

## COMPARISON OF OCCURENCE LACTIC ACID BACTERIA IN CHOSEN YOGURTS

*Libuša Lengyelová, Dagmar Kozelová, Ľudmila Trstenovičová, Silvia Pintérová*

### ABSTRACT

The yogurt is healthy food, which contains at least 100 million cultures per gram. Probiotic bacteria have been proven to reduce the effects of some gastrointestinal problems, probiotics can greatly reduce lactose intolerance, have also been proven to prevent colon cancers, there are also a natural immune system booster. In our research we detected numbers of lactic acid bacteria in yogurts in slovak market. There were classical yogurts, yogurts with probiotics, yogurts with fat and non fat. We numbered lactic acid bacteria from and after expiration, in agars MRS and Lee's. In examined yogurts we detected from expiration from  $78.10^7$  to  $169.10^7$  and after expiration from  $59.10^7$  to  $133.10^7$  lactic acid bacteria in 1 ml of yogurt. In agreement with Food Codex of SR (2010) of rules all these yogurts satisfy number of lactic acid bacteria.

**Keywords:** yogurt, lactic acid bacteria, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*

### ÚVOD

Jogurt je kyslomliečny výrobok, ktorý pochádza z Turecka. Kyslomliečne výrobky, vrátane jogurtov, sú výrobky vyrobené z pasterizovaného kravského, ovčieho alebo kozieho mlieka v procese fermentácie s vhodnými, zdravotne neškodnými, taxonomicky určenými mikroorganizmami (Drbohlav, 2000). Na kvalitu a bezpečnosť kyslomliečnych výrobkov vplyva podľa Zeleňákovej a Goliana (2008) aj kvalita základnej suroviny. Základnou surovinou na výrobu kyslomliečnych výrobkov je mlieko. Mlieko ako produkt mliečnej žľazy cicavcov svojou vyváženou skladbou živín a vysokým obsahom vody je veľmi vhodným prostredím pre rast mikroorganizmov, ktoré svojou metabolickou činnosťou môžu kvalitu mlieka a biologickú hodnotu jeho i výrobkov z neho ovplyvniť priaznivo alebo nepriaznivo (Horník, 1996). V surovom kravskom mlieku prítomnosť rezíduí inhibičných látok (RIL) predstavuje riziko pre ľudské zdravie a ovplyvňuje technológiu výroby mliečnych výrobkov. Výskyt RIL má byť podľa legislatívy v množstve menšom ako je ich maximálny reziduálny limit (MRL). Nevhodné mikroorganizmy sa môžu do produktu dostať cez kontakt s výrobnými povrchmi, kde sa môžu adherovať alebo vytvárať biofilmy (Salustiano et al., 2004). Minimalizovaním mikrobiálnej kontaminácie a elimináciou tvorby biofilmov na potravinárskych zariadeniach a povrchoch ako aj uplatňovaním efektívnych a účinných sanitačných postupov je možné podľa Čapla et al. (2010) dosiahnuť výrobu bezpečných potravín.

V prvovýrobe a mliekarenských prevádzkach sa používajú rôzne rýchle testy pre stanovenie RIL ako Delvotest® SP-NT, Beta STAR, SNAP test, Copan Test, Twinsensor BT, Charm BLUE YELLOW, Eclipse Test. Citlivosť rýchlych testov je buď na úrovni MRL, alebo je ešte vyššia (Zajác a Čapla, 2010).

V Slovenskej republike bolo v rámci skúšania mlieka na RIL za účelom preplácania v roku 2009 vyšetrených 23 313 vzoriek surového kravského mlieka. Z uvedeného počtu vzoriek bolo 23 286 vzoriek negatívnych, počet pozitívnych vzoriek bol 27. Percento pozitívnych vzoriek z celkového počtu vyšetrených vzoriek bolo 0,116 %. Pokles počtu pozitívnych vzoriek od roku 2001 je možné pripísať kontrole RIL pomocou rýchlych testov, ktorá sa postupne zavádza na farmách (Zajác et al., 2007; 2010).

Pravidelnú kontrolu mlieka a mliečnych výrobkov orgánmi úradnej kontroly, ako aj samotnými mliekárňami považujeme za nevyhnutnú. Podľa Zeleňákovej a Goliana (2008) nové kontrolné limity, smernice spolu s novými kvalitatívnymi stratégiami a spotrebiteľskými požiadavkami na bezpečné a nefalšované potraviny si vyžadujú senzitivnejšie analytické metódy. Zeleňáková et al. (2008) laboratórne skúšali, hodnotili a porovnávali kvalitatívne parametre štyroch druhov ELISA testov, založených na špecifickej detekcii kravských resp. kozích imunoglobulínov, vo vzorkách mlieka pomocou špecifických protilátok. Autori ďalej uvádzajú, že vzájomné falšovanie ovčieho, kozieho a kravského mlieka sa môže stať vážnym problémom vo výrobe, pretože spôsobuje technologické problémy pri spracovaní, jeho následkom sú aj hygienické a výživové nedostatky, ako i ekonomické straty. Vyšetrenia vybraného druhu mliečnych výrobkov na detekciu mikroorganizmov klasickou platňovou metódou a screeningovou metódou 3M™ Petrifilm™ uskutočnili a porovnali Lopašovský et al. (2009), podľa ktorých sú obe použité metódy spoľahlivé.

Charakteristickým znakom kyslomliečnych výrobkov je prítomnosť živých mikroorganizmov, špecifických pre konkrétny druh výrobku. Zvyčajne ide o monokultúry alebo o zmesnú kultúru mikroorganizmov. Mikroorganizmy musia byť vo finálnom výrobku v nadbytku, čo predstavuje najmenej  $10^7$  živých charakteristických mikroorganizmov v 1ml alebo v 1g kyslomliečnych výrobkov.

Pri výrobe jogurtov sa do mlieka pridáva základná zmesná jogurtová kultúra s použitím bakteriálnych kmeňov *Lactobacillus delbrueckii, subsp. bulgaricus* a *Streptococcus salivarius, subsp. thermophilus*. Vo výrobku musia byť oba mikroorganizmy živé a v optimálnom vzájomnom pomere na metabiózu, väčšinou 1 : 1 alebo 1 : 2. Probiotické jogurty sa vyrábajú pridaním probiotickej kultúry k základnej zmesnej kultúre. K probiotickým baktériám patria: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium* a ďalšie (Axelson, 1998). Tieto živé kultúry pôsobením enzýmov vyvolávajú charakteristické biochemické zmeny mlieka a mliečnych výrobkov

sprevádzané znížením pH, vyzrážaním bielkovín a tvorbou aromatických látok. Zdravotne priaznivé vlastnosti sa však pripisujú najmä probiotickým baktériám z rodov *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* (Drábeková a Lengyelová, 2004).

Na začiatku procesu produkujú baktérie *Streptococcus salivarius*, *subsp. thermophilus* rastové látky, ktoré stimulujú rast *Lactobacillus delbrueckii*, *subsp. bulgaricus*. Naopak *Lactobacillus delbrueckii*, *subsp. bulgaricus* svojou proteolytickou aktivitou uvoľňuje z mlieka aminokyseliny a umožňuje tak činnosť *Streptococcus salivarius*, *subsp. thermophilus* po spotrebovaní dôležitých aminokyselín v mlieku. Ich vzájomný vzťah sa priaznivo prejavuje aj vo vlastnostiach jogurtu. Ide napríklad o tvorbu typickej arómy, ktorej hlavnou zložkou je acetaldehyd produkovaný baktériami *Lactobacillus delbrueckii*, *subsp. bulgaricus*. Kyselina mliečna, ktorá je počas fermentácie produkovaná uvedenými mliečnymi baktériami, znižuje pH prostredia, čím pôsobí ako konzervant, lebo účinne zabraňuje rastu a rozmnožovaniu hnilobných a patogénnych baktérií. Vďaka tomu sú kyslomliečne výrobky ľahšie stráviteľné ako mlieko. Navyše tieto baktérie pomáhajú upraviť tráviace problémy. Podľa Heriana (2001) jogurt a fermentované mlieka sú pre spotrebiteľa úplne bezpečné, pretože pri pH 3,8 – 4,2 sú všetky vegetatívne patogénne mikroorganizmy (*Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Salmonella* a iné) usmrtené ešte skôr ako sa dostane výrobok do obchodu. Optimálne pH v jogurte podľa Guequim-Kana et al. (2007) je možné zabezpečiť kultiváciou mliečnych baktérií pri teplote 38 – 44°C.

V poslednom desaťročí sa zvýšil počet experimentov a štúdií dokumentujúcich priaznivý terapeutický účinok probiotík pri niektorých chorobných stavoch. Probiotiká možno definovať ako nepatogénne mikroorganizmy, ktoré pri požití vyvíjajú pozitívny vplyv na zdravie alebo fyziológiu hostiteľa (Fuller, 1989). Z hľadiska využitia probiotík v praxi je mimoriadne významný ich lokálny, celkový a biomedicínsky účinok, inhibičný efekt voči patogénom, optimalizačný vplyv na tráviace procesy a anticholesterolová aktivita. Majú pozitívny vplyv na imunitný systém a pôsobia antimutagénne, antigenotoxicky a antikarcinogénne (Saxelin et al., 2005, Petrof et al., 2004, O'Sullivan, 2001, Neu a Caicedo, 2005). Medzi prospešné mikroorganizmy a teda medzi probiotiká patria najmä baktérie mliečneho kvasenia a bifidobaktérie. Tieto mikroorganizmy sú prospešné tak pre ľudí ako aj pre zvieratá a preto sú stále pozorne skúmané mechanizmy ich pôsobenia v hostiteľskom organizme. Bakteriálne kultúry obsiahnuté v kyslomliečnych výrobkoch, teda aj v jogurtoch, majú pozitívny vplyv na zloženie črevnej mikroflóry, zmierňujú symptómy intolerancie na laktózu (Corral et al., 2006), uľahčujú vstrebávanie minerálnych látok, majú významný vplyv na metabolizmus lipidov a žľových kyselín. Pri svojej relatívne nízkej energetickej hodnote sú bohatým zdrojom plnohodnotných bielkovín, vápniku, fosforu a rôznych vitamínov skupiny B.

„Terapeutické minimum“ probiotického výrobku je  $1 \cdot 10^5$  KTJ.ml<sup>-1</sup>. Aby sa u človeka dosiahlo akýchkoľvek kladných účinkov je nevyhnutná denná konzumácia živých buniek v množstve  $1 \cdot 10^6$  -  $1 \cdot 10^9$  KTJ.ml<sup>-1</sup> (Lee a Salminen, 1995).

Za probiotické možno považovať iba tie jogurty, ktorých zdravie a vitalitu podporujúce účinky boli potvrdené oficiálnymi a prísnymi klinickými skúškami. Štúdie musia dokázať schopnosť probiotickej kultúry prežiť prechod tráviacim systémom a preventívne či liečebné účinky na zdravie.

Okrem toho, že jogurty obsahujú zdraviu prospešné mliečne baktérie, tak obsahujú aj vitamíny a množstvo minerálnych látok. Preto sú dôležitou súčasťou potravy hlavne pre deti a starších ľudí (Zahoor et al., 2003).

### MATERIÁL A METÓDY

V práci sme sa zamerali na zisťovanie počtu mliečnych baktérií v jogurtoch na slovenskom trhu. Laboratórnym skúšaním sme zisťovali počty mliečnych baktérií pred dátumom spotreby a po dátume spotreby. Okrem zisťovania mikroorganizmov sme tieto počty porovnávali navzájom. To znamená, že výsledky sme porovnávali aj vzhľadom na druh jogurtu, ale aj vzhľadom na médium, ktoré sme používali. Hlavným cieľom práce bolo zistiť, či skúmané jogurty obsahujú mliečne baktérie v stanovenom počte podľa Potravinového kódexu SR.

Mliečne baktérie sme kultivovali na dvoch agarových pôdach od HIMEDIA – MRS agar (M 641) a Lee's agar (M 602), pričom na určenie KTJ (kolónie tvoriace jednotky) sme použili platňovú zriedovaciu metódu v súlade s STN 56 0094. Skúmali sme 4 druhy jogurtov (od výrobcov Danone a Rajo), z toho 2 druhy jogurtov bez obsahu probiotických kultúr (A, B) a 2 druhy probiotických jogurtov (C, D). Celkom sme analyzovali 80 vzoriek jogurtov na trhu.

Vzorky jogurtov sme nakupovali vždy po dva kusy toho istého dátumu spotreby. Prvú vzorku sme analyzovali po zakúpení a druhú vzorku prvý deň po dátume spotreby. Každý jogurt sme pred vyšetrením dôkladne premiešali krúživými pohybmi alebo pretrepaním. Po sterilnom otvorení za dodržania všetkých podmienok asepsy, sme sterilnou tyčinkou odobrali požadované množstvo. Odmerané množstvo vzorky sme vo vhodnej sterilnej nádobe zmiešali s deväťnásobným množstvom sterilného fyziologického roztoku s peptónom (STN 56 0094). Zmes sme dôkladne premiešali.

Riedenie takto získané sa označuje ako I. alebo základné a z neho sa vychádza pri ďalšom spracovaní vzorky. Vzorky sa riedia tak, aby vyrastené kolónie boli dobre izolované a počítateľné. Vychádzali sme z I. riedenia ( $1:10$ , resp.  $10^{-1}$ ). Druhé riedenie ( $1:100$ ,  $10^{-2}$ ) sme pripravili tak, že 1 ml I. riedenia sme zmiešali s 9 ml sterilného fyziologického roztoku v sterilnej skúmavke. Ďalšie riedenia ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , ...) sme pripravili rovnakým spôsobom z predchádzajúcich riedení. Pri experimente sme použili riedenia  $10^{-6}$  a  $10^{-7}$ , ktoré boli z hľadiska počítania kolónií najvhodnejšie.

Aby sa zabránilo chybám, ktoré ovplyvňujú výsledok a vznikajú predovšetkým pri riedení je treba dodržiavať nasledovné zásady:

- použiť čisté nepoškodené pipety,
- riedené a riediace tekutiny odmeriavať presne a zabrániť primiešaniu tekutiny z povrchu pipety,
- obsah každej skúmavky dôkladne premiešať,
- na prípravu každého riedenia použiť novú pipetu.

Živné médiá sme sterilizovali v autokláve (NÜVE OT 012) pri 121 °C po dobu 20 minút. Mikroorganizmy sme očkovali (EKOSTAR FLOW HF BH) zalieváním tak, že sme napipetovali 1 ml vhodného riedenia do prázdnej sterilnej Petriho misky a čo najrýchlejšie sme zaliali 40 – 45 °C teplou živnou pôdou. Ihneď po zaliatí sme živnú pôdu dokonale rozmiešali so vzorkou krúživými pohybmi misky a nechali stuhnúť. Po stuhnutí sme naočkované pôdy vložili do anaerostatu hore dnom a použili sme

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

Počet mliečnych baktérií vo všetkých štyroch nami analyzovaných druhoch jogurtov sa pohybujú v nasledovnom rozmedzí - minimálne v počte  $7,3 \cdot 10^8$  KJT v 1 ml výrobku pred dátumom spotreby a minimálne  $5,9 \cdot 10^8$  KJT po dátume spotreby. Podrobnosti uskutočnených porovnaní 80 vzoriek jogurtov sa nachádzajú v tabuľkách 1-3.

**Tabuľka 1** Porovnanie počtu mliečnych baktérií (KTJ.ml<sup>-1</sup>) v jogurtoch pred a po dátume spotreby

jogurt	MRS pred d. s.	MRS po d. s.	Lee´s pred d. s.	Lee´s po d. s.
A	121,5. 10 <sup>7</sup>	67,0. 10 <sup>7</sup>	153,3. 10 <sup>7</sup>	125,3. 10 <sup>7</sup>
	p=0,000 <sup>++</sup>		p=0,043 <sup>+</sup>	
B	101,1. 10 <sup>7</sup>	82,0. 10 <sup>7</sup>	149,4. 10 <sup>7</sup>	117,1. 10 <sup>7</sup>
	p=0,010 <sup>+</sup>		p=0,024 <sup>+</sup>	
C	123,0. 10 <sup>7</sup>	115,1. 10 <sup>7</sup>	168,8. 10 <sup>7</sup>	132,7. 10 <sup>7</sup>
	p=0,076 <sup>+</sup>		p=0,047 <sup>+</sup>	
D	72,7. 10 <sup>7</sup>	58,7. 10 <sup>7</sup>	144,8. 10 <sup>7</sup>	111,5. 10 <sup>7</sup>
	p=0,023 <sup>+</sup>		p=0,004 <sup>++</sup>	

Vysvetlivky: d. s. – dátum spotreby

V klasických jogurtoch bez uvedenej probiotickej kultúry sme dospeli k týmto výsledkom: V 1 ml jogurtu A na MRS médiu sme zaznamenali priemerný počet mliečnych baktérií pred expiráciou 121,5. 10<sup>7</sup> KJT a po expirácii sa ich počet znížil na 67. 10<sup>7</sup> KJT. Počet mliečnych baktérií na Lee´s médiu v jogurte A dosiahol hodnotu pred expiráciou 153,3. 10<sup>7</sup> KJT a po expirácii 125,3. 10<sup>7</sup> KJT. Priemerné hodnoty počtov mliečnych baktérií na MRS médiu v jogurte B predstavovali pred expiráciou 101,1. 10<sup>7</sup> KJT a po expirácii 82. 10<sup>7</sup> KJT. Počet týchto baktérií na Lee´s médiu bol pred expiráciou 149,4. 10<sup>7</sup> KJT a po expirácii 117,1. 10<sup>7</sup> KJT.

V probiotických jogurtoch sme zistili nasledovné výsledky: Priemerný počet mliečnych baktérií v 1 ml jogurtu C na MRS médiu bol pred expiráciou 123.10<sup>7</sup> KJT a po expirácii 115,1.10<sup>7</sup> KJT. Počet týchto baktérií v 1ml vzorky na Lee`s médiu bol pred expiráciou 168,8.10<sup>7</sup> KJT a po expirácii 132,7.10<sup>7</sup> KJT. Priemerný počet mliečnych baktérií v 1 ml jogurtu D na MRS agare dosiahol hodnotu pred expiráciou 72,7.10<sup>7</sup> KJT a po expirácii 58,7.10<sup>7</sup> KJT. Počet mliečnych baktérií v 1 ml vzorky na Lee`s médiu bol pred expiráciou 144,8.10<sup>7</sup> KJT a po expirácii 111,5.10<sup>7</sup> KJT.

Zistili sme štatisticky významný rozdiel v počte KTJ.ml<sup>-1</sup> pred a po expirácii vo všetkých študovaných druhoch jogurtov (tab. 1).

V našej práci sme porovnávali aj počty baktérií medzi jogurtami s probiotickou kultúrou a bez obsahu

reagenciu podľa metodiky výrobcu anaerostatu (MERCK). Anaerostat sme uložili do termostatu (TCH 100) s udržiavanou teplotou 37 °C na 72 hodín.

Po inkubácii sme počítali vyvinuté kolónie za predpokladu, že každá kolónia zodpovedá jednej bunke, z ktorej vyrástla. Počet mikroorganizmov sme potom prepočítali na 1 ml pôvodnej suspenzie jogurtu.

Na štatistické vyhodnotenie získaných údajov sme použili aritmetický priemer, smerodajnú odchýlku a t-test.

probiotickej kultúry u dvoch výrobcov a zistili sme taktiež významné rozdiely v ich počte u oboch skupín na MRS agare, na Lee´s médiu rozdiely neboli štatisticky preukazné (tab. 2).

Čo sa týka počtov skúmaných mikroorganizmov na dvoch rôznych agaroch, boli zistené nasledovné štatisticky preukazné rozdiely: u všetkých štyroch druhov jogurtov pred dátumom spotreby a u troch zo štyroch aj po dátume spotreby. Pritom vo všetkých siedmich prípadoch išlo o významne vyššie počty KJT na Lee´s agare (tab. 3).

Čo sa týka rozdielov v počte KJT vykultivovaných na dvoch spomínaných agaroch (s vyšším počtom na Lee´s agare), vysvetľujeme to tým, že pokiaľ Lee´s agar je určený na kultiváciu *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus bulgaricus*, MRS agar je popisovaný väčšinou ako živné médium pre baktérie rodu *Lactobacillus* – i keď niekde sa uvádza len všeobecne ako pôda pre mliečne baktérie a pri mikroskopickom pozorovaní sme okrem laktobacilov zistili prítomné aj streptokoky. No zrejme nerastú na MRS agare v takom počte ako na Lee´s médiu.

**Tabuľka 2** Porovnanie počtu mliečnych baktérií (KTJ.ml<sup>-1</sup>) v jogurtoch od rôznych výrobcov

	jogurty bez obsahu prob. kultúr		probiotické jogurty	
	A	B	C	D
MRS pred d. s.	121,5. 10 <sup>7</sup>	101,1. 10 <sup>7</sup>	123,0. 10 <sup>7</sup>	72,7. 10 <sup>7</sup>
	p=0,022 <sup>+</sup>		p=0,000 <sup>++</sup>	
MRS po d. s.	67,0. 10 <sup>7</sup>	82,0. 10 <sup>7</sup>	115,1. 10 <sup>7</sup>	58,7. 10 <sup>7</sup>
	p=0,019 <sup>+</sup>		p=0,000 <sup>++</sup>	
Lee´s pred d. s.	153,3. 10 <sup>7</sup>	149,4. 10 <sup>7</sup>	168,8. 10 <sup>7</sup>	144,8. 10 <sup>7</sup>
	p=0,762		p=0,155	
Lee´s po d. s.	125,3. 10 <sup>7</sup>	117,1. 10 <sup>7</sup>	132,7. 10 <sup>7</sup>	111,5. 10 <sup>7</sup>
	p=0,545		p=0,077	

Vysvetlivky: d. s. – dátum spotreby

**Tabuľka 3** Porovnanie počtu mliečnych baktérií (KTJ.ml<sup>-1</sup>) kultivovaných na dvoch rôznych médiách

jogurt	MRS pred d. s.	Lee´s pred d. s.	MRS po d. s.	Lee´s po d. s.
A	121,5. 10 <sup>7</sup>	153,3. 10 <sup>7</sup>	67,0. 10 <sup>7</sup>	125,3. 10 <sup>7</sup>
	p=0,014 <sup>+</sup>		p=0,000 <sup>++</sup>	
B	101,1. 10 <sup>7</sup>	149,4. 10 <sup>7</sup>	82,0. 10 <sup>7</sup>	117,1. 10 <sup>7</sup>
	p=0,000 <sup>++</sup>		p=0,006 <sup>++</sup>	
C	123,0. 10 <sup>7</sup>	168,8. 10 <sup>7</sup>	115,1. 10 <sup>7</sup>	132,7. 10 <sup>7</sup>
	p=0,005 <sup>++</sup>		p=0,098	
D	72,7. 10 <sup>7</sup>	144,8. 10 <sup>7</sup>	58,7. 10 <sup>7</sup>	111,5. 10 <sup>7</sup>
	p=0,000 <sup>++</sup>		p=0,000 <sup>++</sup>	

Vysvetlivky: d. s. – dátum spotreby

**Golian (1998)** o probiotických mikroorganizmoch uvádza, že pre zdravotný prínos je nevyhnutné, aby vo finálnom výrobku na konci skladovacej doby bol celkový počet buniek minimálne  $10^6$  v 1 ml.

Z dostupnej literatúry vyplýva, že počty ušľachtilých mikroorganizmov počas skladovania jogurtov sa buď len mierne zvyšujú, alebo naopak môže dochádzať k ich poklesu. Životaschopnosť baktérií v kyslom prostredí pri nízkych teplotách závisí na druhu baktérie a pre daný druh sa líši kmeň od kmeňa. Rozdielne výsledky počtov mliečnych baktérií závisia od typu kultúry, tiež od prítomnosti látok v mlieku alebo smotane, ktoré inhibujú rast kultúr. Rozdiely u výrobcov môžu byť spôsobené aj použitím inej technológie výroby. Pri stanovovaní baktérií rodu *Lactobacillus* zohráva dôležitú úlohu aj živné médium použité k ich stanoveniu.

Zmeny v počtoch ušľachtilých mikroorganizmov v troch kyslomliečnych výrobkoch testoval aj **Drbohlav (2000)**. V prvom type výrobku, ktorý obsahoval jogurtovú kultúru a bifidobaktérie po 8 dňoch skladovania pri 8°C zaznamenal mierny pokles počtu živých mikroorganizmov v 1 grame (z  $8,2 \cdot 10^7$  na  $7,6 \cdot 10^7$ ). Podobne za rovnakých podmienok skladovania zistil pokles živých mikroorganizmov aj vo výrobkoch, ktoré obsahovali jogurtovú kultúru a *Streptococcus faecium*.

**Jamrichová (1998)** na základe výsledkov svojich experimentálnych prác odporúča pre stanovenie laktobacilov jogurtovej kultúry MRS médium.

Skúmaním počtu mliečnych baktérií v jogurtoch sa venoval aj **Zahoor et. al. (2003)**. Pre svoj výskum použil MRS agar. Prvú vzorku jogurtu analyzoval hneď po zakúpení a analýzu robil potom vždy po 15 dňoch. Výsledky, ktoré zistil uvádzame v tabuľke 4. Tiež potvrdil teóriu, že počet mliečnych baktérií v jogurte v závislosti od času klesá. Ale tento skúmaný jogurt by nevyhovoval požiadavke Potravinového kódexu, podľa ktorého by malo byť v jogurte najmenej  $10^7$  mliečnych baktérií.

Podľa **Kačániovej et al. (2010)** sa životaschopnosť bifidobaktérií rýchlo stráca aj v probio jogurtoch. Uvádza to v príspevku, kde sledovali počet bifidobaktérií v probiotických tyčinkách. V nich sa podľa výsledkov po 7 dňoch uskladnenia pri teplote 4°C počet živých bifidobaktérií zníži o 2 rády. Po 14 dňoch skladovania aj pri nízkych teplotách živé baktérie sa tam vyskytujú už len v zanedbateľnom počte. My sme ale vo svojom výskume nezistili pokles baktérií až o 2 rády. Možno je to preto, lebo v jogurtoch sú vhodnejšie podmienky pre baktérie, na rozdiel od podmienok v probiotických tyčinkách.

Počet mliečnych baktérií v jogurtoch zisťovali aj **Páleníková (2009)** a **Asztalos (2009)**. Páleníková zisťovala počet mliečnych baktérií v probiotických jogurtoch (probio a activia) a Asztalos v jogurtoch bez pridania špeciálnych probiotických kultúr (dva druhy smotanových jogurtov). Pri kultivácii použili také isté živné pôdy ako sme použili aj my (MRS agar a Lee's agar). Sledovali zmeny počtu mliečnych baktérií pred a po expirácii jogurtu. Podobne zistili významné rozdiely v počte mliečnych baktérií medzi skúmanými druhmi jogurtov, v dobe po výrobe a po dobe spotreby a tiež rozdiely na živných médiách (MRS a Lee's agar).

Počty mliečnych baktérií vo všetkých jogurtoch aj napriek významným rozdielom medzi jednotlivými druhmi

jogurtov spĺňali podmienky pre kyslomliečne výrobky podľa **Potravinového kódexu SR (2010)**.

Pokles počtu mliečnych baktérií počas doby spotreby súvisí zrejme s ich postupným odumieraním vplyvom zmeny prostredia. Na zmenu počtu ušľachtilých mikroorganizmov v priebehu skladovania kyslomliečnych výrobkov poukazuje aj **Drbohlav (2000)**. Hodnotením mikrobiologickej kvality jogurtov sa zaoberala aj **Bobková et al. (2008)**, ktorá zisťovala prítomnosť nežiaducich mikroorganizmov a na základe jej zistení tieto jogurty spĺňali požiadavky predpísané legislatívou.

**Tabuľka 4** Počet mliečnych baktérií v jogurte v závislosti od času (**Zahoor, 2003**)

deň výskumu	0	15	30	45	60
Počet ml. baktérií v 1 ml vzorky jogurtu	$9,9 \cdot 10^6$	$9,6 \cdot 10^6$	$4,9 \cdot 10^6$	$4,2 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^6$

**Tabuľka 5** Nadbytok živých charakteristických mikroorganizmov v kyslomliečnych výrobkoch podľa Potravinového kódexu SR, III. časť, 6. hl., výnos MPSR a MZSR 2143/2006-100 (2010).

Kyslomliečne výrobky	Mikroorganizmy podľa odseku 1 až 7 (KTJ. g <sup>-1</sup> , spolu)	Mikroorganizmy uvedené v názve alebo označení (KTJ. g <sup>-1</sup> , spolu)	Kvasinky KTJ.g <sup>-1</sup>
Fermentované mlieko	$10^7$	$10^6$	
Jogurt, jogurt s náhradnou (alternatívnou) kultúrou a acidofilné mlieko	$10^7$	$10^6$	
Kefír	$10^7$		$10^4$
Kefírové mlieko	$10^7$		$10^2$

## ZÁVER

Na vzorke 80 jogurtov od 2 slovenských výrobcov sme zistili v čase pred dátumom spotreby od  $78 \cdot 10^7$  do  $169 \cdot 10^7$  KTJ a v čase po dátume spotreby od  $59 \cdot 10^7$  do  $133 \cdot 10^7$  KTJ mliečnych baktérií v 1 ml. Na základe týchto výsledkov sme dospeli k záveru, že všetky jogurty splnili požiadavky Potravinového kódexu SR, a to nie len pred ale aj po dátume spotreby. I napriek tomu odporúčame dodržiavať konzumáciu do dátumu spotreby z dôvodu možnej kontaminácie inými nežiaducimi mikroorganizmami.

## LITERATÚRA

ASZTALOS, C. 2009. Výskyt mliečnych baktérií v jogurtoch a ich význam vo výžive. Diplomová práca. Nitra: UKF, 2009, 64 p.

AXELSON, L. 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: *Salminen S, Von Wright A (eds) Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects*. Marcel Dekker, New York, 1998, p. 1–71.

BOBKOVÁ, A., ZELENÁKOVÁ, L., LOPAŠOVSKÝ, L., PAVELKOVÁ, A., ŽIDEK, R., BOBKO, M. 2008. Hodnotenie mikrobiologickej kvality smotanových jogurtov. In *Bezpečnosť a kontrola potravín. Zborník prác*

- z medzinárodnej vedeckej konferencie, Nitra : SPU, 2008, p. 33-38, ISBN 978-80-552-0027-9.
- CORRAL, J. M., BAÑUELOS, O., ADRIO, J. L., VELASCO, J. 2006. Cloning and characterization of a  $\beta$ -galactosidase encoding region in *Lactobacillus coryniformis* CECT 5711. In *Applied Microbiology and Biotechnology*. vol. 73, 2006, no. 3, p. 640-646.
- ČAPLA, J., ZAJÁC, P., VIETORIS, V., BAJZÍK, P. 2010. New methodologies for biofilms control in food industry. In *Potravinárstvo*, vol. 4, 2010, no. 3, p. 10-13, ISSN 1338-0230.
- DRÁBEKOVÁ, J., LENGYELOVÁ, L. 2004. Jogurt ako súčasť zdravej výživy. In *Zborník z vedecko-metodickej konferencie Výchova k zdraviu a zdravému životnému štýlu*. FPV UKF Nitra, 2004, Edícia Prírodovedec č.143, ISBN 80-8050-739-2, p. 65-70.
- DRBOHLAV, J. 2000. Mikroflora s dieteticko-ochrannými vlastnosťami v mliečnych výrobkoch. In *Zpravodaj – mlékařské listy*, 2000, p. 16-18.
- FULLER, R. 1989. Probiotics in man and animals. In *J Appl Bacteriol*, vol. 66, 1989, no. 5, p. 365-378.
- GOLIAN, J. 2010. *Ochorenia z potravín*. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 1998, 123 p., ISBN 80-7123-519-5.
- GUEQUIM-KANA, E.B., OLOKE, J.K., LATEEF, A., ZEBAZE-KANA, M.G. 2007. Novel optimal temperature profile for acidification process of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in yoghurt fermentation using artificial neural network and genetic algorithm. In *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, vol. 34, 2007, no. 7, p. 491-496.
- HERIAN, K. 2001. Problematika zabezpečovania kvality výroby mliečnych výrobkov. In *Hygiena alimentorum XXII: Mlieko a mliečne výrobky na začiatku nového milénia. Zborník prednášok a posterov*. Košice : UVL 2001, p. 23-28.
- HORNÍK, A. 1996. *Špeciálna mikrobiológia*. Nitra: VŠP, 1996, 72 p., ISBN 80-7137-301-X.
- JAMRICOVÁ, S. 1998. Fermentované výrobky s probiotickými kultúrami - výživa, legislatíva, technológia. In *Mliekarstvo*, vol. 29, 1998, no. 2, p. 24-27.
- JOHNS, P., PEREIRA, S. L., LEONARD, A. E., MUKERJI, P., SHALWITZ, R. A., DOWLATI, L., PHILLIPS, R. R., BERGANA, M. S., HOLTON, J. D., DAS, T. 2007. Cytoprotective Agent in *Lactobacillus bulgaricus* Extracts. In *Current Microbiology*, vol. 54, no. 2, p. 131-135, ISSN 1432-0991.
- KAČÁNIOVÁ, M., ANGELOVIČOVÁ, M., NOVÁKOVÁ, I., POCHOP, J., LIPTAJOVÁ, D., KLIMENT, M., KUNOVÁ, S. 2010. Prežiteľnosť baktérií v probiotických tyčinkách. In *Potravinárstvo*, vol. 4, no. 2, p. 402-409, ISSN 1337-0960.
- LEE, Y. K., SALMINEN, S. 1995. The coming of age probiotics. In *Trends in Food Science & Technology*, vol. 6, 1995, no. 7, p. 241 - 244.
- LOPAŠOVSKÝ, L., KUŠNIEROVÁ, M., BAŠNÁKOVÁ, M., ZELENÁKOVÁ, L., BOBKOVÁ, A., ANGELOVIČOVÁ, M., KOZELOVÁ, D. 2009. Porovnanie screeningovej metódy 3M™ Petrifilm™ a klasickej platňovej metódy pri mikrobiologickom vyšetrení zmrzlín. In *Zoonózy - spoločná ochrana zdravia ľudí a zdravia zvierat [elektronický dokument] : zborník prác z 2. vedeckého kongresu, Bratislava, 27.-29.10.2009*. Bratislava : MP SR, p. 80.
- NEU, J., CAICEDO, R. 2005. Probiotics: Protecting the intestinal ecosystem? In *J Pediatr*. vol. 147, 2005, no. 2, p. 143-146.
- O'SULLIVAN, D. J. 2001. Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria. In *J Agric Food Chem.*, vol. 49, 2001, no. 4, p. 1751-1760.
- PÁLENÍKOVÁ, D. 2009. Zisťovanie počtu mliečnych baktérií v probiotických jogurtoch. Diplomová práca. Nitra: UKF, 2009, 60 p.
- PETROF, E. O., KOJIMA, K., ROPELESKI, M. J., MUSCH, M. W., TAO, Y., DE SIMONE, C., CHANG, E. B. 2004. Probiotics inhibit nuclear factor- $\kappa$ B and induce heat shock proteins in colonic epithelial cells through proteasome inhibition. In *Gastroenterology*. vol. 127, 2004, no. 5, p. 1474-1487.
- POTRAVINOVÝ KÓDEX SLOVENSKEJ REPUBLIKY. 2010. Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky zo 14. augusta 2006 č. 2143/2006-100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca mlieko a výrobky z mlieka.
- SALUSTIANO, V. C., ANDRADE, N., BRANDA, O. 2004. Microbiological Aspects of milk processing plant. In *Journal of Food Safety*, vol. 24, 2004, no. 3, p. 160-166.
- SAXELIN, M., TYNKKYNNEN, S., MATTILA-SANDHOLM, T., DE VOS, W. M. 2005. Probiotic and other functional microbes: From markets to mechanisms. In *Curr Opin Biotechnol*, vol. 16, 2005, no. 2, p. 204-211.
- ZAHOOR, T., RAHMAN, S.U., FAROOQ, U. 2003. Viability of *Lactobacillus bulgaricus* as Yoghurt Culture Under Different Preservation Methods. In *International Journal of Agriculture and Biolog*, vol. 5, 2003, no. 1, p. 46-48.
- ZAJÁC, P., ČAPLA, J. 2010. Prehľad výskytu rezíduí inhibičných látok v surovom kravskom mlieku v Slovenskej republike za roky 2001 až 2009. In: *Bezpečnosť a kontrola potravín : Zborník prác z medzinárodnej vedeckej konferencie, Nitra, 24.- 25. marec 2010*. Nitra : SPU, p. 199-200. ISBN 978-80-552-0350-8.
- ZAJÁC, P., GOLIAN, J., NOVÁKOVÁ, R. 2007. Vplyv zvýšeného počtu somatických buniek na zdravotnú neškodnosť surového kravského mlieka. In *Potravinárstvo*, vol. 1, no. 1, p. 10-15, ISSN 1337-0960,
- ZELENÁKOVÁ, L., GOLIAN, J. 2008. Aplikácia ELISA testov na detekciu falšovania mlieka a syrov. Nitra : SPU, 2008, 98 p., ISBN 978-80-552-0075-0.
- ZELENÁKOVÁ, L., GOLIAN, J., ZAJÁC, P. 2008. Application of ELISA tests for the detection of goat milk in shep milk. In *Milchwissenschaft*. vol. 63, 2008, no. 2, p. 137-141, ISSN 0026-3788.

**Acknowledgments:**

This article was the project: CGA I-07-301-01 (Importance Lactid Acid Bacteria and their integration into the educational process).

**Contact address:**

Libuša Lengyelová, Department of Botany and Genetics,  
Faculty of Natural Sciences Constantine the Philosopher  
University in Nitra, Nábřežie mládeže 91, 949 74 Nitra  
Slovakia, E-mail: llengyelova@ukf.sk

Dagmar Kozelová, Department of Hygiene and Food  
Safety, Faculty of Biotechnology and Food Science,  
Slovak University of Agriculture, E-mail:  
dagmar.kozelova@uniag.sk

Ludmila Trstenovičová, Elementary and infant school,  
Uľany nad Žitavou, Hlavná 199,  
941 03 Uľany nad Žitavou; Slovakia, E-mail:  
trstenovicova@gmail.com

Silvia Pintérová, Elementary and infant school, Veľký  
Kýr, Školská 7, 941 07 Veľký Kýr; Slovakia, E-mail:  
spinterova@azet.sk