

a navýšení obsahu sušiny. Obsah sušiny nebylo možno již zvyšovat WPC proteiny, z důvodu jejich omezené rozpustnosti a v případě sušeného kozího mléka bylo nutné z důvodů nežádoucích senzorických vlastností snížit jeho přídavek na 1,0 % hm. Substrát s kukuřičným škrobem nebyl pro výrobu jogurtového výrobku použit z důvodu nežádoucích technologických vlastností v první části pokusu (špatná rozpustnost). Výsledky stanovení obsahu celkové sušiny a tuku ve vybraných substrátech pro výrobu jogurtového výrobku jsou uvedeny v tabulce 4. Ve všech případech s výjimkou substrátu prebiotika Orafti P95 s koncentrátem syrovátkových proteinů, kdy došlo ke snížení sušiny z 17,0 na 16,1 g/100 g vzorku, došlo k žádoucímu zvýšení obsahu celkové sušiny v porovnání s úvodními pokusy.

Vybrané substráty byly zaočkovány třemi kombinacemi kultur a kmenů - I. - CCDM 176 a *B. animalis* subsp. *lactis* Bb12, II. - CCDM 176 a *Lbc. acidophilus* CCDM 151 a III. - *Str. thermophilus* CCDM 144 a *Lbc. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CCDM 66. Tabulky 4 a 5 přehledně shrnují výsledky mikrobiologických a chemických stanovení, ze kterých vyplývá, že nejvhodnější substrát pro výrobu jogurtového výrobku je substrát s výším obsahem prebiotika (5,0 % w/w), koncentrátu syrovátkových bílkovin (2,0 % w/w) nebo sušeného kozího mléka (1,0 % w/w). V budoucnu by bylo možné otestovat i kombinaci výše zmíněných substrátů, tedy prebiotika, WPC koncentrátu a sušeného kozího mléka a jejich optimální přídavek.

## Závěr

Na základě stanovených chemických a mikrobiologických výsledků byl vyhodnocen jako nejvhodnější substrát pro výrobu jogurtového výrobku substrát s přídavkem prebiotika Orafti P95 (5,0 % w/w) a koncentrátu syrovátkových bílkovin (2,0 % w/w) nebo sušeného kozího mléka (1,0 % w/w).

## Poděkování

Tato práce vznikla v rámci institucionální podpory VÚM s.r.o., rozhodnutí č. RO 0513 a projektu Ministerstva Zemědělství č. QJ1310107.

## Literatura

- BINDER M., DRBOHLAV J., PECHAČOVÁ M., JARMAR J. (2012): Tepelná stabilita nápojů na bázi mléčných složek v závislosti na koncentraci syrovátkových bílkovin. *Mlékařské listy* 135, XV - XX.
- ČSN 57 0105-4 (1981): Metody zkoušení mléčných výrobků sušených a zahuštěných - Část 4: Stanovení obsahu tuku, Český normalizační institut, Praha.
- ČSN 57 0105-13 (2003): Metody zkoušení mléčných výrobků sušených a zahuštěných - Část 13: Stanovení obsahu vody v sušeném mléce, Český normalizační institut, Praha.
- ČSN 57 0530 (1979): Metody zkoušení mléka a mléčných výrobků, Český normalizační institut, Praha.
- ČSN ISO 2446 (2010): Mléko - Stanovení obsahu tuku (Rutinní metoda), Český normalizační institut, Praha.
- ČSN ISO 29981 (2010): Mléčné výrobky - Stanovení počtu presumptivních bifidobakterií - Technika počítání kolonií vykultivovaných při 37 °C, Český normalizační institut, Praha.
- ČSN ISO 6731 (2011): Mléko, smetana a zahuštěné neslazené mléko - Stanovení obsahu celkové sušiny (Referenční metoda), Český normalizační institut, Praha.
- ČSN ISO 7889 (2004) : Jogurt - Stanovení počtu charakteristických mikroorganismů - Technika stanovení počtu kolonií při 37 °C, Český normalizační institut, Praha.
- FOLIGNÉ B., DANIEL C., POT B. (2013): Probiotics from research to market: the possibilities risks and challenges, *Current Opinion in Microbiology* 16, s. 284-292.
- HAENLEIN G.F.W. (2004): Goat milk in human nutrition, *Small Ruminant Research* 51, s. 155-163.
- HANUŠOVÁ J., NĚMEČKOVÁ I. (2011): Syrovátkové bílkoviny jako surovina pro výrobu funkčních potravin, *Výživa a potraviny* 6, s.142 - 144.
- JANDAL J.M. (1996): Comparative aspects of goat and sheep milk, *Small Ruminant Research* 22, s. 177-185.
- KUNOVÁ G., RADA V., LISOVÁ I., ROČKOVÁ Š., VLKOVÁ E. (2011): In vitro fermentability of prebiotic oligosaccharides by lactobacilli. *Czech Journal of Food Science* 29, s. 49-54.
- LEE J., YUN S.H., CHO K.W., OH S., KIM H.S., CHUN T., KIM B., WHANG K.Y. (2011): Evaluation of probiotic characteristics of newly isolated Lactobacillus spp.: Immunmodulation and longevity, *International Journal of Food Microbiology* 146, s. 80-86.
- REID G. (2008): Probiotics and prebiotics - Progress and challenges, *International Dairy Journal* 18, s. 969-975.
- SANZ SAMPELAYO M.R., CHILLIARD Y., SCHMIDELY PH., BOZA J. (2007): Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk, *Small Ruminant Research* 68, s. 42-63.
- SANDERS M.E. (2008): Probiotics: Definition, Sources, Selection, and Uses, *Clinical Infection Diseases* 46, s. 58-61.
- SENAKA RANADHEERA C., EVANS C.A., ADAMS M.C., BAINES S.K. (2012): Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk, *Food Chemistry* 135, s. 1411-1418.
- SENEL E., ATAMER M., GÜRSOY A., ÖZTEKİN F.S. (2011): Changes in some properties of strained (Süzme) goat's yoghurt during storage, *Small Ruminant Research* 99, s. 171-177.
- SCHREZENMEIR J., DE VRESE M. (2001): Probiotics, prebiotics, and synbiotics-approaching a definition, *The American Journal of Clinical Nutrition* 73, s. 361-364.
- TAMIME A.Y., WSZOŁEK M., BOŽANIĆ R., ÖZER B. (2011): Popular ovine and caprine fermented milks, *Small Ruminant Research* 101, s. 2-16.

Přijato do tisku 13. 11. 2013  
Lektorováno 29. 11. 2013

## SLEDOVÁNÍ ODOLNOSTI VYBRANÝCH KMENŮ LAKTOBACILŮ PŘI RŮZNÝCH TEPLOTÁCH SKLADOVÁNÍ

**Šalaková A., Roubal P., Drbohlav J., Dragounová H., Kunová G.**

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

**Observation of resistance selected lactobacilli strains at various storage temperatures by freezing**

## Abstrakt

Práce byla zaměřena na způsob deponování vybraného souboru laktobacilů dvoufázovým ošetřením - zchlazením

a rychlým zmražením a uchováváním při teplotách -18 °C a -40 °C. Laktobacily byly kultivovány ve směsném médiu z mléka, peptonu, masového a kvasničného extraktu. Do poloviny vzorků bylo přidáno 12,75 % glycerolu, poté byly vzorky zchlazeny na 4 °C a poté zmraženy na teplotu -18 °C a -40 °C. Počet KTJ/ml byl stanoven za 24 hod a za 3 měsíce po zmražení. V tomto experimentu nebyl zaznamenán významný rozdíl v počtu KTJ/ml laktobacilů v závislosti na teplotě skladování a případku glycerolu. Přídavek glycerolu v dávce 12,75 % měl pozitivní vliv na skladování kmenů *Lactobacillus helveticus* CCDM 447 a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CCDM 767 při teplotě -18 °C.

**Klíčová slova:** Laktobacily, skladování, mražení

## Abstract

The work was focused on the method of depositing selected strains of lactobacilli by two-phase treatment - cooling and shock freezing and storage at temperatures of -18 °C and -40 °C. Lactobacilli were cultured in mixed media of milk, peptone, yeast and beef extracts, in half of the samples was added 12,75% glycerol, and then the samples were cooled to 4 °C and then frozen at -18 °C and -40 °C. CFU / ml were determined after 24 h and for 3 months after freezing. No significant difference was determined in the count of CFU / ml of lactobacilli, depending on the storage temperature and the addition of glycerol. Addition of glycerol had a positive effect on the storage *Lactobacillus helveticus* CCDM 447 and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CCDM 767 at -18 °C.

**Key words:** Lactobacilli, storage, freezing

## Úvod

Laktobacily nacházejí široké spektrum využití. Běžně jsou používány v mlékárenském průmyslu při výrobě kysaných mléčných výrobků a sýrů. Pro své významné probiotické vlastnosti jsou z nich připravovány výživové doplňky, které mohou být následně aplikovány v prevenci a v terapii některých onemocnění.

Lékařské studie ukazují na příznivý vliv laktobacilů na potíže způsobené dráždivým tračníkem. Sinn a kol. (2008) sledovali vliv podávání kmenů *Lactobacillus acidophilus* SDC 2012 a 2013 40 pacientům v randomizované studii. Bylo konstatováno, že skupina pacientů užívající probiotika měla po čtyřech týdnech nižší skóre bolestivosti břicha a pocitu diskomfortu než skupina kontrolní.

Laktobacily mají pozitivní vliv i na další onemocnění spojená s průjmy. Laktobacily byly testovány a využívány v prevenci průjmů spojených s léčbou antibiotiky (Hickson a kol., 2007). Starším pacientům (průměrný věk 74 let), kteří užívali antibiotika, byla podávána směs kmenů *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei* a *Streptococcus thermophilus*. Tato probiotika významně pozitivně působila v prevenci antibiotického průjmu

oproti placebové skupině, která užívala sterální mléčný nápoj.

Jiná studie poukazuje na účinek preparátu Lactinex (směs laktobacilů *Lactobacillus acidophilus* a *Lactobacillus bulgaricus*), který prokázal v randomizované dvojitě zaslepené studii na 96 pacientech zlepšení stavu v pokusné skupině oproti skupině s placebem. Studie byla zaměřena na průjmová onemocnění způsobená podáváním ampicilinu (Gotz a kol., 1979).

Některé laktobacily mají i další významné vlastnosti. *Lactobacillus gasseri* OLL 2716, na základě studie Sakamoto a kol. (2001), je schopen potlačovat infekční bakterii *Helicobacter pylori* u lidí a současně omezuje zánět žaludeční sliznice.

Obdobné výsledky byly zjištěny působením kmene *Lactobacillus johnsonii* La1 (Gotteland and Cruchet, 2003).

Aby bylo možno kmény laktobacilů s pozitivními účinky vhodně aplikovat, je třeba zajistit jejich odpovídající výrobu, prověřit konzervační možnosti a nalézt vhodné podmínky pro skladování.

Mražení, lyofilizace, vakuové a sprejové sušení jsou nejvíce používané metody ochrany produktů s obsahem bakteriálních složek v potravinářství, zemědělství a farmaceutickém průmyslu. Během této procesu může být biologický materiál nenávratně poškozen (Conrad a kol., 2000).

Z tohoto důvodu jsou hledány nové cesty optimalizace técto konzervačních postupů.

Zamražování a následné rozmražování, stejně tak délka skladování a teplota mražení poškozuje buněčnou membránu a buňky se tak stávají více citlivé vůči chloridu sodnému a žlučovým solím (Fernandez Murga a kol., 1998). Autoři sledovali produkci kyseliny mléčné a proteolytickou aktivitu mražených kmén *Lactobacillus acidophilus* CRL 640 a CRL 800. Bylo zjištěno, že již po 21 dnech skladování při -20 °C došlo k poklesu jak produkce kyseliny mléčné tak i ke snížení proteolytické aktivity, zatímco aktivita beta galaktosidázy byla vyšší.

Fonseca a kol. (2006) testovali kmen *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* při nízkých teplotách skladování až do -196 °C. Zaměřili se kinetiku mražení a následně skladovací teploty a jejich efekt na biologickou aktivitu. Kmen *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* byl zamražen za přítomnosti glycerolu při teplotách -196 a -20 °C a dále vzorky byly skladovány při teplotách -196 a -80 °C. Bylo konstatováno, že jak na acidifikaciaktivitu tak na životnost má rychlé zamražení v tekutém dusíku minimální vliv. Vzorky skladované při -20 °C a rychle zmrzařené měly nejvyšší ztrátu životnosti a kysací aktivity. Autoři toto vysvětlují osmotickou disbalancí při rozmrazování vzorků a nikoliv tvorbou intracelulárního ledu.

Cílem této práce bylo prověřit, jaké podmínky úchovy mražením jsou vhodné pro soubor vybraných laktobacilů, uvedených v tabulce č.1, který je v laboratoři v současnosti dlouhodobě testován.

**Materiál****Tab. 1** Kmeny laktobacilů ze Sbírky mlékařských mikroorganismů Laktoflora®

Pořadí	Kmen	Sbírkové číslo
1	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	CDDM 151
2	<i>Lactobacillus casei</i>	CDDM 198
3	<i>Lactobacillus casei</i>	CDDM 199
4	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CDDM 62
5	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CDDM 92
6	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CDDM 98
7	<i>Lactobacillus helveticus</i>	CDDM 447
8	<i>Lactobacillus plantarum</i>	CDDM 182
9	<i>Lactobacillus plantarum</i>	CDDM 385
10	<i>Lactobacillus plantarum</i>	CDDM 388
11	<i>Lactobacillus paracasei</i>	CDDM 818
12	<i>Lactobacillus paracasei</i>	CDDM 819
13	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	CDDM 66
14	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	CDDM 767
15	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	CDDM 156
16	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	CDDM 821

**Živná média a pomocné látky:**

Mléko 1,5 % tuku  
MRS bujón Merck 1.10661.0500  
Glycerin bezvodý p.a. Lach:ner

**Zařízení:**

Mrazící box Electrolux (-40 °C)  
Mrazící a chladící box Elektrolux  
Zamražovací zařízení Shirman  
Mikroskop Axio Zeiss

**Výsledky a diskuze**

Substrát pro kultivaci kmenů byl připraven z mléka 1,5 % tuku s přídavkem 10 % MRS bujónu. Jednotlivé složky byly sterilovány při 121 °C po dobu 15 minut. Po zchlazení na kultivační teplotu byly substráty zaočkovány kmeny laktobacilů v dávce 2 % obj., u kmenů č. 1, 5, 13, 14 byla dávka inokula zvýšena na 5 % obj.. Poté byly kmeny kulтивovány v termostatu při 37 °C po dobu 16 hodin.

Po kultivaci bylo provedeno stanovení morfologických znaků mikroskopicky. Preparáty byly obarveny methylenovou modří. Dále byla změřena aktivní kyselost a byl stanoven počet KTJ/ml. Tyto hodnoty jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Poté byly fermentované substráty rozplněny do sterilních zkumavek. Do poloviny zkumavek byl přidán kryoprotekční roztok 85 % glycerolu v dávce 15 % tj. 12,75 % glycerolu. Zkumavky byly nejprve zchlazeny na teplotu 4 °C, poté rychle zamraženy v zamrazovacím zařízení Shirman, určeném pro rychlé mražení, na sledovanou teplotu a pak umístěny do mrazících boxů o teplotách -18 a -40 °C. Za 24 hodin po zamrazení byla první část zkumavek šetrně rozmražena ve vodní lázni o teplotě 30 °C. Následná kontrola byla zaměřena na porovnání počtu KTJ/ml s a bez přídavku glycerolu v závislosti na vlivu teploty zamražení. Tyto výsledky ukazuje tabulka č.3.

**Tab. 2** Stanovení aktivní kyselosti a počtu KTJ/ml před mražením

Kmen č.	pH	KTJ/ml
1	4,55	2,8.10 <sup>8</sup>
2	4,34	3,7.10 <sup>9</sup>
3	4,33	5,4.10 <sup>9</sup>
4	4,16	3,5.10 <sup>8</sup>
5	3,47	3,6.10 <sup>7</sup>
6	3,52	6,8.10 <sup>8</sup>
7	3,42	2,2.10 <sup>9</sup>
8	4,27	2,5.10 <sup>9</sup>
9	4,20	9,0.10 <sup>8</sup>
10	4,25	2,3.10 <sup>9</sup>
11	4,33	2,5.10 <sup>9</sup>
12	4,27	2,2.10 <sup>9</sup>
13	4,11	3,0.10 <sup>8</sup>
14	4,28	8,0.10 <sup>8</sup>
15	4,19	7,9.10 <sup>8</sup>
16	4,13	3,2.10 <sup>9</sup>

**Tab. 3** Stanovení počtu KTJ/ml testovaných kmenů po rozmrazení s a bez přídavku 12,75 % glycerolu deponovaných při -18 °C a -40 °C po dobu 24 hodin

Kmen č.	KTJ/ml při teplotě skladování -18 °C bez glycerolu	KTJ/ml při teplotě skladování -18 °C s glycerolem	KTJ/ml při teplotě skladování -40 °C bez glycerolu	KTJ/ml při teplotě skladování -40 °C s glycerolem
1	2,0.10 <sup>8</sup>	3,0.10 <sup>8</sup>	2,0.10 <sup>8</sup>	2,0.10 <sup>8</sup>
2	3,5.10 <sup>9</sup>	2,7.10 <sup>9</sup>	3,9.10 <sup>9</sup>	3,4.10 <sup>9</sup>
3	4,7.10 <sup>9</sup>	2,7.10 <sup>9</sup>	5,7.10 <sup>9</sup>	3,8.10 <sup>9</sup>
4	3,1.10 <sup>8</sup>	5,0.10 <sup>8</sup>	4,0.10 <sup>8</sup>	3,0.10 <sup>8</sup>
5	2,2.10 <sup>7</sup>	1,0.10 <sup>7</sup>	3,0.10 <sup>7</sup>	2,0.10 <sup>7</sup>
6	6,0.10 <sup>8</sup>	6,0.10 <sup>8</sup>	6,1.10 <sup>8</sup>	6,1.10 <sup>8</sup>
7	1,1.10 <sup>9</sup>	3,6.10 <sup>9</sup>	1,2.10 <sup>9</sup>	5,1.10 <sup>8</sup>
8	1,8.10 <sup>9</sup>	2,8.10 <sup>9</sup>	2,3.10 <sup>9</sup>	3,3.10 <sup>9</sup>
9	2,0.10 <sup>9</sup>	1,7.10 <sup>9</sup>	3,1.10 <sup>9</sup>	6,0.10 <sup>8</sup>
10	3,0.10 <sup>9</sup>	2,8.10 <sup>9</sup>	2,4.10 <sup>9</sup>	1,8.10 <sup>9</sup>
11	3,5.10 <sup>9</sup>	3,1.10 <sup>9</sup>	3,5.10 <sup>9</sup>	2,5.10 <sup>9</sup>
12	3,5.10 <sup>9</sup>	1,9.10 <sup>9</sup>	3,4.10 <sup>9</sup>	2,7.10 <sup>9</sup>
13	3,4.10 <sup>8</sup>	9,0.10 <sup>8</sup>	3,0.10 <sup>8</sup>	2,0.10 <sup>8</sup>
14	8,0.10 <sup>8</sup>	6,0.10 <sup>8</sup>	1,3.10 <sup>9</sup>	6,0.10 <sup>8</sup>
15	7,0.10 <sup>8</sup>	8,0.10 <sup>8</sup>	1,3.10 <sup>9</sup>	5,0.10 <sup>8</sup>
16	2,6.10 <sup>9</sup>	3,3.10 <sup>9</sup>	3,2.10 <sup>9</sup>	2,8.10 <sup>9</sup>

U kmenů č. 2, 3, 5, 9, 10, 11, 12 a 14, kde bylo přidáno kryoprotekční médium a kmeny byly deponovány při teplotě -18 °C, byl počet KTJ/ml nižší než u kmenů bez přídavku. Rozdíly v hodnotách jsou v rámci stejněho řádu.

Snížený počet KTJ/ml byl zaznamenán i u kmenů s kryoprotekčním médiem deponovaných při teplotě -40 °C a to u kmenů č. 2, 3, 4, 5, 10, 11, 12, 13 a 16. Rozdíly jsou minimální a lze konstatovat, že zjištěné hodnoty mají odchylku v rámci mikrobiologické chyby.

Z těchto výsledků vyplývá, že po 24 hodinách mražení při teplotách -18 a -40 °C nebyl zaznamenán významný pozitivní vliv použitého kryoprotekčního média na počet KTJ/ml.

Po třech měsících skladování byly mražené kultury opětovně testovány, jak přežívají mikroorganismy za testovaných podmínek skladování při teplotách -18 a -40 °C a výsledky jsou shrnutý v tabulce č. 4.

**Tab. 4 Stanovení počtu KTJ/ml testovaných kmenů po rozmrázání s a bez přídavku 12,75 % glycerolu deponovaných při -18 °C a -40 °C po dobu 3 měsíce**

Kmen č.	KTJ/ml při teplotě skladování -18 °C bez glycerolu	KTJ/ml při teplotě skladování -18 °C s glycerolem	KTJ/ml při teplotě skladování -40 °C bez glycerolu	KTJ/ml při teplotě skladování -40 °C s glycerolem
1	2,2.10 <sup>8</sup>	5,2.10 <sup>8</sup>	4,7.10 <sup>7</sup>	4,3.10 <sup>7</sup>
2	4,4.10 <sup>9</sup>	1,8.10 <sup>9</sup>	4,1.10 <sup>9</sup>	6,4.10 <sup>8</sup>
3	2,8.10 <sup>9</sup>	3,6.10 <sup>9</sup>	4,9.10 <sup>9</sup>	3,5.10 <sup>9</sup>
4	4,0.10 <sup>8</sup>	5,0.10 <sup>8</sup>	5,0.10 <sup>8</sup>	3,0.10 <sup>8</sup>
5	5,0.10 <sup>7</sup>	5,0.10 <sup>7</sup>	2,5.10 <sup>7</sup>	4,9.10 <sup>7</sup>
6	6,4.10 <sup>8</sup>	6,0.10 <sup>8</sup>	6,0.10 <sup>8</sup>	6,0.10 <sup>8</sup>
7	6,2.10 <sup>8</sup>	1,1.10 <sup>9</sup>	2,1.10 <sup>8</sup>	7,0.10 <sup>8</sup>
8	1,0.10 <sup>9</sup>	2,3.10 <sup>9</sup>	2,0.10 <sup>9</sup>	2,0.10 <sup>9</sup>
9	1,1.10 <sup>9</sup>	2,2.10 <sup>9</sup>	1,5.10 <sup>9</sup>	5,9.10 <sup>8</sup>
10	2,1.10 <sup>9</sup>	1,4.10 <sup>9</sup>	1,1.10 <sup>9</sup>	2,6.10 <sup>9</sup>
11	4,5.10 <sup>9</sup>	1,9.10 <sup>9</sup>	1,8.10 <sup>9</sup>	1,4.10 <sup>9</sup>
12	2,8.10 <sup>9</sup>	3,1.10 <sup>9</sup>	2,6.10 <sup>9</sup>	7,0.10 <sup>8</sup>
13	1,8.10 <sup>8</sup>	1,2.10 <sup>8</sup>	2,9.10 <sup>8</sup>	1,4.10 <sup>8</sup>
14	2,6.10 <sup>8</sup>	8,7.10 <sup>8</sup>	6,0.10 <sup>8</sup>	6,0.10 <sup>8</sup>
15	1,3.10 <sup>8</sup>	1,0.10 <sup>8</sup>	1,5.10 <sup>9</sup>	4,5.10 <sup>8</sup>
16	3,3.10 <sup>9</sup>	2,2.10 <sup>9</sup>	3,5.10 <sup>9</sup>	2,5.10 <sup>9</sup>

Na základě zjištěného počtu mikroorganismů lze konstatovat, že teplota -18 °C je vhodnou teplotou pro úchovu mlékařských kultur po dobu 3 měsíců. Významné rozdíly mezi kulturami bez a s přídavkem 12,75 % glycerolu nebyly zjištěny. Pouze u kmenů č. 7 a č. 14 přídavek glycerolu výrazněji pozitivně působil tím, že nedošlo ke snížení počtu MO, zatímco kultury bez glycerolu snížily počet o půl řádu KTJ/ml.

Obdobné výsledky jsme zaznamenali při použití konzervační teploty -40 °C. Ani zde nebyly zjištěny významné rozdíly mezi kulturou skladovanou 24 hodin a 3 měsíce. I tato teplota je vhodná pro dlouhodobé skladování laktobacilů.

## Závěr

Na základě zjištěných výsledků lze konstatovat, že vybraný soubor laktobacilů lze deponovat dvoufázovým ošetřením - zchlazením a poté rychlým zmrzlením a uchováním za teplot -18 °C a -40 °C po dobu 3 měsíců bez významné ztráty na počtu KTJ/ml. Mezi sledovanými teplotami nebyly zjištěny výrazné rozdíly. Použitý směsňý substrát na bázi mléka s peptonem, masovým a kvasničným extraktem je vhodnou kultivační půdou a i kryoprotekčním médiem. Přídavek glycerolu v dávce 12,75 % měl pozitivní vliv na počet KTJ/ml kmenů *Lactobacillus helveticus* CCDM 447 a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CCDM 767 při teplotě skladování -18 °C.

## Literatura

- Conrad P.B. a kol.(2000): Stabilization and preservation of *Lactobacillus acidophilus* in saccharide matrices. *Cryobiology*, Volume 41, Issue 1, Pages 17-24  
 Sinn D.H.a kol.(2008): Therapeutic effect of *Lactobacillus acidophilus* - SDC 2012,2013 in patients with irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 50:2714-2718  
 Fernandez Murga M.L. a kol.(1998): Survival rate and Enzyme activities of *Lactobacillus acidophilus* following frozen storage. *Cryobiology*. Volume 36, Issue 4, Pages 315-319  
 Fonseca F.a kol.(2006): Stabilization of frozen *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in glycerol suspensions: Freezing kinetics and storage temperature effects. *Appl. Environ. Microbiol.* Volume 72, 6474-6482  
 Gotz V.a kol.(1979): Prophylaxis against ampicillin-associated diarrhea with a lactobacillus preparation. *Am. J. Hosp. Pharm.* June 1,vol 36 (6) 754-757  
 Gotteland M, Cruchet S.(2003): Suppressive effect of frequent ingestion of *Lactobacillus johnsonii* La1 on *Helicobacter pylori* colonization in asymptomatic volunteers. *J.Antimicrob.Chemother.* May 51(5):1317-9  
 Hickson M. a kol. (2007): Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. *BMJ*, Jul 14, 335(7610):80.  
 Sakamoto I. a kol. (2001): Suppressive effect of *Lactobacillus gasseri* OLL 2716 (LG21) on *Helicobacter pylori* infection in humans. *J. Antimicrob. Chemother* 47 (5): 709-710

Výzkum byl podpořen v rámci projektů QJ1210093 a RO 0513.

Přijato do tisku 4. 11. 2013

Lektorováno 29. 11. 2013

## SLEDOVÁNÍ VYBRANÝCH MIKROBIALNÍCH A CHEMICKÝCH PARAMETRŮ V KOLOSTRU ČESKÉHO ČERVENOSTRAKATÉHO SKOTU

Ivana Lisová<sup>1</sup>, Gabriela Kunová<sup>1</sup>, Lenka Diblíková<sup>3</sup>,

Ladislav Čurda<sup>3</sup>, Tereza Michlová<sup>2</sup>

<sup>1</sup> - Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha;

<sup>2</sup> - Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze;

<sup>3</sup> - Fakulta potravinářská a biochemické technologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

**Study of selected microbial and chemical parameters in colostrum from the Czech red cattle**

## Abstrakt

Cílem této studie bylo testování mikrobiologických a chemických ukazatelů kvality kravského kolostra od prvotekl i dojnic českého červenostrakatého skotu. Z mikrobiologických parametrů byly sledovány počty kvasinek, plísni, koliformních bakterií, *E. coli*, koaguláza pozitivních stafylokoků a celkový počet mikroorganismů.