

LAKTOBACILY Z KOZIEHO MLIEKA, AKO POTENCIÁLNE ŠTARTOVACIE KULTÚRY

Anna Slottová¹, Marcela Kontová¹, Lýdia Klapáčová², Iva Jebavá³, Dobroslava Bujňáková⁴, Maroš Drončovský¹, Miroslav Kološta¹ a Martin Tomáška¹

¹ Výskumný ústav mliekárenský, a.s.; Žilina, Slovensko

² Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; Košice, Slovensko

³ Vysoká škola chemicko-technologická v Praze; Praha, Česká republika

⁴ Ústav fyziológie hospodárskych zvierat, Slovenská akadémia vied; Košice, Slovensko

LACTOBACILLI FROM GOAT'S MILK, AS POSSIBLE STARTERS

Abstrakt

Fermentované mliečne výrobky z kozieho mlieka by mali byť vyrábané až po jeho tepelnom ošetrení, kvôli zdravotnej bezpečnosti. V predchádzajúcich prácach bola popísaná izolácia, identifikácia (MALDI-TOF MS) a čiastočná charakterizácia troch kmeňov laktobacilov, ktoré boli získané z kozieho mlieka. Predmetom súčasného výskumu bolo potvrdenie identifikácie týchto kmeňov pomocou sekvenácie 16S rRNA, doplnenie ďalších technologických vlastností a otestovanie ich použitia pri kysnutí pasterizovaného kozieho mlieka, ako súčasť štartovacích kultúr. Kmene boli identifikované obdobne: ako *Lactobacillus casei* (21L10), *Lactobacillus johnsonii* (KB2-1) a *Lactobacillus plantarum* (25/1L). Kmene nemali ureázovú aktivitu a s výnimkou kmeňa KB2-1 rástli aj v médiu s vyššou koncentráciou močoviny. Na médiu s tributyrínom nevykazovali žiadnu lipolytickú aktivitu. Na médiu s ruténiovou červenou vytvárali ružové kolónie, čiže ich možno považovať za suspektné "ropy strains". Kmene 21L10 a predovšetkým 25/1L fermentovali kozie mlieko (spolu s kmeňom *Lactococcus lactis* 33S7) na sensoricky veľmi príjemné kyslomliečne nápoje.

Kľúčové slová: kysnuté kozie mlieko, laktobacily, lipolýza, ureáza, exopolysacharidy

Abstract

Fermented dairy products from goat's milk should not be produced without heat treatment in consideration of their health safety. In previous studies, isolation, identification (MALDI-TOF MS) and characterization of three strains obtained from goat's milk was described. The aim of this study was to confirm of previous identification of these strains by 16S rRNA sequencing, add of other processing properties and analyze their further use in a process of fermentation of pasteurized goat's milk as a component of

starters. The strains were identified as follows: *Lactobacillus casei* (21L10), *Lactobacillus johnsonii* (KB2-1) and *Lactobacillus plantarum* (25/1L). These strains had not urease activity - and except the strain KB2-1, they grew even in a medium with higher concentration of urea. On a medium with tributyrin, they did not show any lipolytic activity. On a medium with ruthenium red, they formed pink colonies, therefore they can be considered as suspect ropy strains. Strains 21L10 and mainly 25/1L fermented goat's milk (together with strain *Lactococcus lactis* 33S7) to pleasant smell and taste fermented dairy beverages.

Key words: fermented goat's milk, lactobacilli, lipolysis, urease, exopolysaccharides

Úvod

Chov kôz má na Slovensku vzrastajúcu tendenciu. Prevažujú drobní chovatelia, ale existuje aj niekoľko prevádzok s veľkými počtami stád (Margetín, 2014). Kozie mlieko má oproti kravskému viacero výhod. Je považované za ľahšie stráviteľné a u niektorých pacientov môže mať nižší alergénny potenciál (Spuergin a kol., 1997). Jeho nevýhodou je, že mlieko, vzhľadom na voľný chov kôz, môže byť prenášačom encefalitídy (Máderová, 2005). Preto sa má konzumovať až po tepelnom ošetrení. Najčastejšie sa spracováva ako konzumné mlieko, na syry (čerstvé, s plesňou, tvrdé), či na kyslomliečne nápoje. Pri výrobe syrov a nápojov sa používajú takmer výlučne komerčne dostupné kultúry, čo je škoda, pretože pre spotrebiteľa sa tým výrazne redukuje variabilita dostupných kyslomliečnych baktérií (KMB) a aj rozmanitosť chutí finálnych výrobkov. Pritom kozie mlieko je úžasným rezervoárom divokých KMB, z ktorých viaceré majú zaujímavé vlastnosti (Guessas a Kihal, 2004).

Prezentovaná práca nadväzuje na doterajšie výskumy ohľadne izolácie, identifikácie a charakterizácie laktobacilov, izolovaných z kozieho mlieka (Kološta a kol., 2014; Klapáčová a kol., 2015). Je zameraná na identifikáciu vytvorenej zbierky laktobacilov pomocou sekvenácie 16S rRNA, na popis ďalších technologicky významných vlastností (ureázovej a lipolytickej aktivity a produkcie exopolysacharidov) a na otestovanie kmeňov, ako štartovacích kultúr pri fermentácii pasterizovaného kozieho mlieka.

Materiál a metódy

Okrem kmeňov laktobacilov, ktoré sú predmetom tejto štúdie sa pri fermentácii kozieho mlieka použil aj kmeň *Lactococcus lactis* 33S7, ktorý bol izolovaný z ovčieho hrudkového syra (PD Liptovská Lužná, Liptovská Lužná, Slovensko) a je súčasťou zbierky kultúr Výskumného ústavu mliekárenského, Žilina, Slovensko.

Identifikácia používaných kmeňov bola vykonaná nasledovne: gDNA bola izolovaná pomocou DNeasy Blood and Tissue kit (Qiagen, Hiden, Nemecko) a protokolu určeného pre grampozitívne baktérie. Následne bola pomocou PCR

vykonaná amplifikácia génu kódujúceho 16S rRNA primery W001 a W002 (Godon a kol., 1997). Potom boli amplifikované fragmenty o veľkosti 1500 bp prečistené pomocou QIAquick PCR Purification kit (Qiagen). Fragmenty boli obojstranne sekvenované; získané sekvenencie boli zložené v programe DNA Baser a vyhodnotené pomocou algoritmu BLASTN v génovej banke NCBI.

Ureázová aktivita bola sledovaná v médiu Urea, obsahujúcim 2 % močoviny a indikátor fenolovú červenú (MKB Test, Rosina, Slovensko), po 24 a 48 hodinovej kultivácii pri teplotách 30°C a 37°C. Posudzoval sa rast a zmena farby média. (Lanyi, 1987).

Lipolytická aktivita bola sledovaná v médiu DEV Nutrient agar (MERCK, Darmstadt, Nemecko), do ktorého bolo pred sterilizáciou pridané 1 % tributyrínu 98 % (Acros Organics, New Jersey, USA). Nočné kultúry (40 µl) boli nanosené na disky Rotilabo Test Leaves (Carl Roth, Karlsruhe, Nemecko) a boli kultivované aeróbne po dobu 4 dní pri teplote 37°C. Posudzovala sa tvorba vyčirenej zóny (Havlová a kol., 1993).

Tvorba exopolysacharidov (EPS) bola sledovaná na médiu so sacharózou, obnoveným odtučneným mliekom a ruténiovou červenou (Sigma-Aldrich, St. Luis, USA). Po naočkovaní nočnými kultúrami boli Petriho misky kultivované aeróbne počas 72 hodín pri teplote 37°C. Tvorba sa posudzovala podľa farby vyrastených kolónií (Stinglee a kol., 1996).

Surové kozie mlieko (Abel Plus, Podvysoká, Slovensko) bolo ošetrované nasledovným spôsobom: Prvá pasterizácia: 68°C - 72°C bez výdrže, homogenizácia, druhá pasterizácia: 92°C - 95°C, po dobu 15 minút, ochladenie na kultivačnú teplotu. Následne bolo mlieko naočkované 1 % (obj.) kultúry, ktorá obsahovala buď samotné laktokoky, alebo pomer laktokokov ku laktobacilom 7:3. Mlieka boli kultivované pri teplotách 30°C alebo 37°C, staticky aeróbne po dobu 20 hodín. Následne boli fermentované mlieka vychladené na teplotu 8°C, rozmixované a umiestnené do chladničky. Skúšané boli po 7 dňoch skladovania.

Počty prezumpatívnych laktokokov boli zisťované na M17 tuhom médiu (MERCK, Darmstadt, Nemecko) po aeróbnej kultivácii vhodne nariadených vzoriek počas 72 hodín pri teplote 30°C. Počty prezumpatívnych laktobacilov boli zisťované na MRS tuhom médiu (MERCK, Darmstadt, Nemecko) po anaeróbnej kultivácii vhodne nariadených vzoriek počas 72 hodín pri teplote 37°C.

pH bolo merané podľa STN 57 0530.

Pri senzorigickom hodnotení sa vyhádzalo z odporúčaní ISO 6658.

Výsledky a diskusia

V predchádzajúcich prácach (Kološta a kol., 2014; Klapáčová a kol., 2015) boli kmene laktobacilov identifikované pomocou MALDI Tof MS. Identifikácia pomocou sekvencie 16S rRNA ukázala mierne odlišné výsledky (u dvoch kmeňov), avšak konzistentné s predchádzajúcimi výsledkami. Porovnanie výsledkov z oboch metód je uvedené v tabuľke 1.

Tab. 1 Identifikácia zbierky laktobacilov

Kmeň	Pôvod kmeňa	Sekvenácia 16S rRNA	Maldi Tof-MS 1	Maldi Tof-MS 2
21L10	Kozí syr	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>
KB2-1	Skysnuté kozie mlieko	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Lactobacillus gaserii</i> *
25/1L	Skysnuté kozie mlieko	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>

* Skóre pod 2, čo je nižšia pravdepodobnosť identifikácie

Následne boli kmene charakterizované na ďalšie technologicke vlastnosti, ureázovú a lipolytickú aktivitu a schopnosť tvoriť exopolysacharidy.

V kozom mlieku sa koncentrácie močoviny môžu pohybovať na úrovni 200 mg.l⁻¹ (Pazolla a kol., 2011), avšak v prípade nesprávnej výživy, či metabolických porúch môžu byť tieto hodnoty aj vyššie. To má negatívny dopad na výťažnosť pri výrobe syrov, ale aj na aktivitu použitých štartovacích kultúr. Ak majú tieto ureázovú aktivitu - čo je u štartovacích kultúr bežné (Mora a kol., 2002), môžu produkty rozkladu močoviny (predovšetkým amoniak) inhibovať ich rast. Kmene 21L10 a 25/1L boli schopné rásť a produkovať organické kyseliny aj v prostredí s vyšším množstvom močoviny, teda nemali ureázovú aktivitu, pretože farba média sa zmenila na žltú. Kmeň KB2-1 síce tiež nemal ureázovú aktivitu, avšak v testovacom médiu nerástol (Tabuľka 2), farba média sa ani po 48 hodinovej kultivácii nezmenila. Je samozrejme otáznne, či príčinou bola vyššia koncentrácia močoviny, alebo absencia určitých rastových faktorov v danom médiu.

Tab. 2 Rast a ureázová aktivita laktobacilov v médiu s obsahom močoviny (2 %)

Kmeň	Kultivácia 24 hodín				Kultivácia 48 hodín			
	30°C		37°C		30°C		37°C	
	Rast	Ureáza	Rast	Ureáza	Rast	Ureáza	Rast	Ureáza
21L10	+	-	+	-	+	-	+	-
KB2-1	-	-	-	-	-	-	-	-
25/1L	+	-	-	-	+	-	+	-

Lipolytická aktivita znamená rozklad tukov na voľné masné kyseliny. Tieto môžu podliehať ďalším zmenám, ktoré môžu byť senzorigicky nepriaznivé (tuchnutie tukov), ale aj atraktívne (tvorba rôznych aromatických látok, akými sú estery, ketóny, či laktóny) - u kozích syrov je to napríklad chuť pripomínajúca vosk (Singh a Cadwallader, 2009). Vo všeobecnosti, je lipolytická aktivita u laktobacilov nízka. Podľa výsledkov API testov (Kološta a kol., 2014), žiadny z testovaných kmeňov nevykazoval výraznú aktivitu lipázy (C14), esterázy lipázy (C8) a esterázy (C4). Takisto na testovacom médiu s tributyrínom sa netvorili žiadne vyčirené zóny. Na základe toho možno konštatovať, že kmene nemali významnú lipolytickú aktivitu.

KMB, vrátane laktobacilov môžu produkovať EPS. Tie sú značne variabilné, čo sa týka štruktúry a aj množstva. Využívajú sa ako prirodzené zahusťovačlá, pri výrobe kyslomliečnych nápojov a tiež zlepšujú štruktúru syrov.

Skúma sa tiež ich prebiotický účinok (Badel a kol., 2011). Všetky izolované kmene rástli na testovacom médiu, pričom tvorili ružové kolónie. Možno ich preto považovať za suspektné ropy strains (Mora a kol., 2002). Produkcia EPS danými kmeňmi je predmetom ďalšieho výskumu (tvorba na tekutom médiu s vyšším obsahom disacharidov, výťažnosť a základná chemická štruktúra).

Na pokusnú výrobu kyslomliečnych nápojov boli vybraté kmene 21L10 a 25/1L, nakoľko kmeň KB2-1 vykazoval predbežnú (nepotvrdenú PCR) rezistenciu na tetracyklín (dosiaľ nepublikované). Ako súčasť štartovacej kultúry sa použil aj vlastný izolovaný kmeň *Lactococcus lactis* 33S7, buď samostatne - ako kontrola, alebo v zmesných kultúrach. Z dvoch fermentačných teplôt sa javila ako technologicky vhodnejšia teplota 30°C, pretože pri teplote 37°C boli fermentované nápoje prezrážané a výrazne kyslejšie. Počty prezumptívnych laktokokov po fermentácii 20 hodín pri teplote 30°C a následnej úschove 7 dní v chladničke (4°C - 8°C) boli rádo 10¹⁰ KTJ/ml, identicky počty prezumptívnych laktobacilov boli na úrovni 10⁶ KTJ/ml. pH koagulátu meraného v tom istom čase bolo 4,19 - 4,26. Zistené počty laktokokov boli o niečo vyššie, ako v prípade klasického zákvasu. Dá sa to vysvetliť jednak intenzívnejším rastom kmeňov (aj pH koagulátu bolo nižšie, ako typické pH 4,4 - 4,6), ale aj metodikou, pri ktorej nie je striktné možné rozlíšiť laktokoky od laktobacilov. Doba úschovy pri nízkej teplote bola zvolená preto, aby bolo možné posúdiť aj vplyv skladovania na celkovú kvalitu nápojov. Z tabuľky 3 je zrejme, že pri zmesných kultúrach sa dosiahol priaznivejší sensorický profil, ako iba pri použití kontrolnej kultúry *Lactococcus lactis* 33S7. Hoci nápoje s oboma laktobacilmi boli hodnotené ako sensoricky veľmi príjemné, predsa len pri použití kmeňa 25/1L sa dosiahla mierne komplexnejšia a bohatšia chuť. Tieto zistenia potvrdzujú predchádzajúcu hypotézu, že hoci kmene 21L10 a 25/1L majú slabšiu laktázovú aktivitu, pri kokultivácii s kmeňom ktorý laktázovú aktivitu má (33S7), prispievajú k celkovej fermentácii mlieka (Kološta a kol., 2014; Klapáčová a kol., 2015).

Tab. 3 Intenzita kyslomliečnej vône, kyslomliečnej chuti a konzistencie fermentovaného kozieho mlieka (20 hodín, 30°C), po 7 dňoch skladovania v chladničke

Použitá kultúra	Kyslomliečna vôňa	Kyslomliečna chuť	Konzistencia
33S7	2	3	4
33S7 a 21L10 (7:3)	4	4	4
33S7 a 25L (7:3)	4	5	4

33S7 - *Lactococcus lactis*, 21L10 - *Lactobacillus casei*, 25/1L - *Lactobacillus plantarum*
Intenzita jednotlivých vlastností bola hodnotená v rozsahu od 1 (najmenej intenzívna) po 5 (najviac intenzívna)

Záver

Výsledky prezentované v tejto práci jednoznačne identifikujú zbierku vlastných izolátov laktobacilov z kozieho mlieka, ako *Lactobacillus casei* 21L0, *Lactobacillus john-*

sonii KB2-1 a *Lactobacillus plantarum* 25/1L. Dopĺňajú tiež už predtým zistené technologické vlastnosti.

Ani jeden z kmeňov nemal ureázovú aktivitu a s výnimkou kmeňa *Lactobacillus johnsonii* KB2-1 kmene rástli aj v médiu s vyšším obsahom močoviny. Teda prípadný zvýšený výskyt tejto látky v mlieku by nemal inhibovať ich rast, ani metabolickú aktivitu.

Nepreukázaná lipolytická aktivita je tiež výhodná, pretože nebude dochádzať k lipolýze mliečného tuku a teda k formovaniu nežiaducej vône a chute.

Potenciálna tvorba exopolysacharidov vyžaduje ďalšie štúdie na jej definitívne potvrdenie. Predsa však aj pri fermentácii mlieka sa dosahoval hustejší a homogénny koagulát, čo tiež môže byť indikátorom produkcie EPS.

Z pohľadu technológie je však najdôležitejším zistením, že dva kmene *Lactobacillus casei* 21L10 a *Lactobacillus plantarum* 25/1L sa osvedčili spolu s kmeňom *Lactococcus lactis* 33S7 ako vhodné štartovacie kultúry pri výrobe kyslomliečného nápoja z pasterizovaného kozieho mlieka.

Podakovanie

Práca vznikla s podporou projektu "Izolácia, identifikácia a charakterizácia kyslomliečnych baktérií pre ich aplikáciu v mliekarenskom priemysle" ITMS kód projektu: 26220220065, ktorý spolufinancovaný z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

- BADEL, S., BERNARDI, T.; MICHAUD, P. (2011): New perspectives for Lactobacilli exopolysaccharides. *Biotechnology Advances*, 29 (1), s. 54-66.
- GODON, J. J., ZUMSTEIN, E., DABERT, P., HABOUZIT, F., MOLETTA, R. (1997): Molecular microbial diversity of an anaerobic digester as determined by small-subunit rDNA sequence analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 63 (7), s.2802-2813.
- GUESSAS, B.; KIHAL, M. (2004): Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk. *African Journal of Biotechnology*, 3 (6), 339-342.
- HAVLOVÁ, J.; JIČÍNSKÁ, E.; HRABOVÁ, H. (1993): Mikrobiologické metody v kontrole jakosti mléka a mlékárenských výrobku. Praha ÚZPI, 243 s.
- ISO 6658:2005 Sensory analysis - Methodology - General guidance.
- KLAPÁČOVÁ, L.; SLOTTOVÁ, A.; BUJŇÁKOVÁ, D.; GREIF, G.; KMEŤ, V.; DRONČOVSKÝ, M.; GREIFOVÁ, M.; KOLOŠTA, M.; TOMÁŠKA, M.; DUDRÍKOVÁ, E. Vybrané technologické vlastnosti laktobacilov izolovaných z kozieho mlieka. In *Výsledky přehledky a sborník přednášek konference Celostátní přehledky sýru Mléko a sýry. 2014.* 2015 (prijaté).
- KOLOŠTA, M.; SLOTTOVÁ, A.; DRONČOVSKÝ, M.; KLAPÁČOVÁ, L.; KMEŤ, V.; BUJŇÁKOVÁ, D.; LAUKOVÁ, A.; GREIF, G.; GREIFOVÁ, M.; TOMÁŠKA, M. (2014): Characterization of lactobacilli from ewe's and goat's milk for their further processing re-utilization. *Potravinářstvo*, 8 (1), s.130-134.
- LANYI, B. (1987): Classical and rapid identification: methods for medically important bacteria. In *Methods in Microbiology*. Vol. 19, ed. Colwell, R.R. and Grigorova, R. New York: Academic Press. s. 1-67.
- MÁDEROVÁ, E. (2005): Kliešťová encefalitída na Slovensku, *Via practica*, 2 (1), 51-54.
- MARGETÍN, M. (2014): Chov oviec a kôz. Dostupné na internete: www.chzvmos.sk/chov-oviec-koz.html
- MORA, D.; FORTINA, M.G.; PARINI, C.; RICCI, G.; GATTI, M.; GIRAFFA, G.; MANACHINI, P.L. (2002): Genetic diversity and technological properties of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from dairy products. *Journal of Applied Microbiology*, 93 (2), s. 278-287.

- PAZZOLA, M.; DETTORI, M.L.; CARCANGIU, V.; LURIDIANA, S.; MURA, M.C.; VACCA, G.M. (2011): Relationship between milk urea, blood plasma urea and body condition score in primiparous browsing goats with different milk yield level. *Archiv Tierzucht*, 54 (5), s.546-556.
- SPUERGIN, P.; WALTER, M.; SCHILTZ, E.; DEICHTNANN, K.; FORSTER, J.; MUELLER, H. (1997): Allergenicity of α -caseins from cow, sheep, and goat. *Allergy*, 52 (3), s. 293-298.
- PAZZOLA, M.; DETTORI, M.L.; CARCANGIU, V.; LURIDIANA, S.; MURA, M.C.; VACCA, G.M. (2011): Relationship between milk urea, blood plasma urea and body condition score in primiparous browsing goats with different milk yield level. *Archiv Tierzucht*, 54 (5), s. 546-556.
- SINGH, T.K.; CADWALLADER, K.R. (2009) Cheese, In *Dairy Processing and Quality Assurance*. ed. Chandan, R.C et al., New Jersey: Wiley-Blackwell, s. 273-308.
- STINGELE, F.; NEESER, J.-R.; MOLLET, B. (1996): Identification and characterisation of the EPS gene cluster from *Streptococcus thermophilus* Sfi6. *Journal of Bacteriology*, 178 (6), s. 1680-1690.
- STN 57 0530:1972 Metódy skúšania tekutých mliečnych výrobkov.

Přijato do tisku: 10. 5. 2014

Lektorováno 22. 5. 2014

MOŽNOSTI VYUŽITÍ VYBRANÝCH KMENŮ LAKTOBACILŮ V TECHNOLOGICKÉM ZPRACOVÁNÍ OVČÍHO A KOZÍHO MLÉKA

Dragounová H., Šalaková A.

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Possibilities of selected strains of lactobacilli in the technological processing of sheep's and goat's milk.

Abstrakt

Cílem práce bylo zhodnotit vybrané kmeny laktobacilů pro jejich společné využití se základními technologickými kulturami při zpracování ovčího a kozího mléka. Do sledování byly zařazeny kmeny *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*. U zakysaných mlék byla sledována kysací aktivita očkovaných mikroorganismů a posouzen mikroskopický obraz. Dále byly zjišťovány biochemické hodnoty zakysaných mlék. Bylo zjištěno, že bakterie testovaných kmenů mohou být kultivovány společně s technologickými základními kulturami mléčného kvašení. Počty bakterií mléčného kvašení testovaných kmenů bakterií mléčného kvašení a technologických mléčných bakterií neklesly pod množství $1,0 \cdot 10^6$ KTJ/ml a jsou proto vhodné pro výrobu fermentovaných produktů z kozího nebo ovčího mléka.

Klíčová slova: *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, kozí mléko, ovčí mléko.

Abstract

The aim of the study was to test selected strains of lactobacilli and their use together with the basic technological cultures in goat and sheep milk during lactation. In the study were included strains *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*. Acidification, microscopic slides and other biochemical parameters were observed in fermented milks. It was found that tested strains may be cultured together with basic technological LAB. Count of tested strains and basic technological LAB didn't decrease below $1,0 \cdot 10^6$ CFU / ml and are suitable for the manufacture of fermented products from goat or sheep milk.

Keywords: *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, goat's milk, sheep's milk.

Úvod

Mléko je nedílnou součástí lidské stravy především v mládí. S vyšším věkem je vhodná konzumace mléčných výrobků s obsahem bakterií mléčného kvašení, které napomáhají organismu ke zlepšení trávení, potlačení hnilobných mikroorganismů v trávicím traktu, obnovení mikroflóry střev po léčbě antibiotiky, chemoterapeutické léčbě nebo střevních zánětech. Některé bakterie mléčného kvašení jako např. *Lactobacillus paracasei* fermentovaný v mléce prokazuje antikarcinogenní účinky na buněčných kulturách. Mohou přímo reagovat s nádorovými buňkami v kultuře a inhibovat jejich růst (Hronek a kol., 2005). Ušlechtilé bakterie mléčného kvašení mohou být kultivovány také v jiných druzích mléka, než v mléce kravském. Vhodnou alternativou může být mléko kozí a ovčí. Pro testování vhodnosti využití bakterií rodu *Lactobacillus* v kozím a ovčím mléce byly vybrány kmeny *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus paracasei* a *Lactobacillus rhamnosus*, které by mohly být využité k symbiotické kultivaci se základními technologickými kulturami. Uplatnění testovaných laktobacilů by mohlo být vhodné při výrobě fermentovaných nápojů, zmrzliny nebo sýrů, kde bakterie přežívají dohřívání sýřeniny a podílí se dále při zrání sýrů. Pro výrobu sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou je vhodný *Lactobacillus helveticus*, který se řadí mezi homofermentativní mikroorganismy, je tvořen krátkými až dlouhými grampozitivními tyčinkami. Tvoří kyselinu mléčnou, rozkládá bílkoviny až na aminokyseliny a tím přispívá k inhibici patogenních mikroorganismů v trávicím traktu. *Lactobacillus helveticus* BGRA43 izolovaný z lidských střev vykazuje antimikrobiální aktivitu vůči alimentárním patogenům, kdy v průběhu mléčného kvašení uvolňuje peptidy s prokázanými protizánětlivými vlastnostmi. Bylo zjištěno, že kmen BGRA43 vykazuje antimikrobiální aktivitu proti lidským patogenům *Yersinia enterocolitica*, *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri* a *Streptococcus pneumoniae*. Kmen je schopen přežít simulované žaludeční šťávy a je stabilní také v simulovaných střevních podmínkách. Mimo tyto vlastnosti má tento kmen schop-