

- TOH H., OSHIMA K., NAKANO A., TAHAKATA M., MURAKAMI M., TAKAKI T., NISHIYAMA H., IGIMI S., HATTORI M., MORITA H. (2013): Genomic Adaptation of the *Lactobacillus casei* Group. PLoS ONE 8(10): e75073. doi:10.1371/journal.pone.0075073.
- VAN DE CASTEELE S. T., VANHEUVERZWIJN T., RUYSEN T., VAN ASSCHE P., SWINGS J., HUYS G. (2006). Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria in combination with yogurt or cheese starters. *International Dairy Journal*, 16, s. 1470-1476.
- VINDEROLA C. G., REINHEIMER J. A. (2000): Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 10, s. 271-275.
- ČSN ISO 20128 Mléčné výrobky - Stanovení počtu presumptivního *Lactobacillus acidophilus* na selektivní živné půdě - Technika počítání kolonií vykultivovaných při 37 °C.
- ČSN ISO 7889 Jogurt - Stanovení počtu charakteristických mikroorganismů - Technika stanovení počtu kolonií při 37 °C.
- ČSN ISO 29981 Mléčné výrobky - Stanovení počtu presumptivních bifidobakterií - Technika počítání kolonií vykultivovaných při 37 °C.
- Nařízení komise (EU) č. 432/2012 ze dne 16. 5. 2012, kterým se zřizuje seznam schválených zdravotních tvrzení při označování potravin jiných než tvrzení o snížení rizika onemocnění a o vývoji a zdraví dětí.

Přijato do tisku: 4. 11. 2014

Lektorováno: 22. 11. 2014

## POTENCIÁL KRAVSKÉHO KOLOSTRA PRO APLIKACI DO FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

Ivana Hyršlová<sup>1</sup>, Jana Chmúrová<sup>1</sup>, Gabriela Krausová<sup>1</sup>, Ladislav Čurda<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

### Potential of bovine colostrum for its application in fermented milk products

#### Abstrakt

Kolostrum je bohatým zdrojem nutričních a bioaktivních látek, jako jsou imunoglobuliny, laktoferin a další, které mají pozitivní efekt na zdraví člověka a zvířat. Využívání bovinního kolostra jako substrátu pro výrobu jogurtů v kombinaci s mlékem, prebiotiky a probiotiky bylo hlavním cílem této studie. U vyrobených jogurtů byly sledovány počty jogurtových a probiotických bakterií plotnovou metodou během 21 dnů skladování a pH. Dále byly jogurty senzorycky porovnávány na základě chuti a konzistence. Ze zjištěných výsledků vyplývá možnost použití kravského kolostra do jogurtů a dalších mléčných výrobků bez negativního vlivu na jejich senzoryckou kvalitu.

**Klíčová slova:** kravské kolostrum, jogurt, probiotika, prebiotika

#### Abstract

Colostrum is a rich source of nutritive and bioactive compounds, such as immunoglobulins, lactoferrin and others, which have positive effects on human and animal health. The main aim of this study was the use of bovine colostrum as a substrate for the production of yogurt in a combination with milk, prebiotics and probiotics. During 21 days of storage, microbial counts were determined using the agar plate method and pH values were measured, as well. Yogurts were compared by sensory analysis from the point of the taste and consistence. Our results indicate the possibility of using bovine colostrum for production of yogurts and other dairy products without influencing of its sensory quality.

**Keywords:** bovine colostrum, yogurt, probiotics, prebiotics

#### Úvod

Za posledních několik let vzrostl zájem o používání kolostra a jeho složek k výrobě výživových doplňků, funkčních potravin i kosmetiky. Kolostrum je bohatým zdrojem nutričních látek, jako jsou bílkoviny, tuky, vitaminy (A, E a B12) a minerální látky (Davis *et al.*, 2007). Kromě nutričně významných látek obsahuje kolostrum i celou řadu bioaktivních látek. Mezi nejvýznamnější patří imunoglobuliny, lysozym, laktoperoxidasa a laktoferin, které se podílí na antimikrobiální ochraně mléka a těla (Pakkanen & Aalto, 1997). K výrobě doplňků stravy je nejčastěji používáno kravské kolostrum vzhledem k jeho celoroční dostupnosti a produkovanému množství, ale na trhu existují i doplňky stravy s obsahem kozího kolostra. Z bioaktivních látek jsou z kravského kolostra izolovány především imunoglobuliny a laktoferin, které jsou přidávány do doplňků stravy a kosmetiky (García-Montoay *et al.*, 2012; Christiansen *et al.*, 2010). Kravský laktoferin je také přidáván v některých asijských zemích a USA do dětské výživy a jogurtů (FDA, 2012).

Možnost využití kravského kolostra jako substrátu pro výrobu jogurtů v kombinaci s mlékem, prebiotiky a probiotiky bylo hlavním cílem této studie. Posuzování vhodného poměru kolostra a mléka bylo provedeno na základě senzoryckého hodnocení chuti a konzistence a růstu jogurtových a probiotických bakterií. Počty jogurtových probiotických bakterií byly sledovány v průběhu skladování po dobu 21 dnů.

#### Metody a materiál

##### Použité mikroorganismy

Jogurtová kultura CCDM 528 (*Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*), *Enterococcus durans* CCDM 922, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* CCDM 94 a *L. acidophilus* CCDM 151 pocházely ze Sbírký mlékařských mikroorganismů Laktoflora® (CCDM - Czech Collection of Dairy

**Tab. 1** Přehled používaných mikroorganismů a podmínek jejich kultivace

Kmen	CCDM	Kultivační podmínky
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	94	dle normy ČSN ISO 29981
Jogurtová kultura	528	dle normy ČSN ISO 7889
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	151	de Man Rogosa and Sharpe (MRS) 6,2 agar + CLI a CIP, 37 °C, anaerobně 72 hodin
<i>Enterococcus durans</i>	922	Slanetz-Bartley (S-B) agar, 37 °C, 48 hodin

CLI-clindamycin; CIP-ciprofloxacin

**Tab. 2** Chemické složení substrátů

substrát	pH	tuk %	bílkoviny %	sušina %
kolostrum	6,34	5,2	11,7	16,5
mléko + kolostrum (1:1)	6,44	3,2	7,7	12,9
mléko + kolostrum (2:1)	6,48	2,7	6,2	11,5
mléko + kolostrum (3:1)	6,54	2,4	5,6	11,0
mléko + sušené mléko	6,57	1,4	5,0	13,5
mléko + kolostrum (1:1) + 5,0 % P95	6,42	3,7	7,4	17,5

P95 - prebiotikum Orafti P95

Microorganisms). Přehled použitých mikroorganismů a podmínky jejich kultivace jsou uvedeny v tabulce 1.

### Substráty

Základními substráty pro výrobu jogurtů byly UHT mléko s obsahem tuku 1,5 % a kolostrum z prvního nádoje (ZD Kojčice, ČR), smíchané v poměrech - 1:1, 2:1 a 3:1. K pasteraci substrátů byla zvolena teplota 62,5 °C po dobu 30 minut, která je používána k pasteraci lidského mateřského mléka v mléčných bankách a dochází při ní k minimální ztrátě bioaktivních látek kolostra, jako jsou imunoglobuliny, lysozym a laktoperoxidasa (Teixeira *et al.*, 2013). Dalším substrátem bylo mléko a kolostrum smíchané v poměru 1:1 obohacené 5,0 % (w/w) prebiotika Orafti P95 na bázi čekankového inulinu (BENEO-Orafti, Belgie). U všech substrátů a kontrol (samotné kolostrum

a mléko s přísadkou sušeného mléka) bylo stanoveno základní chemické složení a hodnota pH. Obsah sušiny byl stanoven vážkově podle normy ČSN ISO 6731 a ČSN 0105-13. Stanovení celkových bílkovin bylo provedeno podle normy ČSN 57 0530 a stanovení tuku bylo provedeno butyrometricky podle normy ČSN ISO 2446 (Tab. 2).

### Příprava jogurtu a skladování

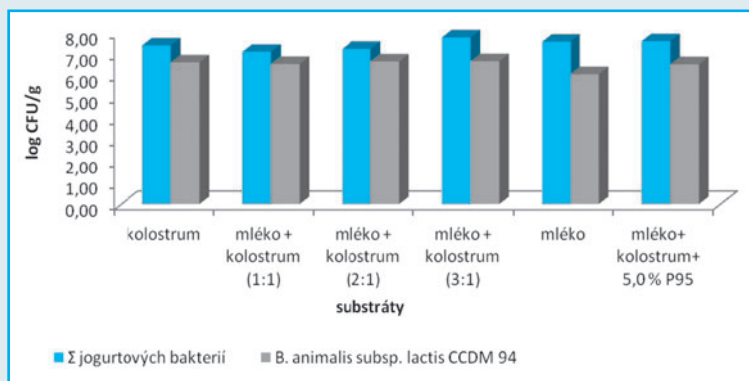
Po pasteraci byly všechny substráty zaočkovány 0,1 % jogurtové kultury v kombinaci s 1,0 % probiotické kultury (*Enterococcus durans* CCDM 922, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* CCDM 94 nebo *L. acidophilus* CCDM 151). Výroba jogurtu probíhala dlouhodobým zráním při teplotě 30 °C po dobu 16-18 hodin. Po ukončení zrání byly u všech vzorků stanoveny počty jogurtových a probiotických bakterií plotnovou metodou za kultivačních podmínek uvedených v tabulce 1 a změřeno pH. Skladování probíhalo při teplotě 6 °C po dobu 21 dnů. Po 7, 14 a 21 dnech skladování bylo u všech vzorků změřeno pH a stanoveny počty vybraných mikroorganismů.

### Výsledky a diskuze

V této studii byl využit postup přímého smíchání kolostra s mlékem a následné fermentace. Kravské kolostrum je v současné době pro komerční účely zpracováváno pomocí mikrofiltrace s následným využitím sprejového sušení nebo lyofilizace pro aplikaci do doplňků stravy. Další možností aplikace kolostra do jogurtů je tedy jeho přísadka po fermentaci v sytké formě se standardizovaným obsahem imunoglobulinů nebo stejně jako v našem případě v tekuté formě (pasterované kolostrum). Tento postup byl využit i v případě studie Ahmadi a kol. (2011), kde bylo kolostrum získané v rozdílných časech od porodu přidáváno do jogurtu. U fortifikovaných jogurtů byla poté sledována změna obsahu bílkovin, tuku a NaCl. Jogurty s obsahem kolostra připravené dlouhodobým zráním byly sensoricky porovnávány na základě konzistence a chuti ve srovnání

**Tab. 3** Sensorické hodnocení jogurtů s obsahem bovinního kolostra

	Jogurtová kultura CCDM 528	Jogurtová kultura CCDM 528 + <i>E. durans</i> CCDM 922	Jogurtová kultura CCDM 528 + <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> CCDM 94	Jogurtová kultura CCDM 528 + <i>L. acidophilus</i> CCDM 151
kolostrum	chuť čistá a kyselá, konzistence táhlovitá bez uvolnění plazmy	chuť lahodně kyselá, konzistence táhlovitá bez uvolnění plazmy	chuť lahodně kyselá, konzistence táhlovitá bez uvolnění plazmy	chuť kyselá, konzistence táhlovitá bez uvolnění plazmy
mléko a kolostrum (1:1)	chuť čistá a kyselá, konzistence hustá bez uvolnění plazmy	chuť lahodně kyselá, konzistence hustá a lehce táhlovitá bez uvolnění plazmy	chuť čistá a kyselá, konzistence hustá bez uvolnění plazmy	chuť čistá a kyselá, konzistence hustá bez uvolnění plazmy
mléko a kolostrum (2:1)	chuť čistá a kyselá, konzistence řidší a táhlovitá bez uvolnění plazmy	chuť lahodně kyselá, konzistence hustá a lehce táhlovitá bez uvolnění plazmy	chuť lahodná, konzistence řidší bez uvolnění plazmy	chuť lahodná, konzistence hustá bez uvolnění plazmy
mléko a kolostrum (3:1)	chuť čistá a kyselá, konzistence řidší a táhlovitá bez uvolnění plazmy	chuť lahodně kyselá, konzistence hustá s částečným uvolňováním plazmy	chuť lahodná, konzistence řidší bez uvolnění plazmy	chuť lahodná, konzistence řidší bez uvolnění plazmy
mléko	chuť čistá, konzistence hustá bez uvolnění plazmy	chuť čistá, konzistence hustá bez uvolnění plazmy	chuť čistá, konzistence hustá bez uvolnění plazmy	chuť čistá, konzistence hustá bez uvolnění plazmy
mléko a kolostrum (1:1) + 5,0 % P95	chuť lahodně kyselá a mírně nečistá, konzistence řidší bez uvolnění plazmy	chuť lahodně kyselá a mírně nečistá, konzistence řidší bez uvolnění plazmy	chuť kyselá a mírně nečistá, konzistence řidší bez uvolnění plazmy	chuť kyselá a mírně nečistá, konzistence řidší bez uvolnění plazmy



**Obr. 1** Srovnání počtu jogurtových bakterií a *B. animalis subsp. lactis* CCDM 94 v jogurtech po 21 dnech skladování

s jogurtem připraveným pouze z kravského mléka. Obsah tukuprosté sušiny ve všech výchozích substrátech pro výrobu jogurtů splňoval vyhlášku ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb., která udává minimální obsah tukuprosté sušiny v jogurtu vyšší než 8 % (Tab. 2). Nejlépe byly senzorycké hodnoceny jogurty připravené z kravského mléka a kolostra v poměru 1:1 a 1:2, které byly zaočkovány kromě jogurtové kultury i probiotickou kulturou *L. acidophilus* CCDM a *E. durans* CCDM 922 (Tab. 3). Táhlovitější konzistence u jogurtů s obsahem *E. durans* CCDM 922 byla způsobena jeho schopností tvořit exopolysacharidy. Negativně byla hodnocena chuť jogurtu připraveného z kravského mléka a kolostra v poměru 1:1 a prebiotika Orafit P95. Nečistá chuť mohla být způsobena nežádoucí interakcí složek kolostra s prebiotikem. Pro další testování bude vhodné zvolit jiný typ prebiotika.

Dalším posuzovaným parametrem byly počty jogurtových a probiotických bakterií, které byly sledovány po dobu 21 dnů. Po 21 dnech skladování při teplotě 6 °C všechny jogurty s obsahem *B. animalis subsp. lactis* CCDM 94 splňovaly vyhlášku ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb. pro mléčné fermentované výrobky, podle které by jogurty měly obsahovat alespoň  $10^7$  jogurtových bakterií a  $10^6$  probiotických bakterií v 1 g na konci doby spotřeby výrobku (Obr. 1).

Jogurty s obsahem *E. durans* CCDM 922 a *L. acidophilus* CCDM 151 splňovaly po 21 dnech skladování počty jogurtových bakterií. Počty vybraných probiotických bakterií byly po 21 dnech nižší než  $10^6$ . Nízké počty lze při dalším testování řešit zvýšením očkovací dávky, která byla v tom to případě 1,0 % (v/v). Zvýšení dávky však nemusí být řešení, protože mezi kmeny, substráty a prebiotiky může docházet k nepříznivým interakcím, které mohou negativně ovlivňovat životaschopnost vybraných kmenů. Podstatná je zde citlivost jednotlivých kmenů na antimikrobiální látky kolostra. Hodnota pH po 21 dnech skladování u všech připravených jogurtů se pohybovala v rozmezí 3,9-4,1.

## Závěr

Ze zjištěných výsledků je patrná možnost použití kravského kolostra do jogurtů bez negativního vlivu na jejich

senzoryckou kvalitu. Z hlediska konzistence jogurtu byl nejvhodnější poměr kolostra a mléka 1:1 nebo 1:2. V další fázi bude testována možnost aplikace sušeného kolostra s obsahem tuku i bez do mléčných výrobků, ale také stanovení bioaktivních látek kolostra ve výrobcích. Velmi zajímavou možností je i samotný přídavek laktoferinu a jeho vliv na růst bakterií mléčného kvašení nebo imunoglobulinů s cílem vyvinout nové funkční potraviny.

## Poděkování

Tato práce vznikla v rámci institucionální podpory VÚM s.r.o., rozhodnutí č. RO 1414 a projektu Ministerstva Zemědělství č. QJ1210376.

## Kontaktní informace:

Ing. Ivana Hyršlová, Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6,  
email: hyrslova@milcom-as.cz

## Literatura

- AHMADI M., VELCIOV A-B., SCURTU M., AHMADI T., OLARIU L. (2011): Benefits of bovine colostrum in nutraceutical products. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 17:42-45
- ČSN 57 0105-4 (1981): Metody zkoušení mléčných výrobků sušených a zahuštěných - Část 4: Stanovení obsahu tuku, 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.
- DAVIS P.F., GREENHILL N., ROWAN A.M., SCHOLLUM L.M. (2007): The safety of New Zealand bovine colostrum: Nutritional and physiological evaluation in rats. *Food and Chemical Toxicology* 45: 229-2
- FOOD AND DRUGS ADMINISTRATION (2012): Generally recognized as safe (GRAS) determination for cow's milk-derived lactoferrin as a component of cow's milk based infant formulas, cow's milk products, and chewing gum.  
[http://www.fda.gov/ucm/groups/fdagov-public/@fdagov-foods\\_gen/documents/document/ucm303340.pdf](http://www.fda.gov/ucm/groups/fdagov-public/@fdagov-foods_gen/documents/document/ucm303340.pdf)
- CHRISTIANSEN S., GUO M., KJELDEN D. (2010): Chemical composition and nutrient profile of low molecular weight fraction of bovine colostrum. *International Dairy Journal*. 20: 630-636.
- GARCÍA-MONTOYA I. A., CELDÓN T. S., ARÉVALO-GALLEGOS S., RASCÓN-CRUZ Q. (2012): Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview. *Biochimica et Biophysica Acta* 1820: 226-236.
- PAKKANEN R., AALTO J. (1997): Growth Factors and Antimicrobial Factors of Bovine Colostrum. *International Dairy Journal*: 285-297.
- TEIXEIRA A. G. V., BICALHO M. L. S., MACHADO V. S., OIKONOMOU G., KACAR C., FODITSCH C., YOUNG R., KNAUER W. A., NYDAM D. V., BICALHO R. C. (2013): Heat and ultraviolet light treatment of colostrum and hospital milk: Effects on colostrum and hospital milk characteristics and calf health and growth parameters. *The Veterinary Journal* 197: 175-181.
- VYHLÁŠKA MZE č. 77/2003 Sb. na stanovení požadavků pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. Sbírka zákonů 2003, částka 32 (2003).

Přijato do tisku: 4. 11. 2014

Lektorováno: 20. 11. 2014