

SLEDOVÁNÍ VÝSKYTU PSYCHROTROFNÍCH MIKROORGANISMŮ V SYROVÉM MLÉCE

R. Burdychová, P. Hoferková

Došlo: 26. května 2008

Abstract

BURDYCHOVÁ, R., HOFERKOVÁ, P.: *Monitoring of psychrotrophic microorganisms in raw milk*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2008, LVI, No. 4, pp. 21–28

The group of psychrotrophic microorganisms belongs to the microorganisms representing a risk for human health as well as a risk of milk and milk products spoilage. Some genus are considered to be significant producers of proteolytic and lipolytic enzymes. In this work, we analysed raw milk samples ($n = 109$) originated from 26 different suppliers from the area of North and Middle Moravia. The screening was performed from March 2007 to February 2008. The total bacterial counts (TBC) ranged between 3.2×10^3 to 8.3×10^6 CFU/ml. The psychrotrophic bacterial counts (PBC) ranged between 1.0×10^3 to 8.2×10^6 CFU/ml. Total of 48.62 % and 48.62 % of samples exceeded the hygienic limit in raw milk for TBC and PBC, respectively. The correlation between TBC and PBC was highly significant ($r = 0.87$).

Significantly higher ($P < 0.05$) numbers of psychrotrophic microorganisms were detected in summer months. The identification of isolates was carried out and all strains were screened for ability to produce proteolytic and lipolytic enzymes. The most commonly identified genus in raw milk was of the genus *Pseudomonas*. The ability to produce proteases or lipases was found at 76 % identified bacterial strains.

raw milk, psychrotrophic microorganisms, proteolytic activity, lipolytic activity, total bacterial count

V současné době je v potravinářství kladen velký důraz na hygienu a údržnost potravin. Mezi nejvýznamnější zemědělskou a potravinářskou komoditu patří mléko, které hraje významnou roli ve výživě lidí. Zároveň je to však výborné médium pro růst a pomnožování bakterií.

Kvalita mléka a mléčných výrobků se odvíjí od hygienických podmínek a technologického vybavení zemědělské prvovýroby, přes svoz mléka, příjem mléka v mlékárenském závodě až po samotný technologický proces zpracování na sortiment mléka a mléčných výrobků (BURDOVÁ a BARANOVÁ, 2005a).

Mezi mikroorganismy představující zdravotní riziko a/nebo způsobující vady mléka a mléčných výrobků patří i skupina psychrotrofních mikroorganismů (MARTH a STEELE, 2001). Nejčastějšími zástupci psychrotrofních mikroorganismů v syrovém mléce jsou gramnegativní bakterie rodů *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Chromobacterium* a grampozitivní bakterie rodů *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Lacto-*

bacillus a *Microbacterium* (SORHAUG a STEPANIAK, 1997).

Počet psychrotrofních mikroorganismů v mléce je ovlivněn hygienou při jeho získávání, ošetření a úchově (LUKÁŠOVÁ, 1997). Psychrotrofní mikroorganismy se dostávají do mléka primárně z krmiv, prachu a z kontaminované vody. Nejvýznamnějším sekundárním zdrojem psychrotrofních bakterií jsou nedostatečně čištěné a dekontaminované plochy, které se stýkají s chlazeným mlékem, potrubí a chladicí nádrže, ve kterých se mléko současně chladí (GÖRNER a VALÍK, 2004).

Koncentrace výroby v zemědělství a v potravinářském průmyslu způsobila, že cesta potravin od prvovýrobce ke spotřebiteli se prodloužila. Suroviny i hotové potraviny je třeba dlouhodobě uchovávat. Aby nedocházelo k jejich znehodnocování, skladují se při nízkých teplotách, které zamezují působení běžné mezofilní mikroflóry. Během delší doby skladování se však může projevit přítomnost psychrotrofní mikroflóry, jejíž činnost na rozdíl od mezofil-

ních bakterií není zastavena, ale pouze zpomalena (ŽIŽKA a KORBELOVÁ, 1992).

Psychrotrofní mikroorganismy jsou schopné růstu a metabolických projevů i při nízkých teplotách, kolem 4 °C. Při této teplotě je mléko uchováváno v mléčnicích, při přepravě ke zpracovateli i v době skladování a distribuce hotových výrobků. Vzhledem k tomu, že nízké teploty neinhibují tvorbu a činnost enzymatických systémů proteas a lipas, může dojít ke změnám struktur bílkovin a tuků, zvláště pak po delší době skladování surovin a produktů (VYLETĚLOVÁ a HANUŠ, 2000). Proteolytické enzymy psychrotrofních bakterií mají podle druhu odlišný charakter (GÖRNER a VALÍK, 2004). Proteasy jsou významné, protože jsou termostabilní a podílejí se na kažení mléka. Proteolytická aktivita je spojena s cizími pachy a příchutěmi, s nižší výtěžností sýrů a s gelováním UHT mléka. Následkem toho se snižuje údržnost mléka a akceptovatelnost těchto výrobků spotřebitelem (KOKA a WEIMER, 2000).

Působení lipas má za následek rozklad mléčného tuku a vznik zatuchlého a mýdlovitého zápachu, případně nahořklé chuti (uvolněnými nízkomolekulárními mastnými kyselinami způsobuje senzorické a dietetické vady mléčných výrobků). Působením proteolytických enzymů dochází k rozkladu kaseinu a vzniku hořké chuti mléka (VYLETĚLOVÁ a HANUŠ, 2000).

Rozsah proteolýzy a lipolýzy je úměrný kvantitě těchto enzymů a délce jejich působení za ostatních daných podmínek (LUKÁŠOVÁ a kol., 1999).

Cílem této práce bylo sledování výskytu psychrotrofních mikroorganismů v syrovém mléce a jejich identifikace pomocí kultivačních, biochemických a molekulárně-biologických metod.

MATERIÁL A METODY

V této práci byly analyzovány vzorky syrového mléka, které pocházely od 26 různých dodavatelů z oblasti severní a střední Moravy. Vzorky syrového mléka byly odebírány podle normy ČSN ISO 707. Základní zpracování vzorků bylo provedeno dle normy ČSN ISO 7218. Celkový počet mikroorganismů (CPM) byl stanoven podle normy ČSN ISO 6610. Pro izolaci a zjištění počtu psychrotrofních bakterií (CPP) byla použita kultivační metoda, popsaná normou ČSN ISO 6730, kultivace probíhala na živné půdě PCA se sušeným mlékem (NOACK, ČR) při teplotě 6,5 °C po dobu 10 dnů. Izolované kmeny byly vyočkovány na krevní agar, mikroskopicky hodnoceny (Gramovo barvení) a identifikovány pomocí biochemických testů (kataláza test, ENTEROtest 16, NEFERMtest 24, ONP a OXI test (Lachema, ČR). Pro stanovení proteolytické aktivity byl použit Nutrient Gelatin agar (HiMedia, Indie). Lipolytická aktivita byla stanovena na Spirit Blue agaru (HiMedia, Indie) a Tributyrin agaru (HiMedia, Indie).

U statisticky významného počtu izolátů ($P < 0,05$) byla provedena molekulárně biologická identifikace zastoupených rodů psychrotrofních mikroorganismů. Z dobře narostlých mikrobiálních kultur

vybraných psychrotrofních bakterií byla izolována DNA. Standardní manipulace s DNA byla provedena podle SAMBROOKA a RUSSELLA (2001) a AUSUBELA a kol (1994). Kvalita DNA byla ověřena pomocí gelové elektroforézy v agarózovém gelu, po obarvení fluorescenčním barvivem ethidium bromidem byla DNA detekována zářením v UV světle.

Druhově specifická PCR pro rod *Pseudomonas* byla provedena podle metody, kterou uvádějí GUNASEKERA a kol. (2003).

Pro statistickou analýzu byla při výpočtu korelační a regresní analýzy podle VYLETĚLOVÉ a kol. (2000) použita logaritmická transformace dat. Jako střední hodnoty souborů byly určeny geometrické průměry.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V průběhu 12 měsíců bylo zanalyzováno 109 vzorků syrového mléka. Celkový počet mikroorganismů stanovený ve vzorcích syrového mléka se pohyboval od $3,2 \cdot 10^3$ do $8,3 \cdot 10^6$ CFU/ml. Hygienický limit ($CPM \leq 100\,000$ CFU/ml) byl překročen u 48,62 % vzorků. Je to více než ve své studii uvádějí PRAKASH a kol. (2007), kde hygienický limit překročilo 26,7 % vzorků. Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů detekovaných v této studii se pohyboval v rozmezí od $1,0 \cdot 10^3$ do $8,2 \cdot 10^6$ CFU/ml. Hygienický limit ($CPP \leq 50\,000$ CFU/ml) byl rovněž překročen u 48,62 % vzorků. CEMPÍRKOVÁ (2002) zaznamenala překročení CPP ve vzorcích syrového mléka pouze u 0,02 % vzorků. Z výsledků (Tab. I a II) vyplývá, že CPM a CPP významně překračovaly požadavky normy (ČSN 57 0529), a to v mnoha případech i několikanásobně. Úzký vztah mezi výskytem celkové a psychrotrofní mikroflóry mléka je všeobecně známý. Počet psychrotrofních mikroorganismů a jejich podíl na celkové mikroflóře v syrovém mléce značně kolísal. Procentuální podíl psychrotrofní mikroflóry na celkové mikroflóře syrového mléka se pohyboval mezi 0,83–100 % (průměrná hodnota 66,27 %). Nepřiměřeně zvýšené počty psychrotrofních mikroorganismů mohou být spojeny s nedostatečnou hygienou při dojení, čištění a dezinfekci dojící a úchovné techniky na mléko, jak ve své studii uvádějí PRAKASH a kol. (2007). Podle BURDOVÉ a BARANOVÉ (2005b) mléko získané za hygienicky uspokojivých podmínek obvykle obsahuje méně než 10 % psychrotrofních mikroorganismů z celkového počtu mikroorganismů, který nepřesahuje 10^4 v 1 ml. Více než 75 % psychrotrofních mikroorganismů z CPM se vyskytuje v mléce získaném za špatných hygienických podmínek (DUCKOVÁ a ČANIGOVÁ, 2004).

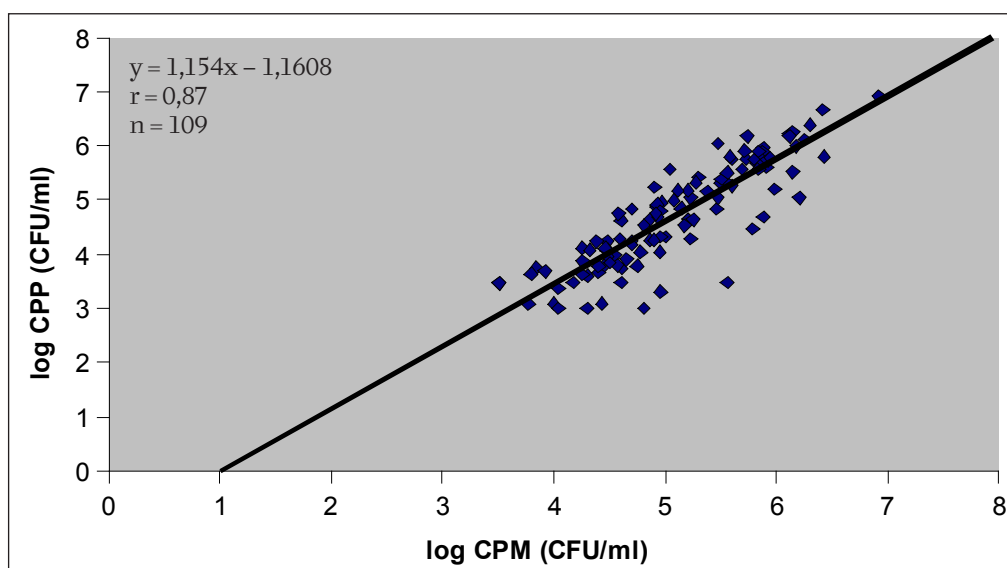
Jedním z důvodů, proč byly ve vzorcích syrového mléka zjišťovány poměrně vysoké počty CPM a CPP, mohl být i fakt, že vzorky mléka dodávané do laboratoře byly minimálně 24 hodin staré. I když byly uchovávány při teplotě 6–7 °C, mohlo dojít k pomnožení psychrotrofních mikroorganismů. Teplota mléka při odběru a časová prodleva při svozu hrají

důležitou roli jak pro prvovýrobce, tak pro zpracovatele (VYLETĚLOVÁ a kol., 2000).

Vzhledem k tomu, že se mléko jeví jako vhodná živná půda pro rozvoj rozličné bakteriální mikroflóry, může docházet v důsledku nedodržení nízkých skladovacích teplot k pomnožení psychrotrofních bakterií – z celkového počtu mikroorganismů (CPM) mohou psychrotrofní bakterie tvořit z původních 24 % až téměř 100 %. Při sledování dynamiky změn stavu psychrotrofní mikroflóry syrového mléka BURDOVÁ a BARANOVÁ (2005b) zjistily, že ke statisticky významnému rozvoji psychrotrofních mikroorganismů, a tím i CPM dochází už po 24 hodinách uchovávání vzorků syrového mléka při 6–7 °C. Toto zjištění odpovídá výsledkům, které uvádějí ve své studii VYLETĚLOVÁ a kol. (2000), kteří sledovali vliv teploty na průběh růstu jednotlivých skupin mikroorganismů ve vzorcích syrového

mléka. Zjistili, že pro nejstabilnější zachování mikrobiologického složení syrového kravského mléka a omezení růstu mikroorganismů k uchování mléka se teplota 4 °C ukazuje jako mnohem spolehlivější než teplota 6,5 °C, při které došlo již po 24 hodinách téměř k dvojnásobnému nárůstu CPM a CPP.

Ke statistickému vyhodnocení byla použita lineární regrese, jejíž výsledkem je rovnice regresní přímky $y = 1,154x - 1,1608$ (Obr. 1). Vzájemný vztah mezi CPP a CPM je významný ($r = 0,87$; $P < 0,001$). Výsledky potvrdily, že výskyt psychrotrofních bakterií významně koreluje s výskytem mezofilních bakterií. Také VYLETĚLOVÁ a kol. (1999) uvádějí, že vztah mezi CPP a CPM je významný a překvapivě vysoká korelace mezi CPP a CPM ($r = 0,96$) u vzorků ze svozové oblasti naznačuje, že pro hodnocení hygienické kvality syrového mléka by s uspokojivou spolehlivostí postačoval jediný ukazatel, a to CPM.



1: Znárodnění vzájemné korelace mezi hodnotami CPM a CPP (r – korelační koeficient, n – počet vzorků)

Vlivným, i když nepřímým faktorem na zvýšeném nárůstu hodnot CPM a CPP může být sezonní vliv. Nejvyšší průměrné počty CPM i CPP byly zaznamenány v letním období. Nejmenší hodnoty pro CPM a CPP byly zaznamenány v listopadu, prosinci a lednu. Uvedené výsledky potvrzuje KADLEC (2003), který uvádí, že v letním období, kdy jsou zachovány vyšší hodnoty CPM, jsou zachovány i vyšší hodnoty psychrotrofních mikroorganismů. Také BURDOVÁ a BARANOVÁ (2005a) se ve své práci zmiňují, že počty psychrotrofních mikroorganismů jsou podstatně vyšší v letním období, často až desetinásobně.

Termorezistentní proteolytické a lipolytické enzymy mohou při vysoké koncentraci znehodnotit mléko jako surovinu nebo meziprodukt. Ovlivňují kvalitu, nutriční a senzorické vlastnosti a dobu skladování mléka a mléčných výrobků. Proteolytická a lipolytická aktivita byla posuzována u statisticky vý-

znamného počtu kolonií psychrotrofních bakterií. Z celkového počtu 50 kolonií produkovalo 64 % proteolytické enzymy a 66 % kolonií tvořilo lipolytické enzymy. Proteolytické i lipolytické enzymy produkovalo současně 54 % kolonií. 76 % kolonií produkovalo alespoň jeden z enzymů. Vzhledem k tomu, že detekce proteolytické a lipolytické aktivity probíhala při 6,5 °C, lze konstatovat, že většina z izolovaných psychrotrofních bakterií produkovala lytické enzymy i při chladírenských teplotách. Tvorba těchto enzymů je významná tehdy, jestliže počty psychrotrofních bakterií dosahují hodnoty vyšší než 10^6 CFU/ml. Z našich výsledků vyplývá, že v několika případech byla hodnota CPP dokonce vyšší než 10^6 CFU/ml, což mohlo mít za následek vznik senzorických vad u mléka a následně i u mléčných výrobků.

Při detekci technologicky významných druhů psychrotrofních bakterií byl nejčastěji zastoupen rod *Pseudomonas* (76 %). Převážnou většinu (55 %)

těchto bakteriálních kmenů tvořil typický představitel technologických problémů *Pseudomonas fluorescens*. Podle mnoha autorů je rod *Pseudomonas* z hlediska mlékárenské praxe a produkce enzymů nejvýznamější. VYLETELOVÁ a HANUŠ (2000) uvádějí, že *Pseudomonas fluorescens* je z hlediska možnosti mikro-

biologické kontaminace v prvovýrobě i při zpracování mléka technologicky nejvýznamnějším potenciálním kontaminantem, což je v kontrastu s USA, kde bývá na první místo řazen spory tvořící druh *Bacillus* (STEVENSON a kol., 2003).

SOUHRN

Koncentrace výroby v zemědělství a v potravinářském průmyslu způsobila, že cesta potravin y od prvovýrobce ke spotřebiteli se prodloužila. Suroviny i hotové potraviny je třeba dlouhodobě uchovávat. Aby nedocházelo k jejich znehodnocování, skladují se při nízkých teplotách, které zamezují působení běžné mezofilní mikroflóry. Během delší doby skladování se však může projevit přítomnost psychrotrofní mikroflóry, jejíž činnost na rozdíl od mezofilních bakterií není zastavena, ale pouze zpomalena. Tato mikroflóra způsobuje rozklad bílkovin a tuků a je příčinou nepříjemných pachů a vad chuti.

Z uvedených důvodů se stále ve větší míře posuzuje požadavek zjišťovat při mikrobiologické kontrole surovin a hotových výrobků vedle celkového počtu mikroorganismů také obsah psychrotrofních bakterií. Mikrobiální kontaminace syrového mléka má zásadní význam pro kvalitu mléka jako suroviny pro výrobu mléčných potravin a v této souvislosti je její redukce i jedním z faktorů ochrany zdraví konzumentů. Cílem této práce bylo sledování výskytu psychrotrofních mikroorganismů v syrovém mléce a jejich identifikace pomocí kultivačních, biochemických a molekulárně-biologických metod. Celkový počet mikroorganismů (CPM) byl stanoven podle normy ČSN ISO 6610. Pro izolaci a zjištění počtu psychrotrofních bakterií (CPP) byla použita kultivační metoda popsaná normou ČSN ISO 6730. Izolované kmeny byly vyočkovány na krevní agar, mikroskopicky hodnoceny (Gramovo barvení) a identifikovány pomocí biochemických testů (kataláza test, ENTEROtest 16, NEFERMtest 24, ONP a OXI test (Lachema, ČR) a pomocí rodově – specifických PCR. Pro stanovení proteolytické aktivity byl použit Nutrient Gelatin agar (HiMedia, Indie). Lipolytická aktivita byla stanovena na Spirit Blue agaru (HiMedia, Indie) a Tributyrin agaru (HiMedia, Indie).

Celkový počet mikroorganismů stanovený ve vzorcích syrového mléka se pohyboval od $3,2 \times 10^3$ do $8,3 \times 10^6$ CFU/ml. Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů se pohyboval v rozmezí od $1,0 \times 10^3$ do $8,2 \times 10^6$ CFU/ml. Nejvyšší průměrné počty CPM i CPP byly zaznamenány v letním období. Vzájemný vztah mezi CPP a CPM je významný ($r = 0,87$). Výsledky potvrdily, že výskyt psychrotrofních bakterií významně koreluje s výskytem mezofilních bakterií. Nejmenší hodnoty pro CPM a CPP byly zaznamenány v listopadu, prosinci a lednu. Proteolytická a lipolytická aktivita byla posuzována u statisticky významného počtu kolonií psychrotrofních bakterií. Z celkového počtu 50 kolonií produkovalo 76 % kolonií alespoň jeden z enzymů. Nejčastější zastoupení měl rod *Pseudomonas* (76 %).

syrové mléko, psychrotrofní mikroorganismy, celkový počet mikroorganismů, biochemické testy

SUMMARY

The group of psychrotrophic microorganisms belongs to the microorganisms representing a risk for hygienic quality of raw milk. Some genus are considered to be significant producers of proteolytic and lipolytic enzymes.

The aim of this work was the determination of total count of psychrotrophic microorganisms and total count of mesophilic bacteria in raw and pasteurized milk samples ($n = 109$) originated from 26 different suppliers from the area of North and Middle Moravia. The screening was performed from March 2007 to February 2008. Samples were cultivated by the plate method under standard conditions ($6.5^\circ\text{C}/10$ days for psychrotrophic bacteria; $30^\circ\text{C}/3$ days for mesophilic bacteria). Total count of psychrotrophic bacteria and total count of mesophilic bacteria varied from 1.0×10^3 to 8.2×10^6 CFU/ml and from 3.2×10^3 to 8.3×10^6 CFU/ml, respectively.

Total of 48.62 % and 48.62 % of samples exceeded the hygienic limit in raw milk for total count of mesophilic bacteria and total count of psychrotrophic bacteria, respectively. The correlation between these counts was highly significant ($r = 0.87$). Significantly higher ($P < 0.05$) numbers of psychrotrophic microorganisms were detected in summer months.

Subsequently, the determination of proteolytic and lipolytic activity of psychrotrophic bacteria and their identification was carried out. For the determination of proteolytic activity, Nutrient Gelatin was used. Single isolates of psychrotrophic microorganisms were cultivated at 6.5°C for 10 days. Tributyrin Agar Base and Spirit Blue Agar were applied in the case of lipolytic activity determination. Inoculated plates were incubated at 6.5°C for 10 days. The ability to produce proteases or lipases was found at 76 % identified bacterial strains.

For the identification of psychrotrophic bacteria isolates having proteolytic and lipolytic activity, Gram staining, biochemical tests (catalase test, NEFERMtest 24) and genus specific PCR were used. The most commonly identified genus in milk samples was of the genus *Pseudomonas*.

LITERATURA

- AUSUBEL, F. M., BRENT, R., KINGSTON, R. E., MOORE, D. D., SEIDMAN, J. G., SMITH, J. A., STRUHL, K., 1994: *Current Protocols in Molecular Biology*. 1st. ed. New York: Greene Publishing Associates and Wiley-Interscience, 350 p.
- BURDOVÁ, O., BARANOVÁ, M., 2005a: Sanitační režim v poľnohospodárskej prvovýrobe a jeho vplyv na asociáciu mikroorganizmov mlieka. *Mliekarstvo*, 36, 3: 11–15.
- BURDOVÁ, O., BARANOVÁ, M., 2005b: Vplyv technologicky nežiadúcej mikroflóry na kvalitu mlieka a mliečnych výrobkov. *Mliekarstvo*, 36, 2: 18–20.
- CEMPÍRKOVÁ, R., 2002: Psychrotrophic vs. Total bacterial counts in bulk milk samples. *Vet. Med. Czech.*, 47, 8: 227–233.
- ČSN ISO 57 0529 Syrové kravské mléko pro mlékárenské ošetření a zpracování. Praha, 1997.
- ČSN ISO 6610 Stanovení počtu jednotek mikroorganismů tvořících kolonie. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C. Praha, 1996.
- ČSN ISO 6730 Stanovení počtu jednotek tvořících kolonie psychrotrofních mikroorganismů. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 6,5 °C. Praha, 1995.
- ČSN ISO 707 Mléko a mléčné výrobky - Směrnice pro odběr vzorků. Praha, 1998.
- ČSN ISO 7218 Mikrobiologie potravin a krmiv – Všeobecné pokyny pro mikrobiologické zkoušení. Praha, 1998.
- DUKOVÁ, V., ČANIGOVÁ, M., 2004: Psychrotrofná mikroflóra mlieka. *Mliekarstvo*, 35, 3: 32–35.
- GÖRNER, F., VALÍK, L., 2004: *Aplikovaná mikrobiológia potravín*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 528 s.
- GUNASEKERA, T. S., DORSCH, M. R., SLADE, M. B., VEAL, D. A., 2003: Specific detection of *Pseudomonas* spp. in milk by fluorescence in situ hybridization using ribosomal RNA directed probes. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 5: 936–945.
- KADLEC, I., 2003: Problematika prvovýroby mléka. *Náš chov*, LXIII, 2: 14–22.
- KOKA, R., WEIMER, B. C., 2000: Isolation and characterization of protease from *Pseudomonas fluorescens* RO98. *Journal of Applied Microbiology*, 89, 2: 280–288.
- LUKÁŠOVÁ, J., 1997: Hygienické podmínky získávání jakostního syrového mléka. *Náš chov*, LVII, 9: 11–12.
- LUKÁŠOVÁ, J., HOLEC, J., RYŠÁNEK, D., OSTRÝ, V., 1999: *Hygiena a technologie produkce mléka*. 1. vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 101 s.
- MARTH, E. H., STEELE, J. L., 2001: *Applied dairy microbiology*. 2nd. ed. New York: Marcel Dekker, 736 p.
- PRAKASH, M., RAJASEKAR, K., KARMEGAM, N., 2007: Bacterial population of raw milk and their proteolytic and lipolytic activities. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 3, 6: 848–851.
- SAMBROOK, J., RUSSELL, I., 2001: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual II*, 3rd. ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press: New York, 2344 p.
- SORHAUG, T., STEPANIAK, L., 1997: Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. *Trends in Food Science and Technology*, 8, 2: 35–41.
- STEVENSON, G., ROWE, M., WISDOM, B., KILPATRICK, D., 2003: Growth kinetics and hydrolytic enzyme production of *Pseudomonas* spp. isolated from pasteurized milk. *Journal of Dairy Research*, 70, 3: 293–296.
- VYLETĚLOVÁ, M., BENDA, P., HANUŠ, O., KOPUNECZ, P., 1999: Stanovení celkového počtu psychrotrofních bakterií v bazénových vzorcích mléka a jejich vztah k celkovému počtu mikroorganismů. *Czech Journal of Food Sciences*, 17, 6: 216–222.
- VYLETĚLOVÁ, M., HANUŠ, O., 2000: Vliv kontaminace *Pseudomonas fluorescens* na hlavní složky a technologické vlastnosti pasterizovaného mléka během skladování. *Czech Journal of Food Sciences*, 18, 6: 224–234.
- VYLETĚLOVÁ, M., HANUŠ, O., URBANOVÁ, E., KOPUNECZ, P., 2000: Výskyt a identifikace psychrotrofních bakterií s proteolytickou a lipolytickou aktivitou v bazénových vzorcích mléka v podmínkách technologií prvovýrobního uskladnění. *Czech J. Anim. Sci.*, 45: 373–383.
- ŽÍŽKA, B., KORBELOVÁ, M., 1992: *Mikrobiologie I*. 1. vyd. Praha, 195 s.

Adresa

Ing. Radka Burdychová Ph.D., Mgr. Petra Hoferková, Ústav technologie potravin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika

