

- ŠUSTOVÁ, K. a KUČTÍK, J. (2015): Využití enzymu laktátdehydrogenázy k zachycení mléka s vyšším počtem somatických buněk. In: *Jakost a zdravotní nezávadnost syrového mléka*. VFU Brno, ISBN 978-80-7305-764-0, s. 20-25.
- ŠUSTOVÁ, K., POLÁČKOVÁ, M., KUČTÍK, J. (2015): Možnosti detekce mastitid měřením enzymatické aktivity. *Mlékařské listy - zpravodaj*, 149, ISSN 1212-950X, s. I-VII.
- ŠUSTOVÁ, K., RŮŽIČKOVÁ, J., KUČTÍK, J. (2007): Application of FT near spectroscopy for determination of true protein and casein in milk. *Czech Journal of Animal Science*, 52, 9, s. 284-291.
- TSAKALI, E., AGKASTRA, C., KOLIAKI, C., LIVANIOS, D., BOUTRIS, G., CHRISTOPOULOU, M. I., KOULOURIS, S., KOUSSISSIS, M., VAN IMPE, J. F. M., HOUHOU, D. (2019): Milk Adulteration: Detection of Bovine Milk in Caprine Dairy Products by Real Time PCR. *Journal of Food Research*, 8, 4, ISSN 1927-0887, s. 52-57.
- TSENKOVA, R., ATANASSOVA, S., ITOH, K., OZAKI, Y., TOYODA, K. (2000): Near infrared spectroscopy for biomonitoring: Cow milk composition measurement in a spectral region from 1,100 to 2,400 nanometers. *Journal of Animal Science*, 78, s. 515-522.
- TSENKOVA, R., ATANASSOVA, S., TOYODA, K., OZAKI, Y., ITOH, K., FEARN, T. (1999): Near-infrared spectroscopy for dairy management: Measurement of unhomogenized milk composition. *Journal of Dairy Science*, 82, s. 2344-2351.
- ZACHAR, P., ŠOLTĚS, M., KASARDA, R., NOVOTNÝ, J., NOVIKMECOVÁ, M., MARCINČÁKOVÁ, D. (2011): Analytical methods for the species identification of milk and milk products. *Mlékarstvo*, 61, 3, s. 199-207.

Korespondující autor: Dr. Ing. Oto Hanuš,
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke dvoru 12a,
160 00 Praha 6, e-mail: hanus.oto@seznam.cz

*Přijato do tisku: 5. 11. 2019
Lektorováno: 27. 11. 2019*

SBÍRKA MLÉKÁRENSKÝCH A PEKÁRENSKÝCH KONTAMINANTŮ - CCDBC

Zuzana Dlouhá¹, Miloslava Kavková²

¹ MILCOM a.s., Tábor

² Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Tábor

Culture collection of dairy and bakery contaminants - CCDBC

Abstrakt

Sbírka mlékárenských a pekárenských kontaminantů (CCDBC) vznikla v roce 2019 s podporou Ministerstva zemědělství ČR jako součást Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství (NPGZ). Sbírka uchovává kmeny bakterií, kvasinek i vláknitých hub, které kontaminují mlékárenské a pekárenské produkty, ale vzhledem k jejich vlastnostem mají i potenciál pro využití v dalším výzkumu. Účelem tohoto příspěvku je představit CCDBC obecně a uvést bakteriál-

ní kmeny, vláknité houby a kvasinky, které byly zařazeny do sbírky v roce 2019. Jsou zde nastíněny způsoby jejich kultivace a uchovávání a plány, jakým způsobem se bude sbírka rozšiřovat v budoucnu.

Klíčová slova: uchovávání mikroorganismů, potravinářské kontaminanty, metody identifikace

Abstract

The Culture Collection of Dairy and Bakery Contaminants (CCDBC) was established in 2019 on request and support from the Ministry of Agriculture of the Czech Republic in the Czech national program of conservation and utilization of plant, animal and microorganism genetic resources. The collection preserves strains of bacteria, yeasts, and molds, that represent important dairy and bakery contaminants. This article introduces the CCDBC in general and bacterial strains that were deposited in the collection during the year 2019 including means of their cultivation and storage.

Key words: storage of microorganisms, food contaminants, methods of identification

Úvod

V roce 2019 vznikla na žádost a za podpory MZE ČR a NPGZ Sbírka mlékárenských a pekárenských kontaminantů, která bude tyto kmeny kontaminantů dlouhodobě uchovávat a poskytovat zájemcům pro další vědecké účely. Smyslem této sbírky je deponovat bakteriální a fungální kontaminanty, především za účelem testování různých eliminačních metod a mikrobiálních interakcí vůči těmto kontaminantům, s cílem získat zdravé a bezpečné potraviny s minimálním množstvím nebo bez chemických konzervantů. Za mikrobiální kontaminant lze považovat technologicky nežádoucí a cizorodý mikroorganismus, jenž sensoricky a nutričně znehodnocuje výchozí produkt, znemožňuje jeho skladování a může s sebou nést i zdravotní rizika (alergeny, toxiny). Mikroorganismus, který je u definovaného výrobku považován za kontaminující a nežádoucí, nemusí být nutně nežádoucí kontaminant u všech potravin např. *Penicillium roqueforti* nebo *Rhizopus oryzae*. Mnohé jejich nežádoucí vlastnosti, jako například produkce sekundárních metabolitů a enzymatická aktivita, mohou být využitelné v jiných odvětvích. Některé kmeny kontaminantů (bakterie *Bacillus subtilis*, kvasinka *Trichosporon coremiiforme* a jiné) se například na našem pracovišti využívají v rámci projektových aktivit ke studiu antimikrobiálních interakcí a funkčních vlastností kmenů, zejména bakterií mléčného kvašení.

Do sbírky CCDBC bylo pro začátek vybráno celkem 20 bakterií – 16 bakterií izolovaných z různých druhů sýrů a 4 bakterie z mléka a mlékárenského prostředí (tabulka č. 1). Rovněž bylo deponováno 20 druhů plísní a 9 druhů kvasinek převážně ze sýrů a solných lázní. Každý kmen má své identifikační číslo a záznam v karto-

Tabulka 1 Seznam uložených kmenů, podmínky jejich kultivace a zdroj izolace

CCDBC		živná půda	podmínky	doba kultivace	zdroj
1	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Piton	aer, 37 °C	24 hodin	Livanjski sir
2	<i>Staphylococcus succinus</i>	Piton	aer, 37 °C	24 hodin	syrečky
3	<i>Staphylococcus sciuri</i>	Piton	aer, 37 °C	24 hodin	syrečky
4	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Piton	aer, 37 °C	24 hodin	tvrdý sýr
5	<i>Staphylococcus kosii</i>	Piton	aer, 37 °C	24 hodin	Livanjski sir
6	<i>Psychrobacter celer</i>	Piton	aer, 25°C	24 hodin	syrečky
7	<i>Bacillus cereus</i>	MPA	aer, 37 °C	24 hodin	syrečky
8	<i>Bacillus licheniformis</i>	MPA	aer, 37 °C	24 hodin	měkký sýr
9	<i>Kocuria kristinae</i>	MPA	aer, 30 °C	4 dny	sýr
10	<i>Kocuria rhizophila</i>	MPA	aer, 30 °C	24 hodin	Livanjski sir
12	<i>Clostridium butyricum</i>	RCM	anaer, 37 °C	4 dny	sýr
13	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	MPA	aer, 30 °C	4 dny	spady mlékárna
14	<i>Lactococcus garvieae</i>	M17	aer, 30 °C	4 dny	Livanjski sir
15	<i>Escherichia coli</i>	VČŽG	aer, 37 °C	24 hodin	Livanjski sir
16	<i>Bacillus methylophilus</i>	MPA	aer, 30 °C	24 hodin	sýr Kaškaval
17	<i>Kurthia gibsonii</i>	GTK-M	aer, 30 °C	24 hodin	solná lázeň
19	<i>Bacillus altitudinis</i>	TSBKA	aer, 25 °C	48 hodin	pasterované mléko
20	<i>Bacillus licheniformis</i>	TSBKA	aer, 37 °C	20 hodin	pasterované mléko
21	<i>Corynebacterium flavescens</i>	TSBKA	aer, 37 °C	20 hodin	plísňový sýr po solení
22	<i>Macrocococcus caseolyticus</i>	TSBKA	aer, 37 °C	20 hodin	plísňový sýr po solení
25	<i>Aureobasidium pollulans</i>	MEA	25 °C	10 dní	mlékárny
26	<i>Aspergillus nigricans</i>	MEA	25 °C	10 dní	mlékárny
27	<i>Alternaria atra</i>	PDA	25 °C	10 dní	mlékárny
28	<i>Alternaria infectoria</i>	PDA	25 °C	10 dní	pekárny, obilí mouka
29	<i>Alternaria alternata</i>	PDA	25 °C	10 dní	sýry, mlékárny
30	<i>Dydimella pinodes</i>	MEA	25 °C	7 dní	sýry, mlékárny
31	<i>Dydimella protuberans</i>	MEA	25 °C	7 dní	sýry, mlékárny spady
32	<i>Cladosporium cladosporoides</i>	MEA	25 °C	7 dní	solná lázeň, sýr
33	<i>Exophiala phaeoauriformis</i>	MEA	25 °C	10 dní	mlékárny
34	<i>Penicillium solitum</i>	MEA	25 °C	5 dní	zrací sklepy
35	<i>Penicillium discolor</i>	MEA	25 °C	5 dní	sýr
36	<i>Penicillium commune</i>	MEA	25 °C	5 dní	zrací sklepy
37	<i>Penicillium crustosum</i>	MEA	25 °C	5 dní	zrací sklepy
38	<i>Penicillium carneum</i>	MEA	25 °C	5 dní	zrací sklepy
39	<i>Penicillium freii</i>	MEA	25 °C	5 dní	zrací sklepy
40	<i>Penicillium olsoni</i>	MEA	25 °C	5 dní	zrací sklepy
41	<i>Penicillium chrysogenum</i>	MEA	25 °C	5 dní	zrací sklepy
42	<i>Penicillium jugoslavicum</i>	MEA	25 °C	5 dní	Livanjski sir
43	<i>Epicoccum nigrum</i>	MEA	25 °C	10 dní	spady mlékárna
44	<i>Neurospora crassa</i>	PDA	25 °C	3 dny	chléb
45	<i>Candida inconspicua</i>	MEA	25 °C	5 dní	solná lázeň
46	<i>Candida parapsilosis</i>	MEA	25 °C	5 dní	sýr
47	<i>Candida spencermartinsiae</i>	MEA	25 °C	5 dní	solná lázeň
48	<i>Rhodotorula kratochvilovae</i>	MEA	25 °C	5 dní	mlékárny
49	<i>Yarrowia lipolytica</i>	MEA	25 °C	5 dní	sýr pod mazem
50	<i>Debaryomyces hanseni V8</i>	MEA	25 °C	5 dní	odpady mlékárna
51	<i>Naganishia adeliensis</i>	MEA	25 °C	5 dní	solná lázeň
52	<i>Pichia kudriavzevii</i>	MEA	25 °C	5 dní	sýr
53	<i>Kluyveromyces lactis</i>	MEA	25 °C	5 dní	sýr

téce i počítačové databázi. Uchovávané bakteriální kmeny budou obnovovány v pravidelných intervalech 5 let, po jejichž uplynutí bude zkontrolována čistota a životnost kmenů a znovu dojde k jejich uložení. U kvasinek a plísní při uchování na šikmých agarrech (tzv. živá sbírka) dochází k obnově ročně dle plánu obnovy.

Početnou skupinu uložených bakteriálních kontaminantů tvoří rod *Bacillus*. Jedná se o grampozitivní sporulující tyčinky, které tvoří velmi odolné endospory. Díky nim dokáží přežívat vysoké teploty, dezinfekční prostředky atd. a mohou tak být v provozech velmi problematické. Nejběžnějšími druhy nalezenými v mlékárenských produktech jsou *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. mycoides* a *B. megaterium* (Ledenbach a Marshall, 2009). Druhy tohoto rodu mohou způsobovat potravinové otravy (*B. cereus* produkuje toxiny), ale také hrají významnou roli v průmyslové výrobě – produkce enzymů a antibiotik (Schallmey a kol., 2003, Stein, 2005). Kmen bakterie *Bacillus methylotrophicus* byl studován pro jeho bioremediační schopnosti využitelné při znečištění ropným průmyslem (Chaprao a kol., 2018). Další sporotvornou bakterií v naší sbírce je *Clostridium butyricum*. Tato anaerobní bakterie je známá tvorbou plynů a kyseliny máselné v mlékařských výrobcích, působí duření sýrů. Kmeny rodu *Clostridium* se ale také objevují na seznamu probiotik nové generace díky vlivu na snižování cholesterolu a na prevenci rakoviny, působí také proti infekci způsobované *Clostridium difficile* (O'Toole a kol., 2017). Stafylokoky jsou častým kontaminantem mléčných výrobků zejména z nepasterizovaného mléka. Podle schopnosti produkovat enzym koagulázu je můžeme dělit na koaguláza-pozitivní, z nichž nejnámější je *Staphylococcus aureus* a koaguláza-negativní, které jsou méně virulentní a bývají příležitostnými patogeny. Mezi ně patří např. *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* (Murray a kol., 2015). Mohou způsobovat infekce (kůže, kostí, močové cesty atd.) i život ohrožující stavy (otravy jídlem, toxické šoky). Bakterie rodu *Pseudomonas* jsou gramnegativní tyčinky, které rostou při poměrně nízkých- chladírenských- teplotách (3-7°C) a produkují v mléce a mléčných produktech nežádoucí lipázy a proteázy (Ledenbach a Marshall, 2009). *Pseudomonas fluorescens* je schopna tvořit také antibiotikum mupirocin inhibující např. stafylokoky i řadu streptokoků (Sutherland a kol., 1985). Rod *Kurthia* zahrnuje aerobní, grampozitivní tyčinky. Ačkoliv *Kurthia gibsonii* obvykle bývá izolovaná z čerstvého masa, kde způsobuje rozklad a zápach (Dworkin a kol., 2006), vyizolovali jsme ji ze solné lázně používané při výrobě sýra. Dalšími kontaminanty uloženými v naší sbírce jsou zástupci rodů *Psychrobacter*, *Kocuria*, *Corynebacterium*, *Lactococcus* a *Macroccoccus*.

Vláknité houby v mlékárenství hrají podstatnou roli ve výrobě sýrů s plísní. Jedná se však pouze o druhy *Penicillium camemberti*, *P. roqueforti*, *P. nalgiovense*. Většina vláknitých hub v mlékárenství a pekařství jsou však závažnými a nežádoucími kontaminanty (např. celé spektrum rodu *Penicillium* sp., *Cladosporium* sp., *Alternaria*

sp., *Fusarium* sp. a mnohé další). Jsou také zodpovědné za jejich viditelné i neviditelné defekty-zápach, změna barvy, produkce toxinů, z nichž v sýrech nejnebezpečnější jsou aflatoxin M1 a ochratoxin A produkované vláknitými houbami rodu *Penicillium* a *Aspergillus*- (Hymery a kol., 2014, Al-Anati a Petzinger, 2006). Nejpočetnějším rodem kontaminujícím sýry je rod *Penicillium* - cca 40 druhů (Ledenbach a Marshall, 2009, Garnier a kol., 2017). Mezi kvasinky patří z řad našich mlékárenských kontaminantů *Debaromyces hansenii*, *Geotrichum candidum*, *Trichosporon* sp., druhy rodu *Candida* a další.

Do budoucna se sbírka rozroste i o mikrobiální kontaminanty z pekařských surovin, výrobků a provozů. Nejčastějšími zástupci plísní jsou v pekárenství rody jako *Rhizopus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Eurotium* a *Aspergillus*. Mezi hlavní zástupce bakteriálních kontaminantů u pekařských výrobků patří například rod *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*). Nejvíce kontaminující kvasinkou pečiva a pekárenského prostředí bývá *Pichia butonii*, dále pak kvasinky rodů *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Trichosporon* (Saranraj a Geetha, 2012). Řada druhů kvasinek se přirozeně nachází v kvasech, kde ale, ne vždy, představují nežádoucí kontaminaci.

Postup ukládání kmenů do sbírky

Pro izolace a identifikace izolátů kontaminujících bakterií, kvasinek a plísní jsou používány moderní metody, které vychází ze současných aktuálních poznatků o příslušných taxonech. Metody a způsoby izolace a uložení kmenů ve sbírkách odpovídají stejným postupům jako u českých sbírek NPGZ a zahraničních sbírek mikroorganismů.

Schéma pracovního postupu:

Izolace → Identifikace → Kultivace na příslušných půdách → Mikroskopická kontrola → Uložení

Bakterie, kvasinky a vláknité houby byly vyizolované z kontaminovaných surovin (zdrojový materiál je uveden v tabulce č. 1) při běžných mikrobiologických kontrolách. Kmeny kvasinek vyizolované z kontaminovaných mléčných a pekařských médií byly podle potřeby opakovaně přeočkovány na média YPD (Duchefa Biochemia, Nizozemí) či YMA (Kurtzman a kol., 2011), vždy s následnou mikroskopickou kontrolou. Po vyloučení kontaminace bakteriemi byly kolonie přeočovány na Morfologický agar pro kvasinky (Himedia, Indie), na kterém byl pozorován růst a vývoj kolonií včetně jejich morfoloogických charakteristik a takto byl zanesen do karty kmene. Kromě popisu kolonií na Morfologickém agaru, byly uloženy i fotografie mikroskopických snímků s popisem mikroskopického obrazu příslušného izolátu. Tento postup odpovídá manuálu pro izolaci kvasinek schválenému pro použití v mezinárodních sbírkách na 32. ISSY - International Specialized Symposium on

Yeast (Perugia, Itálie, 2015). Média a techniky jsou popsány v třídílné monografii o kvasinkách (Kurtzman a kol., 2011). Izoláty plísní byly získány kultivací vzorků kontaminovaných potravin na neselektivních médiích – GKCH (zakoupeno u Milcom a.s.), DG18 agar base (VWR, Německo), SDA (Himedia, Indie) aj. a následně byla provedena mikroskopická kontrola a identifikace. Pro izolaci a bližší určení předpokládaných taxonomických skupin, jako jsou například rody *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Alternaria* apod., byla použita specifická média DCPA (Dichloran-chloramphenicol pepton agar) či NS (Nasch and Snyder medium) (Bragulat a kol., 2004). Po mikroskopické dokumentaci a morfologickém popisu izolátu byly kmeny identifikovány molekulárními metodami.

Taxonomická příslušnost jednotlivých kmenů byla určena na základě sekvenace molekulárních markerů (bakterie - 16S SSU rDNA, kvasinky a vláknité houby - 28S ITS rDNA a další specifické jaderné a nejaderné markery - viz tabulka č. 2). Bakteriální DNA byla izolována pomocí DNeasy® UltraClean® Microbial Kit (Qiagen). U houbových mikroorganismů bylo do mikrozkupek s malým množstvím skleněných kuliček odebráno malé množství mycelia (nebo spor). Poté bylo přidáno 20 µl NaOH. Zkumavky byly 10 minut vortexovány na maximální výkon a následně centrifugovány (>10000 rpm, 2 minuty). 20 µl vodné fáze obsahující extrahovanou DNA bylo převedeno do nové mikrozkupek a dále 10x naředěno 0,1M roztokem Tris-HCl. Izolovaná DNA byla skladována při -20 °C. Polymerázová řetězová reakce (PCR) byla provedena za použití PPP Master mixu 2x konc. (Top-Bio), vody a příslušných primerů. Podmínky reakce a seznam použitých primerů jsou uvedeny v tabulce č. 2. Poté byla provedena kontrola amplifikace pomocí gelové elektroforézy v 1 % agarózovém gelu, jako marker byl použit GeneRuler™ DNA Ladder Mix. Elektroforéza probíhala při 80 V. Vzorky DNA určené pro sekvenaci byly ošetřeny pomocí ExoSAP-IT™ (Applied Biosystems by Thermo Fisher Scientific) v poměru 1:10. K 15 µl této směsi byly pak přidány 2 µl sekvenačního primeru (příslušný forward primer). Kva-

lita získaných sekvencí byla ověřena pomocí open source softwaru FinchTV a byly porovnány s databázemi pomocí služby BLAST.

Čisté izoláty byly po identifikaci kultivované na příslušných médiích za podmínek optimálních pro daný druh (tabulka č. 1). Po kultivaci byla provedena a dokumentována mikroskopická kontrola čistoty.

Živné půdy určené pro kultivaci bakteriálních kmenů:

- Piton agar - 10 g tryptonu, 5 g kvasničného extraktu, 10 ml kyseliny mléčné, 30 g NaCl a 1000 ml H₂O a po úpravě pH na 7,0 byl doplněn o 5 g CaCO₃ a 15 g agaru (Piton Ch., 1988).
- RCM agar - Reinforced clostridial medium (postup dle výrobce - Oxoid, CM0149, UK) s přidavkem 1 ml roztoku neutrální červeně (Sigma-Aldrich, N-2880, USA) na 100 ml media (0,5 % v 60 % ethanolu) (modifikace postupu Kaufman a Weaver, 1960)
- MPA - 31 g Nutrient broth (Himedia, M088), 10 g agaru a 1000 ml H₂O
- M17 - podle návodu výrobce (Oxoid, CM0785, UK)
- VČŽG a GTK-M byla koupena u Milcom a.s
- TSBKA - 30 g Tryptone soya broth (Oxoid, CM129, UK), 4 g kvasničného extraktu, 12 g agaru a 1000 ml H₂O

Kmeny kvasinek a plísní byly kultivovány na médiích:

- PDA (Himedia, Indie)
- MEA (příprava dle Samson a kol., 2010)

Druhy rodu *Penicillium* byly navíc naočkovány na selektivní diagnostická média (CYA, MEA, YES, CREA - připraveno dle Samson a kol., 2010). Na těchto půdách je možné pozorovat soubor morfologických vlastností, který je pro daný druh typický, a tyto charakteristiky lze tedy uplatnit při klasifikaci jednotlivých druhů. Na všech půdách se hodnotí rychlost růstu, velikost a zbarvení kolonií (i ze spodní strany), na půdě CREA se pak kromě těchto vlastností posuzuje také tvorba žlutých zón (vznikají díky produkci kyselin). Samson a kol. (2010) doporučuje suspenzi spor kapat do třech bodů a kultivovat 25°C/7 dní. Kultivací kmenů rodu *Penicillium* na těchto půdách získáme příslušný profil morfologických vlastností, čehož lze následně využít například při kon-

Tabulka 2 Molekulární markery použité pro identifikaci kmenů ve sbírce CCDBC

oblast	amplifikovaný gen	název primeru	sekvence (5' → 3')	podmínky reakce
SSU		fD1	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	95 °C, 300 s; 35x (95 °C, 30 s; 55 °C, 30 s; 72 °C, 90 s); 72 °C, 300 s
		rP2	ACGGCTACCTTGTACGACTT	
ITS		ITS1f	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	95 °C, 300 s; 35x (95 °C, 30 s; 55 °C, 30 s; 72 °C, 90 s); 72 °C, 300 s
		ITS4	TCCTCGCTTATTGATATGC	
BT2	Beta-tubulin	BT2a	GGTAACCAATCGGTGCTGCTTTC	95 °C, 300 s; 35x (95 °C, 30 s; 52 °C, 30 s; 72 °C, 60 s); 72 °C, 300 s
		BT2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCCTGGC	
CMD	Kalmodulin	CMD5	CCGAGTACAAGGAGGCCCTTC	95 °C, 300 s; 35x (95 °C, 30 s; 58 °C, 30 s; 72 °C, 60 s); 72 °C, 300 s
		CMD6	CCGATAGAGGTCATAACGTGG	
COX1	cytochrom c oxidáza	PF1	GACAAGAAAGGTGATTTTATCTTC	95°C, 300 s; 35x (95 °C, 30 s; 56 °C, 30 s; 72 °C, 90 s); 72 °C, 300 s
		AR1	GGTAATGATAATAATAATACAGCTG	

trole čistoty a identity při pravidelných obnovách jednotlivých kmenů.

Čisté kmeny bakterií a houbových mikroorganismů je vhodné ve sbírkách uchovávat dvěma způsoby. Ve sbírce CCDBC jsou kmeny bakterií uchovávány ve formě lyofilizátu při 10 °C a pomocí kryokonzervace v -40 °C (v příslušném médiu dle tabulky č. 1 s přídatkem 20 % glycerolu). Lyofilizace byla provedena ve specializované laboratoři Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze-Ruzyni. Kvasinky a vláknité houby jsou uchovávány na šikmých agaroch s příslušným médiem (tabulka č. 1) při 8 °C a kryokonzervací s glycerolem při -40 °C. Kvasinky na šikmých agaroch jsou zalité parafínem. Takto uložené kultury se obnovují v určených intervalech, případně pokud výrazně klesne počet uložených kusů daného kmene.

Závěr

Do Sbírký mlékařských a pečárenských kontaminantů bylo v roce 2019 deponováno 49 kmenů bakterií, plísní a kvasinek převážně z mléčných výrobků a mlékařských provozů. V dalších letech se sbírka bude rozšiřovat o izoláty z pečárenských provozů, zejména z různých kvasů, v souladu s řešením projektů NAZV, které jsou zaměřené na antifungální aktivitu a funkční a technologické vlastnosti mikroorganismů v mléčných výrobcích a kvasech.

Poděkování

Vznik sbírky mlékařských a pečárenských kontaminantů je spolufinancován Ministerstvem zemědělství ČR v rámci programu NPGZ a projekty MZe NAZV QK1910024 a QK1910036.

Seznam literatury

- AL-ANATI L., PETZINGER E. (2006): Immunotoxic activity of ochratoxin A. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 29, s 79-90.
- BRAGULAT M. R., MARTÍNEZ E., CASTELLÁ G., CABAÑES F. J. (2004): Selective efficiency of culture media recommended for isolation and enumeration of *Fusarium* spp. *Journal of Food Protection*, 67, s. 207-211.
- DWORKIN M., FALKOW S., ROSENBERG E., SCHLEIFER K-H., STACKE-BRANDT E. (2006): *The prokaryotes: A handbook on the biology of bacteria, vol. 4: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria* (3. vydání). Springer New York. ISBN 978-0387-25494-4, 1140 s.
- GARNIER L., VALENCE F., MOUNIER J. (2017): Diversity and control of spoilage fungi in dairy products: an update. *Microorganisms*, 5, s. 1-33.
- HYMERY N., VASSEUR V., COTON M., MOUNIER J., JANY J.-L., BARBIER G., COTON E. (2014): Filamentous fungi and mycotoxins in cheese: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, s. 437-456.
- CHAPRÃO M. J., SOARES da SILVA R. C. F., RUFINO R. D., LUNA J. M., SANTOS V. A., SARUBBO L. A. (2018): Production of biosurfactant from *Bacillus methylotrophicus* UCP1616 for use in the bioremediation of oil-contaminated environments. *Ecotoxicology*, 27, s. 1310-1322.
- KAUFMAN L., WEAVER R. H. (1960): Use of neutral red fluorescence for the identification of colonies of Clostridia. *Journal of Bacteriology*, 79, 292-194.
- KURTZMAN C. P., FELL J. W., BOEKHOUT T. (2011): The yeasts a taxonomic study (5. vydání). *Elsevier Science*. ISBN 978-0-123-84708-9, 2354 s.
- MURRAY P. R., ROSENTHAL K. S., PFALLER M. A. (2015): Medical Microbiology. *Elsevier*. ISBN 978-0-323-29956-5, 848 s.

O'TOOLE P. W., MARCHESI J. R., HILL C. (2017): Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics. *Nature Microbiology*, 2, article number 17057.

SAMSON R. A., HOUBRAKEN J., THRANE U., FRISVAD J. C., ANDERSEN B. (2010): *Food and indoor fungi*. CBS- KNAW Fungal biodiversity centre Utrecht. ISBN 978-90-70351-82-3, 481 s.

SARANRAJ P., GEETHA M. (2011): Microbial spoilage of bakery products and its control by preservatives. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives*, 3, s. 38-48.

SCHALLMEY M., SINGH A., WARD O. P. (2003): Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. *Canadian Journal of Microbiology*, 50, s. 1-17.

SPERBER W. H., DOYLE M. P. (2009): Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages. *Springer*, ISBN 978-1-4419-0826-1, 369 s.

STEIN T. (2005): *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Molecular Microbiology*, 56, s. 845-857.

SUTHERLAND R., BOON R. J., GRIFFIN K. E., MASTERS P. J., SLOCOMBE B., WHITE A. R. (1985): Antimicrobial activity of mupirocin (pseudomonic acid) a new antibiotic for topical use. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 27, s. 495-498.

Korespondující autor: Ing. Zuzana Dlouhá
Milcom a.s., Soběslavská 841, Tábor 390 02
e-mail: z.dlouha@vum-tabor.cz

Přijato do tisku: 5. 11. 2019

Lektorováno: 22. 11. 2019

SYROVÁTKA JAKO SUBSTRÁT K POTENCIÁLNÍ VÝROBĚ HYDROGELŮ PRO AGRÁRNÍ VYUŽITÍ

**Markéta Borková, Ladislav Bár, Jan Drbohlav,
Alexandra Šalaková, Vladimír Dráb, Ondřej Elich,
Martina Švejcarová, Jitka Peroutková**
Výzkumný ústav mlékařský s.r.o., Praha

Whey as a substrate for the potential production of hydrogels for agricultural usage

Abstrakt

V této práci bylo analyzováno složení běžně dostupných druhů sladké a kyselé syrovátky vyrobené v českých mlékárnách. Podářilo se nám získat a analyzovat syrovátku z celkem 7 typů technologického zpracování mléka. Jednalo se o syrovátku sladkou, sladkou ředěnou, sladkou zahuštěnou, sušenou sladkou demineralizovanou, kyselou, kyselou z výroby termotvarohu a kyselou zahuštěnou z výroby termotvarohu. Stanoven byl obsah sušiny, popela, sýrového prachu, tuku, dusíkatých látek (bílkovin, nekaseinového dusíku a nebílkovinného dusíku), laktózy a vybraných nízkomolekulárních kyselin. Z fyzikálních parametrů byla stanovena hustota a pH syrovátky.