kvantifikace DNA izolované z výrobků metodou magnetické separace

Výrobek	Ct	DNA <i>Lactobacillus</i> (ng/PCR směs)
Activia, - příchutí lesní plody	16,39	0,19
Activia - bílá	16,40	0,23
Zott - bílý	16,03	0,32
Bílý jogurt z ovčího mléka	16,42	0,27
Beba premium	16,74	0,20
Baby lactum	16,45	0,24
Hip folgemilch	16,69	0,20
Biopron Junior	16,48	0,24
Junior mléko BIFIDUS	n	n
Pangamin	16,06	0,27
Linex forte	15,57	0,52

n = nestanovené

Intenzity produktů PCR odpovídaly množství DNA ve směsi PCR (s výjimkou výrobku Biopron Junior). Výsledky jsou uvedeny na Obr. 1.

Polymerázová řetězová reakce v reálném čase

Kvantifikace DNA izolované pomocí magnetických částic u výrobků byla provedena pomocí PCR v reálném čase za využití primerů specifických pro doménu *Bacteria*¹⁰ a rod *Lactobacillus*¹¹. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 2. Množství DNA bylo řádově shodné s očekávaným nebo výrobcem deklarovaným množstvím DNA.

Analýzou křivek tání byla potvrzena specifita získaných produktů PCR. Pro specifický PCR produkt o velikosti 490 bp (doména *Bacteria*) byla teplota tání stanovena na ≈ 90 °C; pro produkt PCR o velikosti 250 bp (rod *Lactobacillus*) byla teplota tání ≈ 85 °C.

Závěr

Metoda magnetické separace využívající magnetické nosiče je vhodnou metodou izolace genomové DNA z reálných vzorků (mléčných výrobků, mléčných náhrad, probiotických doplňků stravy apod). Vypracovaná metoda magnetické separace je vhodná pro kvantifikaci DNA

izolované z komplexních vzorků pomocí PCR v reálném čase. Za použitých experimentálních podmínek magnetické mikročástice neovlivňovaly průběh amplifikace ani kvantifikaci DNA u PCR v reálném čase.

Literatura

- VASILEVSKAYA, V. V., KHOKHLOV, A. R., MATSUZAWA, Y., YOSHIKAWA, K. J. (1995): *Chem. Phys.* 102, s. 6595.
- KLEIDEITER, G., NORDMEIER, E. (1999): *Polymer* 40 s. 4025.
- ESUMI, K., NAKAIE, Y., SAKAI, K., TORIGOE, K. (2001): *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 194, s. 7.
- KŘÍŽOVÁ J., ŠPANOVÁ A., RITTICH B., HORÁK D. (2005): *J. Chromatogr. A* 1064, s. 247.
- ŠPANOVÁ, A., RITTICH, B., ŠTYRIAK, I., ŠTYRIAKOVÁ, I., HORÁK, D. (2006) : *J. Chromatogr. A*, 1130, s. 115.
- ŠPANOVÁ, A., RITTICH, B., BENEŠ, M.J., HORÁK, D. (2005) : *J. Chromatogr. A*, 1080, s. 93.
- RITTICH, B., ŠPANOVÁ, A., HORÁK, D., BENEŠ, M. J., KLESNILOVÁ, A., PETROVÁ, K., RYBNÍKÁŘ, A. (2006): *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 52, s. 143.
- RITTICH, B., ŠPANOVÁ, A., ŠÁLEK, P., NĚMCOVÁ, P., TRACHTOVÁ, Š., HORÁK, D. (2009): *J. Magn. Magn. Mater.* 321, s. 1667.
- HORÁK, D., SEMENYUK, N., LEDNICKÝ, F. (2003): *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* 41, s. 1848.
- HAARMAN, M., KNOL, J. (2006): *Appl. Environ. Microbiol.* 72, s. 2359.
- DUBERNET S., DESMASURES N., GUÉGUEN M. (2002): *FEMS Microbiol. Letters* 214, s. 271.

Přijato do tisku 10. 5. 2011

Lektorováno 23. 5. 2011

RŮST BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ V MLÉCE FORTIFIKOVANÉM BIOAKTIVNÍMI LÁTKAMI

Peroutková J., Pechačová M., Šalaková A., Kejmarová M.
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Growth of lactic acid bacteria in milk enriched with bio-active substances

Abstrakt

V této práci byl sledován růst vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení, konkrétně rod *Lactobacillus*. Jako substrát bylo použito mléko obohacené o bioaktivní látky. Testován byl přídatek omega-3-polynenasycených mastných kyselin, pupalkového oleje v sušené formě, sojového mléka, sladového výtažku a pšeničných klíčků. Po fermentaci byly substráty hodnoceny dle denzity mikroorganismů, aktivní kyselosti, obsahu organických kyselin a zároveň bylo provedeno senzoričké hodnocení.

Klíčová slova: *Lactobacillus*, fortifikace, bioaktivní látky

Abstract

In this work was monitored growth of some strains of lactic acid bacteria from the genus *Lactobacillus*. Enriched