

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Kvalita mléčných výrobků fermentovaných
mikroorganismy izolovanými z velbloudího mléka**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Barbora Melicharová

Obor studia: AMD - Výživa a potraviny

Vedoucí práce: doc. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.

© 2018 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Kvalita mléčných výrobků fermentovaných mikroorganismy izolovanými z velbloudího mléka" jsem vypracovala pod vedením vedoucí diplomové práce samostatně a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 13. dubna 2018

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Lence Kouřimské, Ph.D. za odborné vedení diplomové práce, cenné rady, trpělivost a čas, jenž mi věnovala při řešení úkolů dané problematiky. Zároveň bych zde ráda poděkovala prof. Ing. Evě Vlkové, Ph.D. a Ing. Nikol Modráčkové za odborné konzultace a rady do mikrobiologické části diplomové práce. V neposlední řadě bych také ráda poděkovala Ing. Chahrazed Mekadim za získání a poskytnutí velbloudího mléka.

Kvalita mléčných výrobků fermentovaných mikroorganismy izolovanými z velbloudího mléka

Souhrn

Velbloudí mléko se již od dávných dob používá v suchých a horkých oblastech k prevenci různých chorob a onemocnění včetně chřipky, tuberkulózy, astmatu apod. Cílem této diplomové práce bylo začlenit mikroorganismy, které byly izolovány pomocí molekulárně-genetických metod z velbloudího mléka ze čtyř alžírských farem, do rekonstituovaného kravského mléka. Následně byla sledována fermentace a růst těchto izolátů (*Bifidobacterium mongoliense*, *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum*, *Bifidobacterium crudilactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*) samostatně v kravském mléce nebo v přítomnosti bakterií základní smetanové a jogurtové kultury. Téměř všechny zkoumané druhy byly schopné samostatně fermentovat kravské mléko v množství okolo 7-8 log KTJ/ml. Po přidání smetanové kultury došlo ke statisticky významnému zvýšení počtu mikroorganismů pouze u druhu *Bifidobacterium crudilactis*. Ostatní druhy bifidobakterií a laktobacilů velbloudího mléka nebyly schopné konkurovat růstu bakterií smetanové kultury. Přídavkem jogurtové kultury se schopnost růstu bifidobakterií velbloudího mléka v mléce kravském výrazně snížila, u druhu *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum* a *Bifidobacterium crudilactis* se dokonce fermentace téměř zastavila. Experiment s jogurtovou kulturou, přestože je v ní obsažen *Lactobacillus delbrüeckii* subsp. *bulgaricus*, byl prováděn i v kombinaci s laktobacily velbloudího mléka. Fermentace kravského mléka proběhla sice ve vysokých počtech (více než 8 log KTJ/ml), přesto nebylo možné pouze mikrobiologickým rozbohem s přesností určit, které laktobacily koagulaci způsobily.

Zároveň byla v tomto experimentu provedena senzorická analýza mléčného výrobku fermentovaného čtyřmi vybranými kmeny bakterií velbloudího mléka (1 kmen *Lactobacillus plantarum*, 1 kmen *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* a 2 kmeny *Bifidobacterium crudilactis*). Senzorickým hodnocením profilu bylo zjištěno, že chuť fermentovaného mléčného výrobku byla bakteriemi velbloudího mléka negativně ovlivněna.

U testovaných kmenů byl předpokládán potenciální probiotický charakter, který bude společně s dalšími funkčními vlastnostmi ještě testován.

Klíčová slova: velbloudí mléko, kravské mléko, titrační kyselost, kysací křivky, fermentované výrobky

Quality of dairy products fermented with microorganisms isolated from camel milk

Summary

Camel milk has been used in the dry and hot areas since ancient times for the prevention of various diseases and illnesses, including flu, tuberculosis, asthma, etc. The aim of this diploma thesis was to integrate microorganisms which were isolated by molecular-genetic methods from camel milk from four Algerian farms, up to the reconstituted cow's milk. Subsequently, the fermentation and growth of these isolates (*Bifidobacterium mongoliense*, *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum*, *Bifidobacterium crudilactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*) was monitored separately in cow's milk or in the presence of mesophilic and yoghurt starter cultures. Almost all species tested were able to separately ferment cow's milk at about 7-8 log CFU/ml. After addition of the mesophilic culture, there was a statistically significant increase in the number of microorganisms only in the species *Bifidobacterium crudilactis*. Other types of bifidobacteria and lactobacilli of camel milk were unable to compete with the growth of the bacteria of the mesophilic culture. By addition of yoghurt culture, the ability of camel milk bifidobacteria to grow in cow's milk significantly decreased, in the species *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum* and *Bifidobacterium crudilactis*, the fermentation was almost stopped. Experiment with yoghurt culture, although it contains *Lactobacillus delbrückii* subsp. *bulgaricus*, was also performed in combination with lactobacilli of camel milk. However, cow's milk fermentation occurred at high levels (more than 8 log CFU/ml), it was not possible to determine precisely which lactobacilli caused coagulation only by microbiological analysis.

Alongside there was performed a sensory analysis of the milk product fermented with four selected strains of camel milk bacteria (1 strain of *Lactobacillus plantarum*, 1 strain of *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* and 2 strains of *Bifidobacterium crudilactis*) in this experiment. By sensory evaluation of the profile it was found that the taste of the fermented dairy product was negatively affected by the camel milk bacteria.

The test strains were predicted to have a probiotic potential which would still be tested together with other functional properties.

Keywords: camel milk, cow's milk, titratable acidity, fermentation curve, fermented products

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Cíl práce.....	2
3	Velbloudí mléko.....	3
3.1	Složení velbloudího mléka	3
3.1.1	Proteiny	4
3.3.1.1	Kaseiny	4
3.3.1.2	Syrátkové bílkoviny	4
3.3.1.3	Celkové a volné aminokyseliny	5
3.1.2	Tuky	6
3.1.3	Laktóza.....	7
3.1.4	Minerální látky.....	7
3.1.5	Vitaminy	8
3.2	Vlastnosti velbloudího mléka	8
3.2.1	Přínos velbloudího mléka pro zdraví člověka.....	9
3.3	Mikrobiologický profil syrového velbloudího mléka	10
3.3.1	Mikroorganismy izolované z velbloudího mléka	10
3.3.1.1	Bakterie mléčného kvašení izolované z velbloudího mléka.....	10
3.3.1.2	Kvasinky nalezené ve velbloudím mléce.....	14
3.3.1.3	Patogenní mikrobiota velbloudího mléka	15
3.4	Fermentované mléčné výrobky bakteriemi velbloudího mléka.....	16
3.4.1	Jogurt vyrobený ze směsi velbloudího a ovčího mléka	16
3.4.2	Nízkotučný sýr Akawi vyrobený s bakteriemi z velbloudího mléka.....	17
4	Materiály a metody	21
4.1	Izoláty mikroorganismů velbloudího mléka I.	21
4.1.1	Inokulace kravského mléka mikroorganismy velbloudího mléka I.	21
4.1.2	Posouzení koagulace a titrační analýza I.	22
4.1.2.1	Mikrobiologický rozbor inokulovaného kravského mléka.....	22
4.2	Izoláty mikroorganismů velbloudího mléka II.....	22
4.2.1	Kontrola čistoty mikroorganismů velbloudího mléka II.....	23
4.2.2	Inokulace kravského mléka mikroorganismy velbloudího mléka II spolu se smetanovou kulturou	23
4.2.2.1	Preparát z mléčných kultur	23
4.2.2.2	Mikrobiologický rozbor inokulovaného mléka II.....	23
4.2.2.3	Titrační analýza inokulovaného mléka II.	24

4.2.3	Inokulace kravského mléka mikroorganismy velbloudího mléka II spolu s jogurtovou kulturou	24
4.3	Senzorická analýza	25
5	Výsledky	27
5.1	Výsledky koagulace kravského mléka izoláty velbloudího mléka I.	27
5.2	Výsledky koagulace kravského mléka izoláty velbloudího mléka II a smetanové kultury	29
5.3	Senzorická a titrační analýza mléčného produktu fermentovaného bakteriemi velbloudího mléka	33
6	Diskuze	42
7	Závěr.....	45
8	Seznam literatury	46
9	Seznam tabulek	53
10	Seznam grafů	54
11	Seznam zkratk	55
Přílohy		
	Příloha 1 Obrázky testovaných mikroorganismů	
	Příloha 2 Formulář pro senzorickou analýzu	
	Příloha 3 Detailní výsledky senzorického hodnocení	
	Příloha 4 Příspěvek do sborníku	

1 Úvod

Hlavní zemědělskou činností v suchých klimatických oblastech zůstává v dnešní době rozsáhlý chov velbloudů (*Camelus dromedarius*). Velbloudi se zde považují za velmi významný zdroj masa a mléka. Produkce velbloudího mléka, která je odhadována cca na 6 l od jednoho velblouda za den, bývá spotřebovávána především tamním obyvatelstvem ve formě čerstvého syrového mléka nebo tradičních fermentovaných výrobků (Al Haj et Al Kanhal, 2010).

Ve velbloudím mléce jsou obsaženy všechny nezbytné živiny mléka kravského. Právě z tohoto důvodu je důležitou součástí lidské výživy v suchých a horkých oblastech světa. Lidé z těchto zemí (např. z Indie, Súdánu...) velbloudí mléko požívají už od dávných dob k prevenci celé řady onemocnění, jako chřipky, žloutenky, tuberkulózy, astmatu nebo leishmaniózy. V nedávných studiích však byly prokázány i další jiné potenciální terapeutické vlastnosti velbloudího mléka, a sice antikarcinogenita, antidiabetické vlastnosti a antialergické vlastnosti, na jejichž základě bylo velbloudí mléko doporučeno dětem alergickým na kravské mléko (Al Haj et Al Kanhal, 2010).

Z velbloudího mléka byla izolována široká škála mikroorganismů, od bakterií mléčného kvašení s vysokým probiotickým potenciálem (např. *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Bifidobacterium pseudolongum globosum*...), přes kvasinky (např. *Kluyveromyces marxianus*, *Issatchenkia orientalis*, *Candida krusei*, *Geotrichum penicillatum*...) až po patogenní mikroorganismy (např. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Salomella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp...). Zastoupení jednotlivých mikroorganismů ve velbloudím mléce je dáno druhem zvířete (jednohrbý vs. dvouhrbý velbloud), způsobem krmení a geografickou lokalitou.

Velbloudí mléko se vyznačuje četnými přínosy pro zdraví lidského organismu, jeho nevýhoda tkví především v jeho nedostupnosti na trhu ve většině zemí světa. Proto se některé dnešní výzkumy zabývají výrobou fermentovaných mléčných produktů se složkami velbloudího mléka. Ve většině případů je snahou izolovat z mléka bakterie mléčného kvašení a zaimponovat je do mléka lépe dostupného (nejčastěji do kravského či ovčího) za současného zachování zdravotních přínosů velbloudího mléka v konečném produktu.

2 Cíl práce

Hypotézou diplomové práce bylo zjistit, zda mikroorganismy izolované z velbloudího mléka jsou schopné přežít v kravském mléce a fermentovat jej.

Cílem teoretické části diplomové práce bylo zpracovat literární rešerši zaměřenou na složení a mikrobiotu velbloudího mléka a mikrobiální kultury používané na výrobu fermentovaných mlék z kravského mléka.

Cílem praktické části diplomové práce bylo provést inokulaci kravského mléka mikroorganismy izolovanými z mléka velbloudího, sledovat jejich růst pomocí kysacích křivek a během fermentace zároveň sledovat změny složení mléka.

3 Velbloudí mléko

V dnešní době se velbloudi považují za velmi dobrý zdroj mléka a masa. Velbloudí mléko hraje důležitou roli v lidské výživě v horkých a suchých oblastech. Jsou v něm obsaženy všechny nezbytné živiny běžně se nacházející v mléce skotu (Konuspayeva et al., 2009).

3.1 Složení velbloudího mléka

Mléko je základní komplexní výživou pro nově narozené savce v raných fázích rychlého vývoje (Shah, 2000). Složení velbloudího mléka je méně proměnlivé než složení mléka jiných druhů zvířat (např. skotu). Tato variabilita může být ovlivněna různými faktory, např. stupněm laktace, věkem, počtem porodů, zeměpisnou polohou, podmínkami krmení. Obsah jednotlivých složek v mléce také závisí na skutečnosti, zda se jedná o velblouda dvouhrbého (drabaře) či jednohrbého (dromedára). Jak je vidět v Tabulce 1 v mléce dvouhrbého velblouda je průměrně obsaženo 3,96 % bílkovin, 4,50 % laktózy, 5,32 % tuku, 0,83 % popelovin, a 14,52 % sušiny, naproti tomu v mléce jednohrbého se průměrně pohybuje obsah bílkovin okolo 3,27 %, laktózy 4,57 %, tuku 3,52 %, popela 0,78 % a sušiny 12,33 % (Zhao et al., 2015).

Tabulka 1 Složení velbloudího mléka velblouda dvouhrbého a jednohrbého v % g/100g (Zhao et al., 2015)

	Velbloud dvouhrbý	Velbloud jednohrbý
Bílkoviny	3,55-4,45	2,0-4,6
Průměrný obsah	3,96	3,27
Odchylka	0,41	0,65
Laktóza	4,23-4,45	2,56-5,85
Průměrný obsah	4,50	4,57
Odchylka	0,32	0,85
Tuk	4,83-5,71	2,35-5,50
Průměrný obsah	5,32	3,52
Odchylka	0,43	0,74
Popel	0,66-0,94	0,60
Průměrný obsah	0,83	0,78
Odchylka	0,10	0,09
Sušina	14,17-15,4	9,41-15,06
Průměrný obsah	14,52	12,33
Odchylka	0,51	1,51

3.1.1 Proteiny

Celkové množství proteinů ve velbloudím mléce se pohybuje od 2,15 do 4,90 %. Tento podíl závisí především na sezónních podmínkách (nejvyšší obsah bílkovin byl zjištěn v zimních měsících, v prosinci a lednu, naopak nejnižší v srpnu) a také na plemenu velblouda. Proteiny mléka včetně velbloudího lze obecně rozdělit na dvě hlavní složky, na kaseinové a syrovátkové bílkoviny (Al Haj et Al Kanhal, 2010; Konuspayeva et al., 2009).

3.3.1.1 Kaseiny

Hlavními bílkovinami ve velbloudím mléce jsou kaseiny. Jejich množství dosahuje hodnot okolo 1,63–2,76 % celkového složení mléka, což odpovídá asi 52–87 % celkového obsahu proteinů (Konuspayeva et al., 2009; Mehaia et al., 1995). Velbloudí mléko se díky vyššímu obsahu β -kaseinu a α_{s1} -kaseinu podobá mateřskému mléku více, než mléko kravské. Základní složku v celkovém množství kaseinu tvoří s 65 % β -kasein, následovaný s 21 % α_{s1} -kaseinem. Pouze 3,47 % z celkového množství kaseinu velbloudího mléka připadá κ -kaseinu, což je v porovnání s kravským mlékem (13 %) mnohem nižší hodnota (Al Haj et Al Kanhal, 2010).

Během stanovování velikosti kaseinových micel bylo zjištěno, že micely kaseinu velbloudího mléka jsou významně větší než kravského. Jejich maximální hodnoty u velbloudího mléka byly stanoveny v rozmezí mezi 240 až 280 nm, a jejich střední průměr se ukázal až dvakrát větší než u kravského mléka (Zhao et al., 2015).

3.3.1.2 Syrovátkové bílkoviny

Druhou hlavní složkou obsaženou v bílkovinách velbloudího mléka jsou syrovátkové bílkoviny (20 až 25 %). V celkovém složení mléka zauímají tyto bílkoviny 0,63 až 0,68 % (Konuspayeva et al., 2009; Mehaia et al., 1995). Syrovátkové bílkoviny velbloudího mléka jsou tvořeny především α -laktalbuminem a malým množstvím β -laktoglobulinu. Podobné složení bylo zjištěno i u mateřského mléka. Naopak v syrovátkových bílkovinách kravského mléka byl jako hlavní složka nalezen β -laktoglobulin. α -laktalbumin velbloudího mléka se vyznačuje molekulovou hmotností 14,6 kDa a je v něm obsaženo cca 123 zbytků podobných mateřskému mléčnému albuminu. Nicméně mezi dominantní proteiny syrovátkových bílkovin velbloudího mléka se řadí α -laktalbumin a albuminy krevního séra, zatímco syrovátkové proteiny mateřského mléka jsou charakterizovány spíše vyšším obsahem α -laktalbuminu a laktoferinu (Al Haj et Al Kanhal, 2010; El-Agamy et al., 2009). V syrovátkových proteinech velbloudího

mléka se nacházejí i další složky, jako je sérový albumin, laktoferin, imunoglobuliny a peptidoglykany rozeznávající protein PGRP. Laktoferinem z různých mléčných zdrojů je při pH nižším než 3–4 zachycováno železo. Na rozdíl od toho bylo zjištěno, že z laktoferinu velbloudího mléka se při stejném pH železo ztrácí (Konuspayeva et al., 2009).

Syrovátka uvolněná z velbloudího mléka má po koagulaci bílou barvu na rozdíl od zelenkavé barvy syrovátky kravského mléka. Zřejmě je to způsobeno rozptýlením světla ve zvýšené koncentraci malých částic kaseinů a tukových kuliček ve velbloudím mléce, nebo nízkým obsahem riboflavinu (Al Haj et Al Kanhal, 2010, El-Zubeir et Jabreel, 2008; Farah 1993). Po analýze některých vlastností mléka byly zjištěny značné rozdíly mezi velbloudím a kravským mlékem. Například při působení vysokých teplot (až 140 °C) se ukázalo velbloudí mléko méně stabilní než kravské, a to pravděpodobně z důvodu absence či deficitu β -laktoglobulinu a κ -kaseinu (Zhao et al., 2015).

Laleye a další (2008) studovali emulzní vlastnosti velbloudího mléka. Velikost většiny kapiček emulze vytvořené z velbloudí syrovátky byla stanovena při pH 5 větší než 2 μm , naproti tomu kapičky emulze ze syrovátky kravského mléka měly velikost při shodném pH menší než 2 μm a jen zřídka větší než 3 μm .

Ve studii Laleye a dalších (2008) byly sledovány rozdíly v pěnivých vlastnostech velbloudího a kravského mléka. Bylo zjištěno, že syrovátka kravského mléka poskytovala větší objem pěny než syrovátka velbloudího mléka. Díky vyššímu obsahu α -laktalbuminu v syrovátce velbloudího mléka při pH nižším než 5 vzrůstá tepelným ošetřením agregace syrovátkových bílkovin. Na základě toho byla zjištěna vyšší citlivost na kyselé prostředí u syrovátkových bílkovin velbloudího mléka oproti syrovátkovým bílkovinám kravského mléka.

V neposlední řadě byla studována i enzymatická stravitelnost α -laktalbuminu velbloudího mléka. Vyšší stupeň hydrolýzy velbloudího α -laktalbuminu oproti kravskému byl prokázán u enzymu trypsinu a chymotrypsinu, ale citlivost na enzym pepsin se ukázala u obou proteinů podobná (Al Haj et Al Kanhal, 2010).

3.3.1.3 Celkové a volné aminokyseliny

Výchozí mléčné bílkoviny jsou po určité době štěpeny proteolytickými enzymy, čímž dochází ke zvýšení obsahu volných aminokyselin. Z bílkovinných hydrolyzátů velbloudího mléka bylo stanoveno celkem 18 aminokyselin. I přes to, že hlavní zjištěnou aminokyselinou velbloudího mléka byla neesenciální glutamová kyselina, skladba celkových a volných

aminokyselin obsahovala všechny esenciální aminokyseliny, jako je valin, methionin, izoleucin, leucin, lysin, fenylalanin, histidin a arginin (Saitmuratova et al., 2015, Zhao et al., 2015).

Celkový obsah aminokyselin ve velbloudím mléce byl zjištěn nižší než v mléce kravském. Hladina glutamové kyseliny ve velbloudím mléce dosahovala velmi podobných hodnot jako v kravském, ovčím a kozím mléce v rozmezí 21,27-22,26 g/100g proteinu. Ve velbloudím mléce bylo rozpoznáno nižší množství lysinu než u kravského a kozího mléka, a sice 7,65-7,81 g/100g proteinu. Obsah histidinu byl ve velbloudím mléce stanoven v rozmezí hodnot 2,64-2,75 g/100g proteinu, obsah argininu v hodnotách 3,99-4,35 g/100g proteinu, prolinu 7,62-9,59 g/100g proteinu a alaninu 2,35-2,68 g/100g proteinu. Hladina methioninu byla shledána vyšší ve velbloudím mléce oproti obsahu v kravském a mateřském mléce, a hladina cystinu zjištěná ve velbloudím mléce byla podobná obsahu v mateřském mléce. Ukázalo se, že denním příjmem 0,5 l velbloudího mléka by se splnila potřeba aminokyselin pro dospělého člověka (Zhao et al., 2015).

3.1.2 Tuky

Ve velbloudím mléce je obsaženo 1,2 až 6,4 % tuku, přičemž s nedostatečným příjmem vody se jeho množství snižuje až na 1,1 %. V porovnání s mlékem skotu je mléčný tuk velblouda tvořen menším množstvím mastných kyselin s krátkým řetězcem a vyšším množstvím mastných kyselin s dlouhým řetězcem (Konuspayeva et al., 2009). Dle Konuspayeva a dalších (2008) byl stanoven vyšší obsah esenciálních nenasycených mastných kyselin u velbloudího mléka než u mléka skotu. Množství nasycených mastných kyselin bylo naopak zjištěno lehce nižší v tuku velbloudího mléka (67,7 %) než v tuku mléka skotu (69,9 %).

Průměrný obsah cholesterolu v tuku velbloudího mléka se pohybuje okolo 34,5 mg/100 g, což je hodnota vyšší než u kravského mléka, kde množství cholesterolu v tuku průměrně odpovídá 25,63 mg/100 g (Al Haj et Al Kanhal, 2010; Konuspayeva et al., 2008).

Teplota tání a tuhnutí (Tabulka 2) byla shledána podstatně vyšší u tuku velbloudího mléka než u tuku mléka skotu (Al Haj et Al Kanhal, 2010; Konuspayeva et al., 2009). Pravděpodobně proto, že ve velbloudím mléce bývají tukové kapénky pevně vázány na bílkoviny, může docházet k určitým potížím při extrakci tuku z mléka za použití tradičních metod pro výrobu např. kysaných mléčných produktů (Al Haj et Al Kanhal, 2010).

Tabulka 2 Teplota tání a tuhnutí tuku mléka velbloudího a mléka skotu °C (Al Haj et Al Kanhal, 2010; Konuspayeva et al., 2009).

Typ tuku	Teplota tání °C	Teplota tuhnutí °C
Tuk velbloudího mléka	41,9±0,9	30,5±2,2
Tuk mléka skotu	32,6±1,5	22,8±1,6

3.1.3 Laktóza

Množství laktózy ve velbloudím mléce se obvykle pohybuje od 2,40 do 5,80 %, průměrně 4,4±0,7 % (Konuspayeva et al., 2009). Široký rozptyl hodnot laktózy může být zřejmě způsoben typem konzumovaných pouštních rostlin. Pro uspokojení fyziologických požadavků velblouda na sůl jsou preferovány halofilní rostliny, jako je např. lebeda (*Atriplex*) nebo akácie (*Acacia*). Proto je často velbloudí mléko označováno jako sladké, slané nebo hořké. Naproti tomu bylo zjištěno, že laktóza je jedinou složkou, která není ovlivňována výkyvy počasí během sezóny (Al Haj et Al Kanhal, 2010).

3.1.4 Minerální látky

Minerální látky se ve velbloudím mléce obvykle vyjadřují jako celkový popel, jehož množství se pohybuje od 0,6 do 0,9 %, průměrně okolo 0,79±0,7 % (Konuspayeva et al., 2009). Ve velbloudím mléce je obsaženo větší množství minerálních látek než v mléce kravském, a to především proto, že se velbloudi v pouštích živí hlavně tvrdšími a trnitými rostlinami s vyšším množstvím minerálních látek. Variabilita v obsahu minerálií v různých vzorcích mléka je přisuzována plemenné příslušnosti, krmivu, příjmu vody nebo způsobu analytického stanovení (Al Haj et Al Kanhal, 2010; Mehaia et al., 1995).

Al Haj a Al Kanhal (2010) stanovili průměrné hodnoty jednotlivých minerálních látek následovně: vápník 13 mg/100 g, draslík 156,8 mg/100 g, sodík 59,16 mg/100 g, hořčík 1,8 mg/100 g, železo 0,29 mg/100 g, mangan 0,05 mg/100 g a zinek 0,53 mg/100 g.

Průměrné množství železa ve velbloudím mléce bylo stanoveno na 0,29 mg / 100 g. Jeho obsah bývá ovlivněn především krmivem. Kvůli nedostatku železa v kravském mléce by mohlo docházet k hypochromní anémii u kojenců, pokud by byli krmeni výlučně tímto mlékem. Toto onemocnění nebylo u dětí konzumujících velbloudí mléko pozorováno, a to proto, že ve velbloudím mléce je obsaženo až 10krát více železa než v mléce kravském (Al Haj et Al Kanhal, 2010).

3.1.5 Vitaminy

Ve velbloudím mléce jsou obsaženy vitaminy C, A, E, D a B. Velbloudí mléko představuje bohatý zdroj vitamínu C, jehož obsah byl stanoven 3krát až 5krát vyšší než u mléka skotu. Průměrný obsah vitamínu C byl stanoven 34,16 mg/l. Syrové i fermentované velbloudí mléko by mohlo být dobrým zdrojem vitamínu C pro obyvatele pouštních oblastí, kde je nedostatek zeleniny a ovoce. V porovnání s kravským mlékem bylo zjištěno, že ve velbloudím mléce je obsažena vyšší koncentrace niacinu (vitamínu B3), pantothenové kyseliny, listové kyseliny a kobalamínu (vitamínu B12), naopak byly stanoveny nižší koncentrace vitamínu A a riboflavinu (vitamínu B2). Hladiny koncentrace thiaminu (vitamínu B1) a pyridoxinu (vitamínu B6) byly u obou druhů mlék srovnatelné (Al Haj et Al Kanhal, 2010; Zhao et al., 2015).

3.2 Vlastnosti velbloudího mléka

Velbloudí mléko se vyznačuje neprůhlednou a bílou barvou. Má sladkou až ostrou chuť, někdy se objevují i mléka se slanou chutí, která se vytvoří, pokud velbloud zkonsumuje určité typy pouštních rostlin (např. lebeda *Atriplex*). Změny chuti bývají způsobeny zejména druhem krmiva a dostupností pitné vody. Pro velbloudí mléko je charakteristická také pěnivost po mírném třepání (Al Haj et Al Kanhal, 2010).

Průměrná hustota velbloudího mléka se pohybuje okolo 1,029 g/cm³. Dle Laleye a dalších (2008) bylo zjištěno, že velbloudí mléko je méně viskózní než mléko skotu. Viskozita velbloudího mléka byla určena při teplotě 20 °C na hodnotu 1,72 mPa/s, zatímco viskozita mléka skotu za stejných podmínek a se stejným obsahem sušiny až okolo 2,04 mPa/s (Al Haj et Al Kanhal, 2010).

Hodnota pH čerstvého velbloudího mléka se pohybuje okolo 6,5 až 6,7 podobně jako u ovčího mléka a je mírně nižší než u mléka skotu (Zhao et al., 2015). Pufrační kapacita je u velbloudího mléka nižší než u kravského. Dle El-Agamy (1983) byl maximální index pufrační kapacity velbloudího mléka zjištěn při hodnotě pH 5,2 mezi 0,060 a 0,062, což je dle Mehaia (1974) při stejném pH vyšší hodnota než u mléka skotu (0,034), buvoly (0,043), ovce (0,049) a kozy (0,042). Protože má velbloudí mléko vyšší index pufrační schopnosti, představuje potenciálně léčebné účinky pro pacienty s žaludečními vředy (Zhao et al., 2015).

3.2.1 Přínos velbloudího mléka pro zdraví člověka

Koronární srdeční onemocnění patří mezi hlavní příčiny úmrtí v průmyslově vyspělých zemích. Za základní rizikový faktor koronárních srdečních onemocnění se považuje zvýšená hladina cholesterolu v krvi a potravě (Al Haj et Al Kanhal, 2010). Elayan a další (2008) v *in vivo* studii prováděné na potkanech zjistili hypocholesterolemický účinek velbloudího mléka fermentovaného bakteriemi *Bifidobacterium lactis* (Bb-12). Nyní ještě není zcela objasněno, jakým způsobem je hladina cholesterolu u lidí ovlivňována velbloudím mlékem, přesto na dané téma byly již navrženy různé hypotézy. Mezi jednu z nich patří interakce mezi cholesterolem a bioaktivními peptidy z bílkovin velbloudího mléka (Al Haj et Al Kanhal, 2010, Li et Papadopoulos, 1998). Bioaktivní peptidy získané z velbloudího mléka se, kromě snižování hladiny cholesterolu, vyznačují antioxidační a antimikrobiální aktivitou a mají také vliv na snížení vysokého krevního tlaku (Mati et al., 2017).

V Indii byla prokázána nízká prevalence diabetu díky vysoké spotřebě velbloudího mléka (Al Haj et Al Kanhal, 2010; Singh et al., 2008). Agrawal a další (2003) zjistili, že vyšší konzumace velbloudího mléka by mohla poskytnout efektivní léčbu pacientů s diabetem typu I. Účinnost této léčby může být způsobena dle autorů různými faktory, jako je například přítomnost velbloudího mléčného proteinu s vlastnostmi podobnými inzulinu nebo nedostatečná koagulace velbloudího mléka v lidském žaludku. Perorální podávání inzulinu se užívá k léčbě diabetu již mnoho let, nevýhodou však zůstává, že v kyselém prostředí žaludku dochází k jeho koagulaci, a tím ke snížení jeho účinnosti. Oproti tomu nedostatečná tvorba sraženiny proteinů velbloudího mléka v kyselém prostředí žaludku by mohla působit jako obranný prostředek pro udržení proteinu s vlastnostmi podobnými inzulinu v téměř nezměněném stavu a zprostředkovávat tak jeho vstřebávání v tenkém střevě (Agrawal et al., 2003; Beg et al., 1986).

Velbloudí mléko se vyznačuje antimikrobiálním účinkem proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím, včetně *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* a *Salomonella typhimurium*. Tato inhibiční aktivita je přisuzována přítomnosti antimikrobiálních látek ve velbloudím mléce, nevyjímaje lysozym, peroxid vodíku, laktoferin, laktoperoxidázu a imunoglobuliny. Avšak po tepelném ošetření při teplotě 100 °C po dobu 30 minut se aktivita antimikrobiálních látek velbloudího mléka zcela ztrácí. Inhibiční účinek velbloudího mléka vůči *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* se připisuje aktivitě laktoperoxidázy, peroxidu vodíku a lysozymu. Růst *Salomonella typhimurium* byl inhibován laktoferinem ve velbloudím mléce za pomoci vazby železa (Al Haj

et Al Kanhal, 2010; El-Agamy, 2000; Ochoa et Cleary, 2009). Ve velbloudím mléce bylo zjištěno vyšší množství lysozymu, laktoferinu a imunoglobulinů než v kravském mléce. Tato vlastnost se však ukázala nevýhodná při výrobě jogurtu. Růst jogurtových kultur byl totiž zpomalován vyšší přítomností lysozymu prodlužujícího proces koagulace (Al Haj et Al Kanhal, 2010, Benkerroum, 2008, El-Agamy, 2000).

3.3 Mikrobiologický profil syrového velbloudího mléka

Mikrobiologický profil syrového velbloudího mléka se skládá jak z mikroorganismů s příznivými účinky pro lidský organismus, tak i patogenní mikrobioty. Mikrobiologické složení velbloudího mléka je významně ovlivňováno sezónním faktorem (v letní sezóně byly zjištěny vyšší počty mikroorganismů než v zimě). Celkové počty mikroorganismů se ve velbloudím mléce pohybují v rozmezí $5,6 \times 10^3$ až $1,8 \times 10^9$ KTJ/ml (Ismaili et al., 2016).

3.3.1 Mikroorganismy izolované z velbloudího mléka

Ve velbloudím mléce je obsažena široká škála mikroorganismů. Lze z něj izolovat jednak bakterie mléčného kvašení s vysokým probiotickým potenciálem a kvasinky, ale také patogenní mikroorganismy s negativním účinkem na lidský organismus (Abushelaibi, et al., 2017).

3.3.1.1 Bakterie mléčného kvašení izolované z velbloudího mléka

Bakterie mléčného kvašení (BMK) se řadí mezi grampozitivní a katláza negativní mikroorganismy se schopností metabolizovat sacharidy homofermentativní či heterofermentativní cestou na kyselinu mléčnou. BMK jsou všudypřítomné a původně izolované z rostlin, zvířat, lidských horních cest dýchacích a gastrointestinálního traktu (Fujimoto et al., 2008; Zeller-Péronnet et al., 2013). BMK jsou nepostradatelnou součástí potravinářského průmyslu, kde se jich využívá v moderních biotechnologiích jako výchozích kultur pro fermentované výrobky. Zároveň BMK jako probiotika mohou představovat zdravotní přínos pro lidský organismus (Abushelaibi, et al., 2017). Dle FAO/WHO (2002) jsou probiotika definována jako „živé mikroorganismy, které po použití přiměřeného množství poskytují hostiteli zdravotní výhody“. Probiotické mikroorganismy se vyznačují schopností zabraňovat nebo zmírňovat příznaky zánětlivého střevního onemocnění, syndromu dráždivého tračníku, zácpy, akutních průjmů, hypertenze a diabetu. Potravinové produkty s obsahem probiotik, často také nazývané jako funkční potraviny, jsou typické svými terapeutickými účinky na lidský

organismus. Jedná se například o antihypertenzi, protinádorové a hypoglykemické vlastnosti, antioxidační a imunomodulační účinky (Abushelaibi et al., 2017).

Ve studii Khedid a dalších (2009) bylo nalezeno několik rodů bakterií mléčného kvašení (laktokoky, *Leuconostoc*, streptokoky, enterokoky, pediokoky, laktobacily).

Celkový rozsah laktokoků byl stanoven na $8,2 \times 10^4$ až $4,2 \times 10^8$ KTJ/ml, s průměrnou hodnotou $4,2 \times 10^7$ KTJ/ml (Ismalii et al., 2016). Ze vzorku velbloudího mléka byly izolovány následující druhy: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* biovar. *diacetylactis*, *Lactococcus garviae*, *Lactococcus raffinolactis*. Nejčastěji izolovaným druhem z velbloudího mléka byl *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Díky jeho vysokému podílu v mléce by mohl být použit jako výchozí kultura pro výrobu sýra s dobrou kvalitou, protože *L. lactis* subsp. *lactis* je schopen produkovat kyseliny z kaseinu. Tyto aminokyseliny jsou klíčovým prekurzorem nepostradatelné příchuti sýrů (Khedid et al., 2009). Rod *Lactococcus lactis* se řadí mezi grampozitivní bakterie, které jsou běžnou součástí mlékárenských startérových kultur. Jedná se především o mezofilní mikroorganismy, kde optimální teplota růstu byla stanovena na 30 °C, přičemž pokud byla teplota zvýšena na 42 °C, došlo k zastavení růstu buněk těchto bakterií. Odolnost rodu *Lactococcus lactis* vůči stresovým podmínkám, kam se řadí teplota či koncentrace solí, je závislá na druhu. Druh *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* se obecně vyznačuje vyšší odolností vůči mrazu, vyšším koncentracím žluči a kyselinám oproti *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (Sanders et al., 1999). Pro *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* a *Lactococcus lactis* biovar. *diacetylactis* je charakteristická vysoká tolerance vůči solím. Tato vlastnost je důležitá pro výrobu některých mléčných výrobků, které vyžadují vysoké koncentrace solí (Khedid et al., 2009).

Dále byl ve velbloudím mléce nalezen rod koků *Leuconostoc*, konkrétně druh *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, *Leuconostoc lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*. Druh *Leuconostoc lactis* je charakteristický schopností využít citrát, fermentovat laktózu, sacharózu, ale ne trehalózu (Khedid et al., 2009). Rod *Leuconostoc* se řadí mezi aerobní, heterofermentativní a mezofilní (optimální teplota růstu 21–28 °C) koky, které jsou součástí startérových kultur užívaných v mlékárenském průmyslu pro výrobu fermentovaných mléčných výrobků (Kot et al., 2014). Rod *Leuconostoc* ne vždy produkuje dostatečné množství kyselin pro koagulaci mléka. Nicméně druhy *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* a *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* mají zásadní význam v produkci mléčných výrobků, jako je máslo a sýr, kde produkují typické chuťové látky jako je diacetyl (Khedid

et al., 2009). Ve velbloudím mléce byl také nalezen druh *Leuconostoc pseudomesenteriodes*, který je často spojován spíše s fermentací siláže (Zeller-Péronnet et al., 2013).

Z rodu streptokoků byly izolovány z velbloudího mléka následující termofilní druhy: *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Streptococcus infantarius*, *Streptococcus lutetiensis* (Fugl et al., 2017; Khedid et al., 2009). *S. salivarius* subsp. *thermophilus* se pro schopnost produkovat kyseliny z glukózy, sacharózy, laktózy a galaktózy řadí mezi bakterie mléčného kvašení (Khedid et al., 2009). *S. infantarius* a *S. lutetiensis* jsou mikroorganismy běžně izolovatelné z gastrointestinálního traktu lidí a zvířat (Jans et al., 2016). Tyto bakterie mléčného kvašení se využívají pro tradiční fermentaci potravin. I přes to, že některé studie ukazují na jejich patogenitu, jsou spojovány například s infekční endokarditidou, s infekcemi žlučových a močových cest a průjmovým onemocněním (Fugl et al., 2017).

Enterokoky se řadí mezi typické homofermentativní bakterie mléčného kvašení se schopností fermentovat sacharidy na mléčnou kyselinu. Ve velbloudím mléce byli nalezeni dva zástupci *Enterococcus casseliflavus* a *Enterococcus faecalis*. Rod *Enterococcus* je známý pro svou produkci enterocinu, který vykazuje různé specifické inhibiční aktivity proti patogenním bakteriím. *Enterococcus faecalis* se vyznačuje produkcí antilisteriálních bakteriocinů v mléce a sýru. Enterokoky se v mléčných výrobcích vyskytují buď jako kontaminace z prostředí nebo jako přírodní startérová kultura přispívající k rozvoji organoleptických vlastností zrajícího sýra. Díky jejich intenzivní proteolytické aktivitě je enterokoky také vykazován příznivý účinek na růst dalších bakterií mléčného kvašení (Khedid et al., 2009).

V neposlední řadě byly ve velbloudím mléce zjištěny koky rodu *Pediococcus*, konkrétně druhy *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus damnosus* a *Pediococcus pentosaceus* (Khedid et al., 2009). Pediokoky se řadí do grampozitivních, vůči solím tolerantních a homofermentativních koků. Tyto mikroorganismy jsou často užívány jako startérové kultury produkující kyseliny při výrobě fermentovaných klobás či okurek, dále v produkci fermentovaných výrobků z mléka, sójového mléka či siláže (Balakrishnan et Agrawal, 2014). Rod *Pediococcus pentosaceus* má význam v biokonzervaci potravin. Jeho optimální teplota růstu byla stanovena v rozmezí 20-30°C (Shori, 2017). Vyznačuje se schopností tvořit pediociny, které jsou účinné proti patogenním mikroorganismům, mezi které se řadí *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*. Pro rod *Pediococcus pentosaceus* je také charakteristická schopnost fermentovat různé typy

sacharidů, jako je glukóza, galaktóza, maltóza a laktóza (Balakrishnan et Agrawal, 2014). Tento rod se dále vyznačuje také schopností metabolizovat citrát a malát na acetoin (produkt kondenzace dvou molekul acetaldehydu) a diacetyl. Tyto metabolity pak mají významný vliv na konečnou chuť fermentovaného mléčného výrobku (Papagianni et Anastasiadou, 2009). Ve studii zabývající se funkčními vlastnostmi *Pediococcus pentosaceus* v různých druzích fermentovaného mléka byla zjištěna vyšší antioxidační aktivita a profil mastných kyselin u velbloudího a kozího mléka oproti kravskému (Balakrishnan et Agrawal, 2014).

Další bakterie mléčného kvašení izolované z velbloudího mléka byly laktobacily, jmenovitě druhy *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrüeckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus delbrüeckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus amylophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* (Khedid et al., 2009). Průměrné množství zjištěné ve velbloudím mléce bylo $3,55 \times 10^7$ KTJ/ml (Ismaili et al., 2016). Rod *Lactobacillus helveticus* se řadí do termofilních homofermentativních typů laktobacilů se schopností fermentovat glukózu, laktózu, galaktózu, maltózu, manózu, trehalózu. Díky jeho dobré schopnosti aktivně růst v mléce je velmi důležitý při výrobě fermentovaných mléčných výrobků a sýrů. Druh *Lactobacillus casei* subsp. *casei* patří do mezofilních fakultativně homofermentativních laktobacilů se schopností zkvašovat maltózu a melibiózu. Obvykle se ve společnosti *Lactobacillus plantarum* a *Lactobacillus rhamnosus* vyskytuje v sýrech, kde se využívá jako přídavná výchozí kultura pro urychlení dozrávání sýrů a pro produkci požadovaných příchutí (Khedid et al., 2009). Proteolýza hraje klíčovou roli při tvorbě chuti a změny textury fermentovaných mléčných výrobků a zároveň může snižovat alergii na mléko. Nejlepší proteolytická aktivita byla zjištěna u druhu *Lactobacillus plantarum*, pro nějž byla stanovena teplota růstu v rozmezí 30-37°C (Belkheir et al., 2017; Shori, 2017). Z termofilních laktobacilů byl získán z velbloudího mléka *Lactobacillus delbrüeckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus delbrüeckii* subsp. *delbrüeckii*, *Lactobacillus delbrüeckii* subsp. *bulgaricus* a *Lactobacillus amylophilus*. Tyto bakterie mléčného kvašení se využívají především jako startérové kultury pro produkci fermentovaných mléčných výrobků, a to především díky jejich schopnosti produkovat v mléce velké množství kyselin, syntetizovat vitaminy a aromatické látky, tvořit listovou kyselinu a ovlivňovat reologické vlastnosti fermentovaných mléčných produktů (Khedid et al., 2009). Dále byl ve velbloudím mléce nalezen probiotický druh *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, který je během fermentace schopen produkovat antimikrobiální látky s vysokou tolerancí vůči vysokým teplotám

a odolností vůči trávicím enzymům. Díky těmto antimikrobiálním látkám funguje proti širokému spektru patogenů a mikroorganismů způsobující zkázu potravin (Miao et al., 2015).

V neposlední řadě byly ve velbloudím mléce zjištěny bifidobakterie, konkrétně druhy *Bifidobacterium mongolionense* a *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum*. Bifidobakterie patří mezi grampozitivní, anaerobní, nepohyblivé a nesporotvorné mikroorganismy běžně přítomné v gastrointestinálním traktu lidí a zvířat (Sangrador-Vegas et al., 2007). Bifidobakterie jsou prospěšné pro zdraví lidského organismu, mezi jejich základní benefity patří stimulace imunitního systému, ochrana před patogenními mikroorganismy, produkce energie ze sacharidů a produkce vitaminů (Tacconi et al., 2012). *Bifidobacterium mongolionense* jsou fakultativně anaerobní, nepohyblivé, kataláza- a oxidáza negativní tyčinky. Watanabe a další (2009) ve své studii zjistili, že tyto bakterie jsou schopné růst při teplotě 15–35 °C a jejich optimální teplota byla stanovena na 30 °C. Tyto bifidobakterie jsou schopné produkovat kyseliny z arabinózy, glukózy, galaktózy, maltózy, laktózy, melibiózy, rafinózy, škrobu, glykogenu, turanózy a sacharózy. *B. mongolionense* byla nalezena kromě velbloudího mléka také v mléce kobylic a využívá se při výrobě tradičních fermentovaných výrobků z kobylicího mléka (Watanabe et al., 2009). Další bifidobakterií získanou z velbloudího mléka byla *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum*. Tyto anaerobní bakterie se běžně nachází ve střevech prasat, skotu, kuřat, potkanů, klokanů. Jejich optimální teplota růstu byla stanovena na hodnotu 37 °C (Sangrador-Vegas et al., 2007; Tacconi et al., 2012).

Další bakterie mléčného kvašení nalezené ve velbloudím mléce byly bakterie rodu *Weissella* sp., konkrétně druh *Weissella confusa* (Fugl et al., 2017). *Weissella confusa* se řadí do mezofilních mikroorganismů, její optimální teplotní rozsah byl stanoven na 30–35 °C (Shukla et al., 2014; Shukla et Goyal, 2011). Bezpečnost tohoto mikroorganismu není ještě kompletně objasněná tak, aby mohl být využíván jako startérová kultura v mlékárenském průmyslu. I přesto některé studie ukazují, že *Weissella confusa* by mohla být slibným kandidátem pro užití v produkci fermentovaných mléčných produktů (Fugl et al., 2017).

3.3.1.2 Kvasinky nalezené ve velbloudím mléce

Vysoké počty kvasinek a plísní v mléce jsou poměrně neobvyklé, neboť v něm dominují především bakterie, a to hlavně kvůli jeho přirozenému pH. Průměrné množství kvasinek a plísní ve velbloudím mléce bylo stanoveno v rozmezí $1,7 \times 10^2$ až 3×10^7 KTJ/ml (Ismaili et al., 2016). Z velbloudího mléka byly izolovány kvasinky *Kluyveromyces marxianus*, *Issatchenkia orientalis*, *Candida krusei*, *Geotrichum penicillatum*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Kazachstania*

unispora a *Candida ethanolica*, které mají významnou roli ve fermentaci velbloudího mléka při výrobě tradičních fermentovaných výrobků, kam se řadí Gariss, Suusac a Shubat (Rahman et al., 2009).

3.3.1.3 Patogenní mikrobiota velbloudího mléka

Mikrobiální čistota syrového velbloudího mléka je ovlivňována především prostředím. Na kvalitu působí hlavně silný vítr, prach a nedostatek vody. Hygienické podmínky ručního dojení na otevřeném vzduchu bývají často velmi omezené, většina pastevců si kvůli nedostatečnému přísunu vody nemyje ruce ani neomývá vemeno před dojením. Velbloudí mléko bývá po nadojení skladováno a přepravováno v plastových nádobách za teploty okolního prostředí. Jako největší problém s hygienou byl tedy řadou autorů identifikován nedostatek vody a chladicích zařízení (Ismaili et al., 2016; Matofari et al., 2013; Odongo et al., 2016).

Z patogenních mikroorganismů byl z velbloudího mléka identifikován *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Salomella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp. a sporotvorné aerobní bakterie rodu *Bacillus* spp. (Ismaili et al., 2016; Ziane et al., 2016).

Pro identifikaci *Staphylococcus aureus* byla provedena zkouška nukleázy. Jeho průměrný obsah byl stanoven ve výši $2,32 \times 10^5$ KTJ/ml. *Staphylococcus aureus* je hlavní příčinou gastroenteritidy vznikající z konzumace kontaminovaných potravin (Ismaili et al., 2016; Loir et al., 2003).

Ismaili a další (2016) provedli na vzorcích velbloudího mléka sérologické testy, ve kterých byla zjištěna přítomnost dvou sérotypů salmonel (*Salmonella typhimurium* a *Salmonella enteritidis*). Za špatných hygienických podmínek prostředí se mohou salmonely dostat do syrového velbloudího mléka a způsobovat tak zdravotní problémy, jakým je například gastroenteritida.

Dále byly ve velbloudím mléce nalezeny aerobní sporotvorné bakterie, jmenovitě druhy *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus sonorensis*, *Bacillus pumilus* a *Geobacillus stearothermophilus*. Výzkum pro identifikaci těchto bakterií bývá prováděn především pro zhodnocení hygienických podmínek produkce velbloudího mléka. Tyto druhy sporotvorných bakterií jsou známé zejména pro jejich schopnost produkovat enzymy, jako je amyláza, proteáza a lipáza. Produkce těchto enzymů může způsobovat zkázu mléka, a to zvláště pokud je skladováno při pokojové teplotě. Avšak tyto vyprodukované enzymy díky jejich tepelné odolnosti mohou být využity v moderních biotechnologiích (Ziane et al., 2016). *Bacillus cereus* může rovněž způsobit vypuknutí mastitidy u velblouda a podílet se na vzniku

alimentárních onemocnění (Logan, 2011). Tato sporotvorná aerobní bakterie produkuje dva toxiny, termostabilní emetický toxin cereulid a termolabilní průjmový toxin, který zapříčiňuje otravy z potravin (Guinebretière et al., 2010). Navíc bylo zjištěno, že přítomnost bakterií *Bacillus cereus* nemusí navodit zhoršení kvality mléka, ani pokud se vyskytuje v toxické hladině (Ziane et al., 2016).

3.4 Fermentované mléčné výrobky bakteriemi velbloudího mléka

Obecně platí, že fermentované mléčné výrobky jsou oproti čerstvému syrovému mléku pro lidský organismus výživnější a zároveň stravitelnější. Základem pro výrobu tradičních fermentovaných mléčných výrobků je proces, při kterém dochází k přeměně sacharidů na mléčnou kyselinu za pomoci mikroorganismů přítomných v mléce. Tyto mikroorganismy se vyznačují schopností produkovat do výrobku určité metabolity a enzymy, jimiž se zvyšuje výživová hodnota produktu, zvyšuje se odolnost vůči mikrobiálnímu znehodnocení a odolnost vůči toxinům. Některé druhy těchto mikroorganismů mohou být probiotického charakteru a mohou tak dávat fermentovanému mléčnému produktu přidanou hodnotu (Shori, 2012).

Výroba tradičních fermentovaných výrobků z velbloudího mléka je založena na přirozené fermentaci předem tepelně neošetřeného velbloudího mléka bez přidání startérových kultur. Tímto způsobem je například v Súdánu a Somálsku vyráběn produkt známý jako „Gariss“, nebo pro východní Afriku typický „Suusac“, či turecký „Shubat“. Mikrobiologický profil fermentovaných mléčných produktů z velbloudího mléka je ovlivňován způsobem zpracování a geografickou lokalitou výroby. Avšak bylo zjištěno, že průměrně nejvyšší zastoupení v nich mají druhy mikroorganismů *Lactobacillus* spp. a *Streptococcus* spp. (Shori, 2012).

3.4.1 Jogurt vyrobený ze směsi velbloudího a ovčího mléka

Velbloudí mléko je považováno za potravinu s dobrou výživovou hodnotou, zvláště pokud je konzumováno ve formě fermentovaného produktu, jako například jogurtu. Často je však popisováno jako substance, jejíž zpracování do podoby jogurtu není snadné. Mnohdy totiž nejsou splněny požadavky spotřebitele na sensorickou kvalitu produktu (Ibrahim et El Zubeir, 2016). Mezi důležitá kritéria spotřebitele pro posouzení kvality velbloudího jogurtu se řadí kromě chutí především texturní vlastnosti, zejména pak konzistence a viskozita v dutině ústní. Ne vždy jsou tyto dva atributy velbloudího jogurtu hodnoceny pozitivně. V porovnání s tím, byl například určen ovčí jogurt za sensoricky atraktivnější, texturně

přijatelnější a byla u něj zaznamenána příjemná smetanově-kyselá chuť (Abdel Rahman et al, 2009; Ibrahim et El Zubeir, 2016).

Na základě výše uvedeného byla provedena studie, jejímž cílem bylo zlepšit vlastnosti jogurtu z velbloudího mléka. Vzorčky jogurtu byly vyrobeny ze směsi velbloudího a ovčího mléka v různém poměru a následně byly pasterovány při teplotě 63 °C. Po ochlazení byly do nich přidány startérové kultury. Inkubace probíhala v plastových kelímcích při teplotě 43 °C až do vzniku sraženiny. Koagulace byla pozorována vizuálně spolu s titrační analýzou (Ibrahim et El Zubeir, 2016).

Jak ukázaly výsledky této studie, pro fermentaci vzorků jogurtu vyrobených ze směsi ovčího a velbloudího mléka byl potřeba kratší koagulační čas než pro fermentaci čistě velbloudího jogurtu. Po skončení koagulace byla u vzorků jogurtu z velbloudího mléka zjištěna tekutější konzistence oproti jogurtu ze směsi velbloudího a ovčího mléka. Dále zde byl pozorován nárůst mléčné kyseliny. Ukázalo se, že po 5 hodinách inkubace byl u vzorků jogurtu ze směsi mléka zaznamenán vyšší obsah mléčné kyseliny (Ibrahim et El Zubeir, 2016).

Během sensorické analýzy vzorků jogurtu v této studii byly hodnoceny různé atributy, a sice barva, chuť, texturní vlastnosti a celková přijatelnost. Podle hodnotitelů se u vzorků jogurtu neprojeví téměř žádné barevné rozdíly. Naopak při hodnocení chuti a texturních vlastností bylo zaznamenáno vyšší hodnocení pro vzorky jogurtu, které byly vyrobeny ze směsi velbloudího a ovčího mléka. Celková přijatelnost byla také ovlivněna přidávkem ovčího mléka, u vzorků jogurtu z čistě velbloudího mléka se totiž zjistilo mnohem nižší hodnocení pro celkovou přijatelnost, a to především kvůli jejich vodnaté struktuře (Ibrahim et El Zubeir, 2016).

Z výsledků této studie vyplynulo, že přidáním ovčího mléka do velbloudího by se zlepšila kvalita a celková přijatelnost fermentovaných výrobků z velbloudího mléka. Touto skutečností by se umožnilo produkovat a uvádět na trh další kvalitní kysané mléčné produkty s příznivými účinky velbloudího mléka na lidské zdraví (Ibrahim et El Zubeir, 2016).

3.4.2 Nízkotučný sýr Akawi vyrobený s bakteriemi z velbloudího mléka

Ve studii Al-Dhaheri a dalších (2017) se zabývali potencionálními účinky nízkotučného sýra Akawi s obsahem *Lactobacillus plantarum* izolovaným z velbloudího mléka na zdraví lidského organismu. Sýr Akawi s nízkým obsahem tuku je vyráběn a konzumován především lidmi z oblasti severní Afriky a Středního Východu. Sýr Akawi je zde používán především

jako hlavní přísada pro přípravu různých druhů sladkostí, jako například Kunafah (Ayyash et al., 2012).

Lactobacillus plantarum se řadí, jak již bylo uvedeno výše, mezi bakterie mléčného kvašení, které se využívají na výrobu fermentovaných mléčných produktů. Díky jejich proteolytické, lipolytické a glykolytické aktivitě je ovlivněna struktura, mikrostruktura a příchut' produktu a zároveň tak ve fermentovaných mléčných produktech mohou vznikat určité výživné a zdravotní přínosy (Ruas-Madiedo et al., 2002). Některé bakterie mléčného kvašení včetně *Lactobacillus plantarum* se vyznačují schopností produkovat exopolysacharidy, které mohou mít vliv na různé atributy sýrů, konkrétně účinkují na chemické složení, viskoelastické vlastnosti, smyslové vlastnosti a působí také jako přírodní zahušťovadlo a stabilizátor (Duboc et Mollet, 2001). Současně bylo zjištěno, že exopolysacharidy produkované bakteriemi mléčného kvašení se vyznačují fyziologickými vlastnostmi s příznivými vlivy na zdraví lidského organismu, včetně protinádorových, imuno-modulačních a prebiotických účinků (Caggianiello et al., 2016; Ruas-Madiedo et al., 2002). Ve studii Al-Dhaheri (2017) se také uvádí antioxidační a antiproliferační aktivita exopolysacharidů produkovaných bakteriemi *Lactobacillus plantarum*. Konkrétní zdravotní účinek pro lidský organismus však závisí na typu exopolysacharidu, druhu a kmeni laktobacilů.

Cílem studie Al-Dhaheri a další (2017) bylo prozkoumat potenciální zdravotní přínosy nízkotučného sýru Akawi vyrobeného pomocí probiotických bakterií *Lactobacillus plantarum* izolovaných z velbloudího mléka (CEPS⁺, s produkcí exopolysacharidů), a zároveň je porovnat se zdravotními přínosy stejného typu sýra se dvěma komerčně používanými kulturami „White-Classic“ (EPS⁻ bez produkce exopolysacharidů; *Streptococcus thermophilus*; *Lactobacillus bulgaricus*) a „White Daily“ (MEPS⁺ s produkcí exopolysacharidů, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*). Na výrobu sýru Akawi s nízkým obsahem tuku bylo použito pasterizované homogenizované odstředěné kravské mléko, které bylo nejprve temperováno na teplotu 40 °C, a poté do něj byly přidány bakteriální kultury. Takto připravená směs se nechala zrát po dobu 45 min, a následně byla pomocí chymosinu koagulována (cca 40 min) do tvarohové struktury, která pak byla míchána 20 minut při teplotě 40 °C. Poté byla odčerpána syrovátka a vzniklé tvarohové kostky byly převedeny na plátno a lisovány po dobu 90 min. Takto vytvořené čerstvé sýrové kusy byly nasyceny 10% roztokem solanky. Následně byl sýr vakuově zabalen a skladován při teplotě 4 °C. Vzorky sýru poté byly odebírány 0., 7., 14., a 21. den (Ayyash et al., 2012; Al-Dhaheri et al., 2017).

Stanovení počtu bakterií mléčného kvašení (BMK) bylo u všech vzorků sýru Akawi (EPS⁻, MEPS⁺, CEPS⁺) provedeno 0., 7., 14., a 21. den. Zjistilo se, že počty BMK se významně mezi jednotlivými vzorky nelišily a během 21 dnů skladování neklesly pod 7 log KTJ/g (Al-Dhaheri et al., 2017).

Proteolytická aktivita BMK ve vzorcích sýru Akawi byla sledována pomocí dvou proteolytických parametrů, a to *o*-ftalaldehydu a celkového množství volných aminokyselin. U vzorků sýra s produkcí exopolysacharidů MEPS⁺ a CEPS⁺ byla zjištěna úroveň těchto parametrů vyšší než u vzorků bez produkce exopolysacharidů EPS⁻. Zároveň vzorek sýru CEPS⁺ s bakteriemi izolovanými z velbloudího mléka vykazoval srovnatelnou proteolytickou aktivitu se vzorkem s komerční kulturou MEPS⁺. Proto, jak konstatovali Aldhaheri a další (2017) ve své studii, mohou být bakterie mléčného kvašení izolované z velbloudího mléka využívány na výrobu fermentovaných mléčných výrobků.

Ve studii Al-Dhaheri a další (2017) sledovali kromě proteolytické aktivity také inhibiční účinky kultur všech vzorků sýru vůči lidským enzymům α -amyláze a α -glukosidáze. Tato analýza byla provedena smísením obou enzymů (jednotlivě) s extrakty rozpustnými ve vodě získanými z jednotlivých předem nastrouhaných vzorků sýrů. Během pozorování inhibice α -glukosidázy byl zjištěn po 21 dnech skladování velmi nepatrný vzrůst inhibiční aktivity u všech vzorků (EPS⁻, MEPS⁺, CEPS⁺). Přitom míra inhibičního účinku se mezi jednotlivými vzorky výrazně nelišila. Naopak při pozorování inhibice enzymu α -amylázy se zjistil mnohem vyšší inhibiční účinek u vzorků sýru s obsahem bakterií produkujících exopolysacharidy (MEPS⁺, CEPS⁺). Navíc byla stanovena výrazně vyšší inhibiční aktivita u vzorku sýru s bakteriemi izolovanými z velbloudího mléka CEPS⁺, kde došlo mezi 15. a 21. dnem skladování k prudkému vzrůstu inhibiční aktivity. Protože inhibice α -amylázy a α -glukosidázy se obecně považuje za účinný prostředek pro potlačení diabetu, mohly by být bakterie izolované z velbloudího mléka využity na výrobu fermentovaných mléčných výrobků s antidiabetickými účinky (Al-Dhaheri et al., 2017).

Antioxidační aktivita nízkotučného sýru Akawi byla ve studii Al-Dhaheri a další (2017) měřena pomocí testů DPPH a ABTS. Během testu DPPH byla zkoumána reakce vzorku sýru se stabilním radikálem 1,1-difenyl-2-(2,4,6-trinitrofenyl)hydrazylem (DPPH). Metodou ABTS byla testována schopnost vzorku sýru Akawi zhaset radikál 2,2'-azinobis(3-ethyl-2,3-dihydrobenzothiazol-6-sulfonát) ABTS (Paulová et al., 2004). Antioxidační aktivita sýru Akawi byla sledována opět během 21 dnů skladování. U vzorků sýrů s bakteriemi produkujícími exopolysacharidy (MEPS⁺, CEPS⁺) byla zjištěna vyšší rychlost

zhášení volných radikálů oproti vzorku sýru bez produkce exopolysacharidů (EPS⁻). Zároveň tato antioxidační aktivita byla stanovena u vzorků MEPS⁺ a CEPS⁺ na srovnatelné úrovni. Během 21 dnů skladování se u vzorku sýru s bakteriemi velbloudího mléka zvýšila antioxidační aktivita při testu DPPH o 20 % a během metody ABTS o 60 % (Al-Dhaheri et al., 2017).

ACE neboli angiotensin konvertující enzym se řadí mezi multifunkční ektoenzymy. Fyziologická funkce ACE má význam v renin-angiotensinovém a imunitním systému. Enzym ACE má schopnost konvertovat angiotensin I na silnou vasokonstrikční látku angiotensin II, a tím pak zvyšovat krevní tlak. Proto inhibicí ACE je vyvolán hypotenzní účinek (Al-Dhaheri et al., 2017). ACE inhibiční aktivita neboli inhibice angiotenzin konvertujícího enzymu byla ve studii Al-Dhaheri a další (2017) sledována opět během skladování 21 dnů po smíchání enzymu s extrakty rozpustnými ve vodě získanými ze všech vzorků sýrů. Na základě výsledků této analýzy byla zjištěna vyšší ACE inhibice u vzorků sýrů s obsahem bakterií produkujících exopolysacharidy (MEPS⁺, CEPS⁺). A zároveň u vzorku sýra s obsahem bakterií z velbloudího mléka (CEPS⁺) byla stanovena téměř srovnatelná ACE inhibiční aktivita jako u vzorku MEPS⁺. Bakterie izolované z velbloudího mléka by se tedy na základě výše uvedeného mohly využívat na výrobu fermentovaných mléčných výrobků s antihypertenzními vlastnostmi (Al-Dhaheri et al., 2017; Gobbetti et al., 2004).

Ve studii Al-Dhaheri a další (2017) se tedy ukázalo, že probiotické bakterie izolované z velbloudího mléka, konkrétně *Lactobacillus plantarum*, by mohly být využívány na výrobu fermentovaných mléčných výrobků. A přitom bylo zjištěno, že vzorky s obsahem kultur izolovaných z velbloudího mléka vykazovaly srovnatelné a v některých případech i výraznější vlastnosti podporující zdraví lidského organismu (např. inhibice α -amylázy) oproti vzorkům s obsahem komerčních kultur (Al-Dhaheri et al., 2017).

4 Materiály a metody

4.1 Izoláty mikroorganismů velbloudího mléka I.

Cílem praktické části diplomové práce bylo otestovat schopnost růstu bakterií izolovaných z velbloudího mléka v mléce kravském za účelem výroby mléčného fermentovaného produktu. Velbloudí mléko, z něž byly izolovány bakterie pro tento pokus, bylo získáno ze čtyř různých velbloudích farem z jihozápadní části Sahary, odkud bylo přes Oran dovezeno na Katedru mikrobiologie, výživy a dietetiky na ČZU v Praze. Izolované mikroorganismy z velbloudího mléka byly identifikovány pomocí sekvenace genu pro 16S rRNA na úroveň druhu/poddruhu a poté byly inokulovány do rekonstituovaného odstředěného kravského mléka (Skimmed milk powder od společnosti Bohemilk a.s. – Mlékárna Opočno), které bylo asepticky rozmícháno v povařené vodě. V první části pokusu bylo použito mikroorganismů izolovaných z prvních dvou vzorků velbloudího mléka (Tabulka 3).

Tabulka 3 Mikroorganismy izolované z velbloudího mléka

Vzorek mléka	Číslo vzorku	Izolát	Identifikace sekvenace genu 16S rRNA
Mléko I.	1	CM1/2B	<i>Bifidobacterium mongolionese</i>
	2	MC1/1W/1B	<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> subsp. <i>globosum</i>
	3	CM1/6B	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
	4	CM1/3B	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
	5	MC1/5W	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
Mléko II.	6	MC2/5W	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>
	7	CM2/8R	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
	8	CM2/5R	<i>Lactobacillus plantarum</i>
	9	MC2/2W	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>

4.1.1 Inokulace kravského mléka mikroorganismy velbloudího mléka I.

V první části pokusu byla připravena matrice pro fermentovaný mléčný výrobek. Sušené kravské odstředěné mléko bylo rekonstituováno v povařené vodě v poměru 1:10 (30 g mléka do 300 ml vody) a po 9 ml rozplněno do penicilínek a pasterováno. Do takto

připraveného média byly poté inokulovány mikroorganismy z velbloudího mléka, které byly kultivovány 24 h při teplotě 28-29 °C, v dalším experimentu 24 h při teplotě 37 °C a 4 h při teplotě 43 °C.

4.1.2 Posouzení koagulace a titrační analýza I.

Po uplynutí doby fermentace byla provedena titrační analýza. Pro stanovení titrační kyselosti mléka byl použit 0,25M hydroxid sodný a jako indikátoru se využilo fenolftaleinu, který po překročení prahu kyselosti zbarvil mléko do růžova. Titrační kyselost mléka byla stanovena na základě spotřeby hydroxidu sodného.

4.1.2.1 Mikrobiologický rozbor inokulovaného kravského mléka

U dvou vybraných vzorků s obsahem *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* a *Lactobacillus plantarum* fermentovaných při teplotě 37 °C byl proveden mikrobiologický rozbor pomocí deskové metody pro zjištění celkového počtu mikroorganismů (CPM). Vzorky byly sériově naředěny, inokulovány na Petriho misky a zalaty neselektivním médiem (Wilkins-Chalgren Anaerobe Agar se sójovým peptonem; Oxoid, UK). Po kultivaci při 37 °C po dobu 48 hodiny bylo provedeno vyhodnocení počtu kolonií tvořících jednotky.

4.2 Izoláty mikroorganismů velbloudího mléka II.

Pro pokračování pokusu bylo dále využito nově izolovaných mikroorganismů z dalšího vzorku velbloudího mléka. Jejich skladba je uvedena v Tabulce 4.

Tabulka 4 Nově izolované mikroorganismy z velbloudího mléka

Vzorek mléka	Izolát	Identifikace sekvenace genu 16S rRNA
Mléko I.	MC1/5W	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
	MC1/1W/1B	<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> subsp. <i>globosum</i>
	CM1/2B	<i>Bifidobacterium mongoliense</i>
	CM1/3B	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
	CM1/6B	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
Mléko II.	CM2/5R	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Mléko III.	C3/5B	<i>Bifidobacterium crudilactis</i>
Mléko IV.	C4/12B	<i>Bifidobacterium crudilactis</i>

4.2.1 Kontrola čistoty mikroorganismů velbloudího mléka II.

Pomocí fázově kontrastního mikroskopu (Nikon Eclipse E 200LED MV RS) byla provedena kontrola čistoty kultur nově izolovaných mikroorganismů.

4.2.2 Inokulace kravského mléka mikroorganismy velbloudího mléka II spolu se smetanovou kulturou

Po zjištění čistoty kultur byla vytvořena matrice kravského mléka pro inokulaci kultur. K předem připravenému rekonstituovanému odtučněnému kravskému mléku (v poměru 1:10 s povářenou vodou) byl přidán jeden sáček mlékařské kultury Laktoflora® od společnosti Milcom (základní - smetanová kultura: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*). Takto připravená směs byla důkladně zhomogenizována a následně rozplněna po 50 ml do falkonek do nichž byly poté inokulovány laktobacily v 2% koncentraci a bifidobakterie v 5% koncentraci (tzn. 1 ml laktobacilů a 2,5 ml bifidobakterií) vždy ve dvou kopiích. Vzorky byly kultivovány při teplotě 22 °C po dobu 24 hodin. Kontrolní vzorek byl připraven stejným způsobem bez přídavku kultur.

4.2.2.1 Preparát z mléčných kultur

Na větší část podložního sklíčka byla rozetřena kapka vzorku z vysráženého mléka, která byla ponechána na zaschnutí. Pro fixaci bakterií a zároveň rozpuštění tuku byl na zaschnutý nátěr aplikován alkoholether po dobu 1 minuty do vytěkání. Poté byl nátěr mořen 1% roztokem NaOH po dobu 10 sekund, což vedlo k narušení bílkovin, především kaseinu mléka. Následně byl nátěr barven methylenovou modří po dobu 2 minut, poté opláchnut pod proudem vody a usušen. Takto připravený preparát byl pozorován s kapkou imerzního oleje imerzním objektivem.

4.2.2.2 Mikrobiologický rozbor inokulovaného mléka II.

Ověření schopnosti růstu daných kmenů bylo provedeno mikrobiologickým pomocí deskové metody použitím selektivních médií. Z fermentovaného vzorku byl do ředící řady odebrán 1 ml a následně byl vzorek sériově naředěn do požadované koncentrace. Pro stanovení celkového počtu bakterií bylo použito Wilkins-Chalgren Anaerobe Agar se sójovým peptonem (Oxoid, UK), pro detekci bifidobakterií selektivní médium Wilkins-Chalgren Anaerobe Agar se sójovým peptonem (Oxoid, UK) s octovou kyselinou a antibiotikem mupirocinem. Celkové

počty mikroorganismů a bifidobakterie byly kultivovány za anaerobních podmínek při 37 °C po dobu 48 hodin. Pro stanovení počtu laktobacilů byl použit Rogosa agar (Oxoid, UK) s octovou kyselinou. Pro zajištění mikroaerofilních podmínek byly misky s laktobacily přelity médiem dvakrát a byly kultivovány při 37 °C po dobu 48 hodiny. Po kultivaci byly spočítány naroslé kolonie tvořící jednotky a výsledky byly statisticky zpracovány pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA).

4.2.2.3 Titrační analýza inokulovaného mléka II.

Ze zbylého množství vzorků fermentovaného mléka bylo odebráno 10 gramů pro titrační analýzu za účelem stanovení kyselosti (SH). Vzorky byly titrovány pomocí 0,25M hydroxidu sodného (NaOH) a jako indikátoru bylo využito fenolftaleinu. Titrační kyselost byla zjištěna na základě spotřeby NaOH.

4.2.3 Inokulace kravského mléka mikroorganismy velbloudího mléka II spolu s jogurtovou kulturou

Pro inokulaci bylo opět použito rekonstituovaného odtučněného kravského mléka (v poměru 1:10 s povařenou vodou). Z nějž bylo nejprve odebráno 15 ml do vialek, do kterých bylo následně přidáno 0,5 ml jednotlivých kultur. Takto připravené vzorky byly uchovány 24 h při teplotě 37 °C a použity jako kontrolní vzorky. Do zbylého množství mléka byl přimíchán jeden sáček mlékařské kultury Laktoflora® od společnosti Milcom (jogurtová kultura – *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*). Takto nachystaná směs byla rozdělena po 50 ml do falkonek, do kterých byly následně přidány laktobacily v 2% koncentraci a bifidobakterie v 5% (1 ml laktobacilů a 2,5 ml bifidobakterií) vždy ve dvou kopiích. Zároveň byly připraveny dva kontrolní vzorky obsahující pouze jogurtovou kulturu. Nakonec byly všechny vzorky inkubovány 24 h při teplotě 37 °C.

4.2.3.1 Posouzení koagulace vzorků jogurtu s mikroorganismy velbloudího mléka II

Po skončení inokulace bylo opět provedeno posouzení koagulace, kde hlavním cílem bylo zjistit původce srážení mléka. Nejprve byl proveden celkový rozbor (postup v kapitole 4.2.2.2) a poté titrační analýza (postup v kapitole 4.2.2.3). Celkový rozbor byl opět statisticky vyhodnocen pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVY).

4.3 Senzorická analýza

Na závěr byla provedena senzorická analýza kysaného mléčného výrobku fermentovaného čtyřmi vybranými druhy bakterií velbloudího mléka (CM1/3B *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, CM2/5R *Lactobacillus plantarum*, C3/5B *Bifidobacterium crudilactis*, C4/12B *Bifidobacterium crudilactis*). V první části byl kysaný mléčný výrobek připraven za pomoci smetanové kultury. Nejprve byly do 3 l kravského mléka přimíchány 3 sáčky mlékařské kultury Laktoflora® od společnosti Milcom (základní - smetanová kultura: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*). Takto připravená směs byla důkladně homogenizována a následně rozdělena do 500ml kádinek, do kterých byly poté přidány čtyři vybrané druhy bakterií velbloudího mléka (2% koncentrace laktobacilů, 5% koncentrace bifidobakterií). Zároveň byl vytvořen i jeden kontrolní vzorek, do kterého nebyla přidána žádná bakterie velbloudího mléka. Nakonec bylo vše důkladně promícháno a rozlito do 50ml falkonek. Takto připravené vzorky byly ponechány 20 h při teplotě 22 °C. Před vlastním senzorickým hodnocením byly vzorky kysaného mléčného výrobku vychlazeny. Pro zjištění, do jaké míry byly vzorky zfermentované, byla opět provedena titrační analýza.

Senzorická analýza byla realizována pomocí metody hodnocení senzorického profilu (dle ISO 13299:2016). Skupině 10 školených hodnotitelů bylo předloženo celkem 5 vzorků, a to 2 obsahující laktobacily (CM1/3B, CM2/5R), dva s obsahem bifidobakterií (C3/5B, C4/12B) a jeden kontrolní. Hlavním úkolem hodnotitelů bylo zaznamenat do formuláře senzorického profilu (Příloha 1) intenzitu jednotlivých deskriptorů (celková příjemnost chuti, celková intenzita chuti, intenzita kyselé chuti, intenzita sladké chuti, intenzita octové chuti a celková přijatelnost). Pro hodnocení bylo využito grafických lineárních nestrukturovaných stupnic. Pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu bylo vyhodnoceno, zda mezi jednotlivými vzorky existovaly statisticky významné rozdíly.

Na závěr senzorické analýzy fermentovaného mléčného výrobku bakteriemi velbloudího mléka byla uskutečněna pořadová zkouška (dle ISO 8587:2006), jejíž vyhodnocení bylo provedeno pomocí Friedmanova testu. Skupinou 10 hodnotitelů bylo posuzováno 5 vzorků dle celkové přijatelnosti. Na základě jejich preference bylo k jednotlivým vzorkům přiřazováno pořadí od 1 do 5 (od nejlepšího vzorku po nejhorší). Pro výpočet Friedmanova kritéria byly jako základ využity součty pořadí jednotlivých vzorků. Friedmanovým testem bylo zjištěno,

zda mezi vzorky na hladině významnosti $\alpha=0,05$ ($P<0,05$) existoval statisticky významný rozdíl.

Stejný způsobem pak bylo provedeno senzorké hodnocení fermentovaného mléčného výrobku bakteriemi z velbloudího mléka za přítomnosti jogurtové kultury Laktoflora® od společnosti Milcom (*Lactobacillus delbrüeckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*), kde probíhala fermentace po dobu 24 h při teplotě 37 °C.

5 Výsledky

5.1 Výsledky koagulace kravského mléka izoláty velbloudího mléka I.

V první části pokusu bylo kravské mléko s inokulovanými mikroorganismy kultivováno 24 hodin při teplotě 28-29 °C. Po kultivaci byla provedena titrační analýza, jejíž výsledky jsou uvedeny v Tabulce 5. Na základě spotřeby NaOH byla spočítána titrační kyselost (SH), a z ní pak dopočítáno průměrné SH.

Tabulka 5 Titrační kyselost mléka fermentovaného bakteriemi velbloudího mléka 24 h při teplotě 28-29 °C

Číslo vzorku	Titrační kyselost (SH)			Průměrná titrační kyselost (SH)
	a (10 ⁶)	b (10 ⁷)	c (10 ⁸)	
1	7,42	7,42	6,93	7,257
2	-	7,42	7,42	7,420
3	7,42	7,92	7,92	7,753
4	7,42	6,93	6,93	7,093
5	7,42	7,42	6,93	7,257
6	6,43	6,93	-	6,680
7	-	6,93	7,92	7,425
8	7,42	7,42	6,93	7,257
9	7,92	7,42	7,42	7,587

Protože v předchozí části experimentu nedošlo ani u jediného vzorku k vysrážení mléka při teplotě 28-29 °C, byla provedena zkouška koagulace při teplotě 37 °C u dvou náhodně vybraných kmenů bakterií *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* a *Lactobacillus plantarum*. Po 24 hodinách bylo opět provedeno senzoričné posouzení koagulace a pro kontrolu titrační analýza, jejíž výsledky jsou uvedeny v Tabulce 6.

Tabulka 6 Titrační kyselost mléka fermentovaného vzorky 6 a 8 bakterií velbloudího mléka 24 h při teplotě 37 °C

Číslo vzorku	Titrační kyselost (SH)			Průměrná titrační kyselost (SH)
	a (10 ⁶)	b (10 ⁷)	c (10 ⁸)	
6	23,74	24,73	24,73	24,40
8	7,42	7,42	9,89	8,24

Na základě výsledků titrační kyselosti bylo zjištěno, že kmen *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (vzorek 6) má schopnost při teplotě 37 °C na rozdíl od *Lactobacillus platnarum* (vzorek 8) po 24 hodinách mléko koagulovat.

Dále byl u těchto dvou vzorků proveden mikrobiologický rozbor pomocí deskové metody pro zjištění celkového počtu mikroorganismů (CPM). Konečné celkové množství mikroorganismů je uvedeno v Tabulce 7.

Tabulka 7 Konečné celkové množství mikroorganismů u vzorku 6 a 8

Číslo vzorku	Izolát z velbloudího mléka	log KTJ/1 ml
6	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	7,9587
8	<i>Lactobacillus platnarum</i>	7,7650

Jelikož bylo rozpoznáno, že při teplotě 37 °C by mohly některé bakterie velbloudího mléka koagulovat kravské, byl proveden tento experiment i u zbylých druhů bakterií. Výsledky titrační analýzy jsou uvedeny v Tabulce 8.

Nejvyšší titrační kyselost za působení teploty 37 °C po dobu 24 h byla naměřena u vzorků 2, 5, 6 tedy u vzorku s obsahem *Bifidobacterium pseudolongum globosum*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* a *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Naopak u vzorků s obsahem koků *Pediococcus pentosaceus* a *Leuconostoc pseudomesenteroides* dosáhla kyselost nejnižších hodnot (Tabulka 8).

Vliv teploty 43 °C po dobu 4 h se ukázal zcela nevyhovující pro růst a koagulaci bakterií velbloudího mléka. Hodnoty titrační kyselosti byly u všech vzorků na velmi nízké úrovni (Tabulka 8).

Tabulka 8 Titrační kyselost mléka fermentovaného bakteriemi velbloudího při působení teploty 37 °C 24 hodin a při teplotě 43 °C 4 hodiny

Číslo vzorku	Titrační kyselost (SH)				Průměrná titrační kyselost (SH)
	37 °C			43 °C	
	a	b	c		
1	24,74	21,77	21,77	14,35	23,76
2	27,70	26,71	26,71	12,86	27,04
3	21,77	21,27	19,29	14,84	20,78
4	23,75	23,75	21,27	13,85	22,92
5	27,70	26,71	27,70	13,36	27,37
6	27,70	30,67	30,67	12,37	29,68
7	14,35	12,86	11,87	12,86	13,03
9	17,81	11,87	13,36	14,35	14,35

5.2 Výsledky koagulace kravského mléka izoláty velbloudího mléka II a smetanové kultury

Pro další část experimentu bylo využito nových izolátů z velbloudího mléka (Tabulka 4). Čistota kultur byla provedena pomocí preparátu narychlo, kde bylo zjištěno, že všechny kultury byly čisté bez příměsi jiných mikroorganismů. Proto mohly být všechny izoláty využity pro inokulci do kravského mléka. Fotografie preparátů jsou v uvedeny v Příloze 2.

5.2.1 Výsledky preparátu z mléčných kultur

Z provedené fermentace kravského mléka bakteriemi velbloudího mléka a smetanové kultury bylo pomocí preparátu z mléčných kultur zřejmé, že mikroorganismy velbloudího mléka mají schopnost přežít a růst v mléce kravském. V preparátu by tedy vyjma koků smetanové kultury měla být vidět i přítomnost tyčinek. Výskyt tyčinek je shrnut v Tabulce 9.

Na preparátech z mléčných kultur všech vzorků bylo kromě koků smetanové kultury vidět i určité množství tyčinek. Z toho vyplývá, že mikroorganismy velbloudího mléka byly schopné v kravském mléce přežít, růst a zároveň napomáhat koagulaci. Pouze u jednoho vzorku s obsahem *Lactobacillus plantarum* bylo nalezeno jen malé množství tyčinek.

Tabulka 9 Přítomnost tyčinek v preparátu z mléčných kultur

Vzorek	Identifikace sekvenace genu 16S rRNA	Preparát z mléčných kultur
MC1/5W	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	tyčinky
MC1/1W/1B	<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> subsp. <i>globosum</i>	tyčinky
CM1/2B	<i>Bifidobacterium mongoliense</i>	tyčinky
CM1/3B	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	tyčinky
CM1/6B	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	tyčinky
CM2/5R	<i>Lactobacillus plantarum</i>	malé množství tyčinek
C3/5B	<i>Bifidobacterium crudilactis</i>	tyčinky
C4/12B	<i>Bifidobacterium crudilactis</i>	tyčinky

5.2.2 Statistické vyhodnocení mikrobiologického rozboru fermentovaného mléčného výrobku mikroorganismy velbloudího mléka se smetanovou či jogurtovou kulturou

Vyhodnocení výsledků bylo provedeno pomocí analýzy rozptylu jednoduchého třídění. Výsledky vzorků s obsahem bifidobakterií jsou zobrazeny v Tabulce 10 a výsledky vzorků obsahující laktobacily v Tabulce 11. Hodnoty v řádcích s rozdílnými horními indexy se od sebe statisticky významně liší na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($P > 0,05$).

Tabulka 10 Výsledky statistického hodnocení vzorků s bifidobakteriemi

Kmen	Průměrné počty bakterií (log KTJ/ml \pm S.D.; n=3)				
	Označení	Druh	Samostatně	Se smetanovou kulturou	S jogurtovou kulturou
MC1/1W/1B		<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> subsp. <i>globosum</i>	7,64 \pm 0,48 ^A	0,93 \pm 1,31 ^B	0,97 \pm 1,36 ^B
CM1/2B		<i>Bifidobacterium mongoliense</i>	8,33 \pm 0,13 ^A	5,64 \pm 0,12 ^B	5,85 \pm 0,16 ^B
C3/5B		<i>Bifidobacterium crudilactis</i>	7,98 \pm 0,05 ^A	8,75 \pm 0,45 ^B	<2 ^C
C4/12B		<i>Bifidobacterium crudilactis</i>	7,87 \pm 0,03 ^A	8,29 \pm 0,32 ^B	<2 ^C

Druh *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum* byl schopný v kravském mléce samostatně růst a koagulovat jej. Tento druh však nedokázal konkurovat bakteriím smetanové a jogurtové kultury, které jej přerostly. Druh *Bifidobacterium mongoliense* narostl v kravském mléce nejvíce ze všech bifidobakterií. Po přidání smetanové a jogurtové kultury se ovšem jeho růst statisticky významně snížil. Oba kmeny *Bifidobacterium crudilactis* byly schopné v kravském mléce samostatného růstu, který se po přidání smetanové kultury statisticky významně ještě zvýšil. Naopak přídavek jogurtové kultury růst těchto kmenů téměř zastavil (Tabulka 10).

Tabulka 11 Výsledky statistického hodnocení vzorků s laktobacily

Kmen	Průměrné počty bakterií (log KTJ/ml ± S.D.; n=3)				
	Označení	Druh	Samostatně	Se smetanovou kulturou	S jogurtovou kulturou
MC1/5W		<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	~2 ^A	~2 ^A	8,29±0,41 ^B
CM1/3B		<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	8,93±0,09 ^A	8,00±0,24 ^B	8,31±0,12 ^{AB}
CM1/6B		<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	8,54±0,21 ^A	7,45±0,14 ^B	8,12±0,14 ^C
CM2/5R		<i>Lactobacillus plantarum</i>	7,45±0,45 ^A	7,63±0,21 ^A	8,11±0,13 ^B

Kmen MC1/5W *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* nedokázal samostatně ani společně se smetanovou kulturou růst v kravském mléce. Kmeny CM1/3B a CM1/6B *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* v kravském mléce rostly jak samostatně, tak i se smetanovou kulturou. Oproti tomu nárůst po přidavku smetanové kultury byl statisticky významně nižší. Kmen CM2/5R *Lactobacillus plantarum* byl schopný v kravském mléce růst samostatně i se smetanovou kulturou v počtech, které se od sebe statisticky významně nelišily. Po přidavku jogurtové kultury ke všem vzorkům byl zjištěn určitý nárůst bakterií, nicméně ten byl pravděpodobně způsoben laktobacily jogurtové kultury (Tabulka 11).

5.2.3 Výsledky titrační kyselost fermentovaného mléčného výrobku bakteriemi velbloudího mléka samostatně, se smetanovou kulturou a s jogurtovou kulturou

Pro posouzení koagulace byla opět provedena titrační analýza, kterou bylo zjištěno, do jaké míry byly mikroorganismy velbloudího mléka schopné prokysat kravské mléko se smetanovou, s jogurtovou kulturou a samotné kravské mléko. Výsledky SH kyselosti jsou zobrazeny v Tabulce 12.

Dle záznamů v Tabulce 12 bakterie izolované z velbloudího mléka samostatně rostly a koagulovaly mléko kravské. Nejvyšší titrační kyselosti bylo dosaženo u vzorku CM1/6B s obsahem *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*.

Celkově přidavek smetanové kultury podpořil růst bakterií velbloudího mléka v kravském mléce, nejnižší titrační kyselost byla totiž zjištěna u kontrolních vzorků bez obsahu kultur z velbloudího mléka. U vzorku C3/B5 s obsahem *Bifidobacterium crudilactis* bylo zajímavé, že samostatně nedokázala tato bakterie kravské mléko téměř vůbec koagulovat, ale za přítomnosti smetanové kultury vykazovala nejvyšší titrační kyselost (Tabulka 12).

Tabulka 12 Titrační kyselost fermentovaného mléčného výrobku bakteriemi velbloudího mléka samostatně, se smetanovou kulturou a s jogurtovou kulturou (SH)

Vzorek	Samotná kultura	Se smetanovou kulturou	S jogurtovou kulturou
MC1/5W	32,0187	42,3800	64,9028
MC1/5W kopie		40,6460	65,4130
Průměr		41,5130	65,1623
MC1/1W/1B	33,3455	40,0877	62,2474
MC1/1W/1B kopie		42,7024	65,3566
Průměr		41,3951	63,7641
CM1/2B	33,9523	41,2254	63,4991
CM1/2B kopie		41,1474	59,3832
Průměr		41,1864	61,4631
CM1/3B	40,1194	41,9861	64,5492
CM1/3B kopie		40,9910	63,1738
Průměr		41,4886	63,8689
CM1/6B	52,1219	40,6586	67,6055
CM1/6B kopie		41,1042	66,8871
Průměr		40,8814	67,2456
CM2/5R	29,5818	41,3936	67,5503
CM2/5R kopie		41,3402	67,3422
Průměr		41,3669	67,4454
C3/B5	14,9536	45,3886	65,3016
C3/B5 kopie		45,6387	63,2708
Průměr		45,5136	64,2738
C4/B12	30,0759	46,6252	66,1059
C4/B12 kopie		46,1884	66,9523
Průměr		46,4068	66,5293
Kontrola 1		40,4252	66,2967
Kontrola 2		39,9289	66,2351
Průměr		39,9186	66,2658

Ze vzorků s přidavkem laktobacilů byla naměřena nejvyšší titrační kyselost za přítomnosti smetanové kultury u vzorku MC1/5W s obsahem *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* (Tabulka 12).

Bakterie izolované z velbloudího mléka dle titrační kyselosti neprokázaly schopnost konkurovat bakteriím jogurtové kultury (*Lactobacillus delbrüeckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*). Nejvyšší titrační kyselost byla rozpoznána u kontrolních vzorků bez přidavku izolátů z velbloudího mléka. Nejvyšší schopnost koagulace kravského mléka bakteriemi velbloudího mléka za přítomnosti bakterií jogurtové kultury byla stanovena u vzorků obsahujících druh *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* CM1/6B a *Lactobacillus plantarum* CM2/5R (Tabulka 12).

5.3 Senzorická a titrační analýza mléčného produktu fermentovaného bakteriemi velbloudího mléka

Senzorická analýza byla prováděna pomocí metody hodnocení profilu a pořadové zkoušky.

5.3.1 Výsledky titrační a senzorické analýzy mléčného výrobku fermentovaného bakteriemi velbloudího mléka se smetanovou kulturou

5.3.1.1 Titrační analýza

Pro kontrolu, zda dostatečně proběhla fermentace vzorků kysaného mléčného výrobku pro senzorickou analýzu, byla provedena titrační analýza, jejíž výsledky jsou uvedeny v Tabulce 13.

Tabulka 13 Titrační kyselost (SH) mléčného výrobku fermentovaného bakteriemi velbloudího mléka se smetanovou kulturou

Označení	Druh	SH
CM1/3B	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	40,52
CM2/5R	<i>Lactobacillus plantarum</i>	39,78
C3/B5	<i>Bifidobacterium crudilactis</i>	48,37
C4/B12	<i>Bifidobacterium crudilactis</i>	46,68
Kontrola		37,08

Nejnižší titrační kyselost byla zjištěna u kontrolního vzorku bez přidavku bakterií velbloudího mléka. Po přidání bakterií *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* a *Lactobacillus*

plantarum se titrační kyselost zvýšila. Nejvyšší titrační kyselost ovšem byla naměřena u vzorků s obsahem *Bifidobacterium crudilactis* (Tabulka 13).

5.3.1.2 Senzorický profil

Senzorické analýzy se účastnilo 10 hodnotitelů ve stejný den i hodinu. Všichni hodnotitelé byli v dobrém zdravotním stavu.

Skupinou 10 hodnotitelů byl posuzován senzorický profil určováním intenzity jednotlivých deskriptorů (celková příjemnost chuti, celková intenzita chuti, intenzita kyselé chuti, intenzita sladké chuti, intenzita octové chuti a celková přijatelnost). Detailní výsledky od všech posuzovatelů jsou uvedeny v Příloze 3. Hodnoty ve sloupcích s odlišnými horními indexy v Tabulce 14 udávají, že mezi vzorky existoval statisticky významný rozdíl v hodnoceném deskriptoru na hladině významnosti $\alpha=0,05$. Pro lepší znázornění intenzity byly výsledky převedeny do pavučinových grafů (Graf 1 Senzorický profil vzorků s laktobacily a kontrolního vzorku, Graf 2 Senzorický profil vzorků s bifidobakteriemi a kontrolního vzorku).

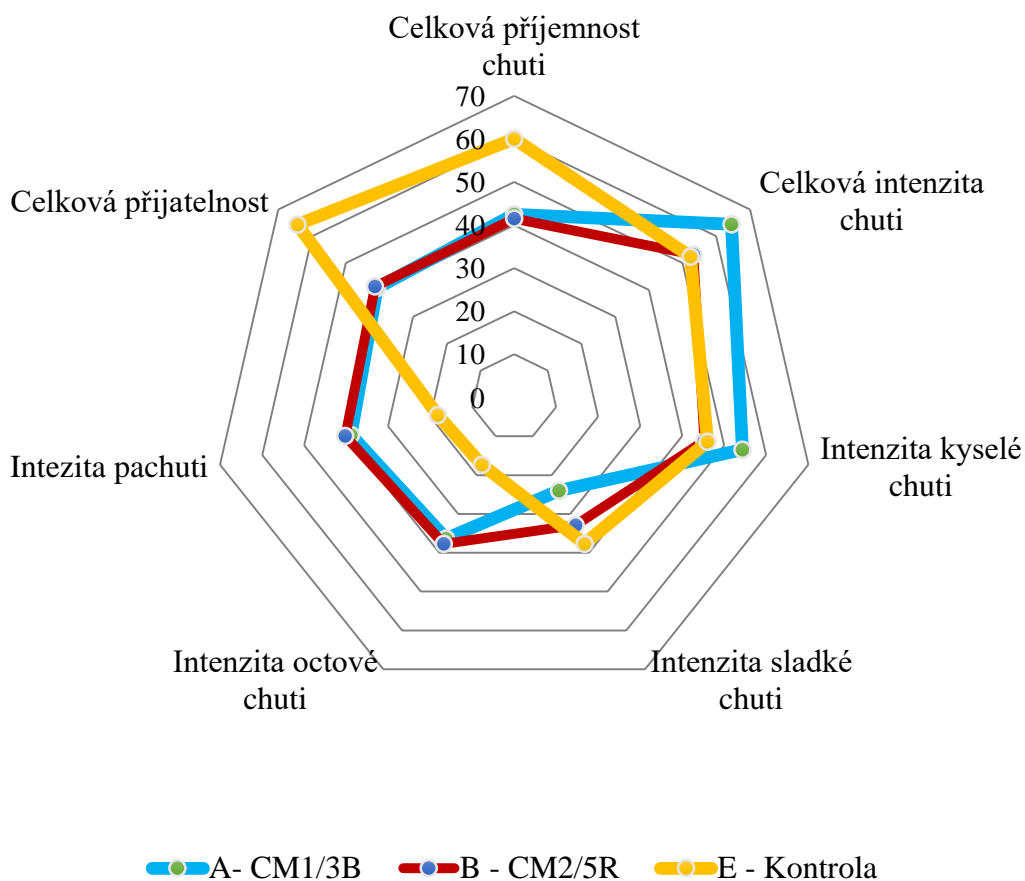
Tabulka 14 Výsledky hodnocení profilu – průměr (%)±S.D., hodnoty ve sloupci s různým horním indexem se od sebe statisticky významně liší ($\alpha=0,05$)

Vzorek	Celková příjemnost chuti	Celková intenzita chuti	Intenzita kyselé chuti	Intenzita sladké chuti
CM1/3B	43±20 ^A	65±17 ^A	54±20 ^A	24±10 ^A
CM2/5R	42±15 ^A	53±17 ^A	45±28 ^A	33±24 ^A
C3/B5	18±12 ^B	74±13 ^A	75±15 ^A	15±15 ^A
C4/B12	26±17 ^{AB}	74±14 ^A	68±16 ^A	25±27 ^A
Kontrola	60±12 ^A	52±20 ^A	46±23 ^A	38±20 ^A
Vzorek	Intenzita octové chuti	Intenzita pachuti	Celková přijatelnost	
CM1/3B	36±18 ^F	39±26 ^F	41±22 ^F	
CM2/5R	38±16 ^F	40±23 ^F	41±11 ^F	
C3/B5	55±24 ^{ACF}	57±26 ^{ACF}	18±15 ^{ACF}	
C4/B12	56±30 ^{CDF}	61±25 ^{CDF}	22±15 ^{CDF}	
Kontrola	17±16 ^{BEF}	18±20 ^{BEF}	64±15 ^{BEF}	

U deskriptorů celková intenzita chuti, intenzita kyselé chuti a intenzita sladké chuti nebyl v průběhu hodnocení mezi vzorky zpozorován žádný statisticky průkazný rozdíl. Dle analýzy rozptylu (Tabulka 14) dále bylo stanoveno, že vzorky s obsahem *Bifidobacterium*

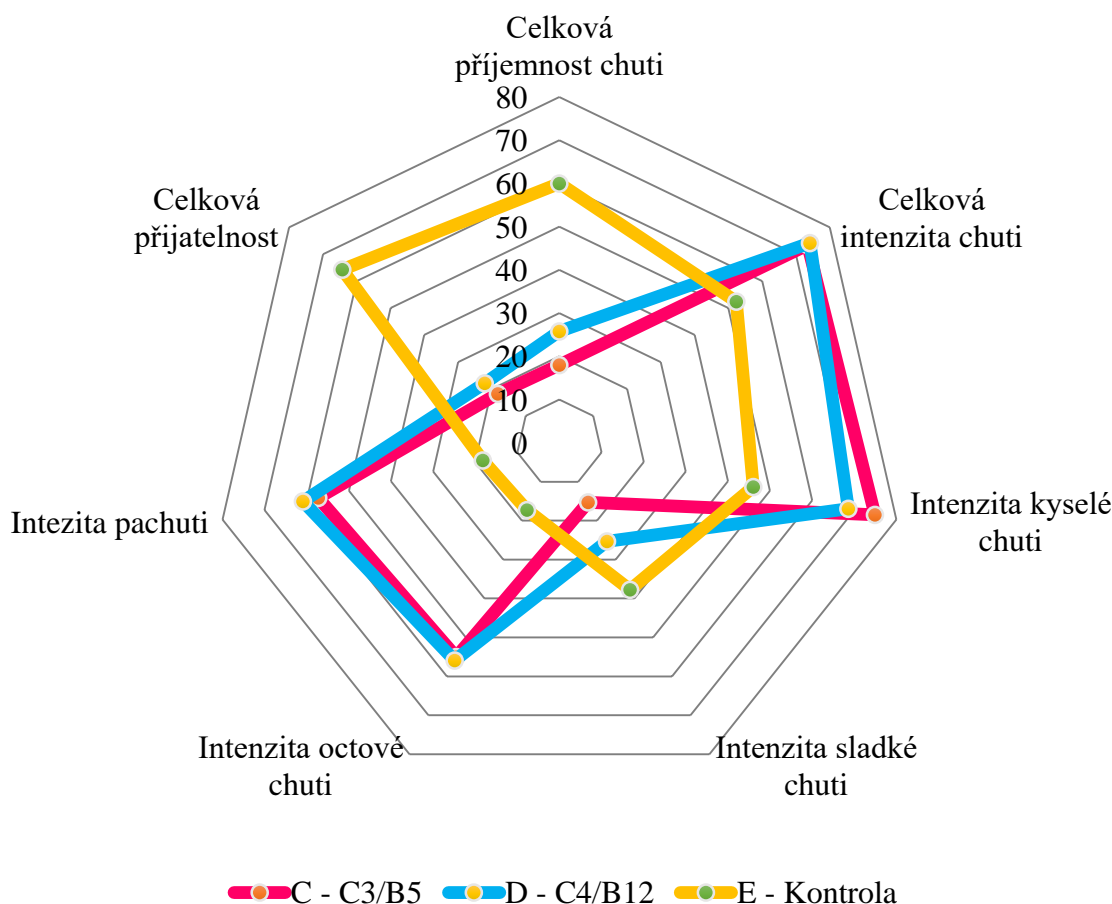
crudilactis se statisticky významně odlišovaly od ostatních v celkové příjemnosti chuti, intenzitě chuti, intenzitě pachuti i celkové přijatelnosti. Bifidobakterie velbloudího mléka tedy velmi negativně ovlivňovaly sensorické vlastnosti fermentovaného mléčného výrobku.

Graf 1 Sensorický profil vzorků s laktobacily a kontrolního vzorku za použití smetanové kultury (grafické lineární orientované nestrukturované stupnice)



U vzorků s laktobacily z velbloudího mléka byly hodnoty intenzity pachuti a octové chuti o trochu vyšší oproti kontrolnímu vzorku. Intenzita sladké chuti byla hodnocena u těchto tří vzorků velmi podobně. Hodnotitelé u kontrolního vzorku na druhou stranu shledali celkovou přijatelnost a příjemnost chuti mnohem lepší oproti vzorkům s laktobacily (Graf 1).

Graf 2 Senzorický profil vzorků s bifidobakteriemi a kontrolního vzorku za použití smetanové kultury (grafické lineární orientované nestrukturované stupnice)



Vzorky s obsahem bifidobakterií, jak je vidět na Grafu 2, vykazovaly oproti kontrolnímu velmi intenzivní pachut', octovou a kyselou chuť, a zároveň minimální intenzitu sladké chuti. Značně nízké hodnocení získaly vzorky s obsahem bifidobakterií z velbloudího mléka u deskriptorů celkové přijatelnosti a příjemnosti chuti.

5.3.1.3 Pořadová zkouška

Pořadová zkouška byla provedena pomocí Friedmanova testu. Hodnotitelé měli nejprve určit pořadí vzorků od nejlepšího po nejhorší ve škále od 1 do 5 (Tabulka 15; hodnoty v řádku Součet s různými horními indexy se od sebe statisticky významně liší), a poté bylo pomocí Friedmanova kritéria zkoumáno, zda mezi vzorky byly statisticky významné rozdíly.

Tabulka 15 Výsledky pořadové zkoušky vzorků se smetanovou kulturou

Hodnotitel	A- CM1/3B	B - CM2/5R	C - C3/B5	D - C4/B12	E - Kontrola
1.	3	2	5	4	1
2.	2	1	5	4	3
3.	3	1	4	5	2
4.	4	2	3	5	1
5.	2	3	4	5	1
6.	2	1	4	5	3
7.	2	3	5	4	1
8.	2	3	4	5	1
9.	3	2	4	5	1
10.	1	3	4	5	2
Součet	24 ^A	21 ^A	42 ^B	47 ^B	16 ^A

Podle výpočtu Friedmanova kritéria bylo zjištěno, že na hladině významnosti $\alpha=0,05$ ($P < 0,05$) se od sebe statisticky významně jednotlivé vzorky liší. Dle celkové přijatelnosti byl nejvíce preferován kontrolní vzorek E. Pomocí Friedmanova testu bylo však stanoveno, že vzorky A a B s obsahem laktobacilů se statisticky od kontrolního vzorku významně neliší. Vzorky obsahující bifidobakterie (C, D), které byly považovány téměř ve všech případech za nejhorší, byly statisticky významně rozdílné od vzorku kontrolního i s obsahem laktobacilů.

5.3.2 Výsledky titrační a senzorické analýzy mléčného výrobku fermentovaného bakteriemi velbloudího mléka za přítomnosti jogurtové kultury

Senzorické analýzy se účastnilo ve stejný den i hodinu 10 hodnotitelů. Zdravotní stav všech hodnotitelů byl v pořádku.

5.3.2.1 Titrační analýza

Stanovení titrační kyselosti bylo provedeno za účelem zjištění, do jaké míry bakterie velbloudího mléka byly schopné prokysat kravské mléko za přítomnosti jogurtové kultury. Výsledky titrační kyselosti jsou uvedeny v Tabulce 16.

Nejvyšší titrační kyselost byla naměřena u kontrolního vzorku. Na základě toho by se dalo předpokládat, že bakterie jogurtové kultury mají vliv na snížení schopnosti bakterií velbloudího mléka fermentovat mléko kravské. Výrazně nižší kyselost byla naměřena u vzorků s obsahem bifidobakterií, které zřejmě nemají schopnost konkurovat růstu jogurtových bakterií (Tabulka 16).

Tabulka 16 Titrační kyselost (SH) mléčného výrobku fermentovaného bakteriemi velbloudího mléka s jogurtovou kulturou

Označení	Druh	SH
CM1/3B	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	62,13
CM2/5R	<i>Lactobacillus plantarum</i>	61,13
C3/B5	<i>Bifidobacterium crudilactis</i>	58,58
C4/B12	<i>Bifidobacterium crudilactis</i>	61,58
Kontrola		63,17

5.3.2.2 Senzorický profil

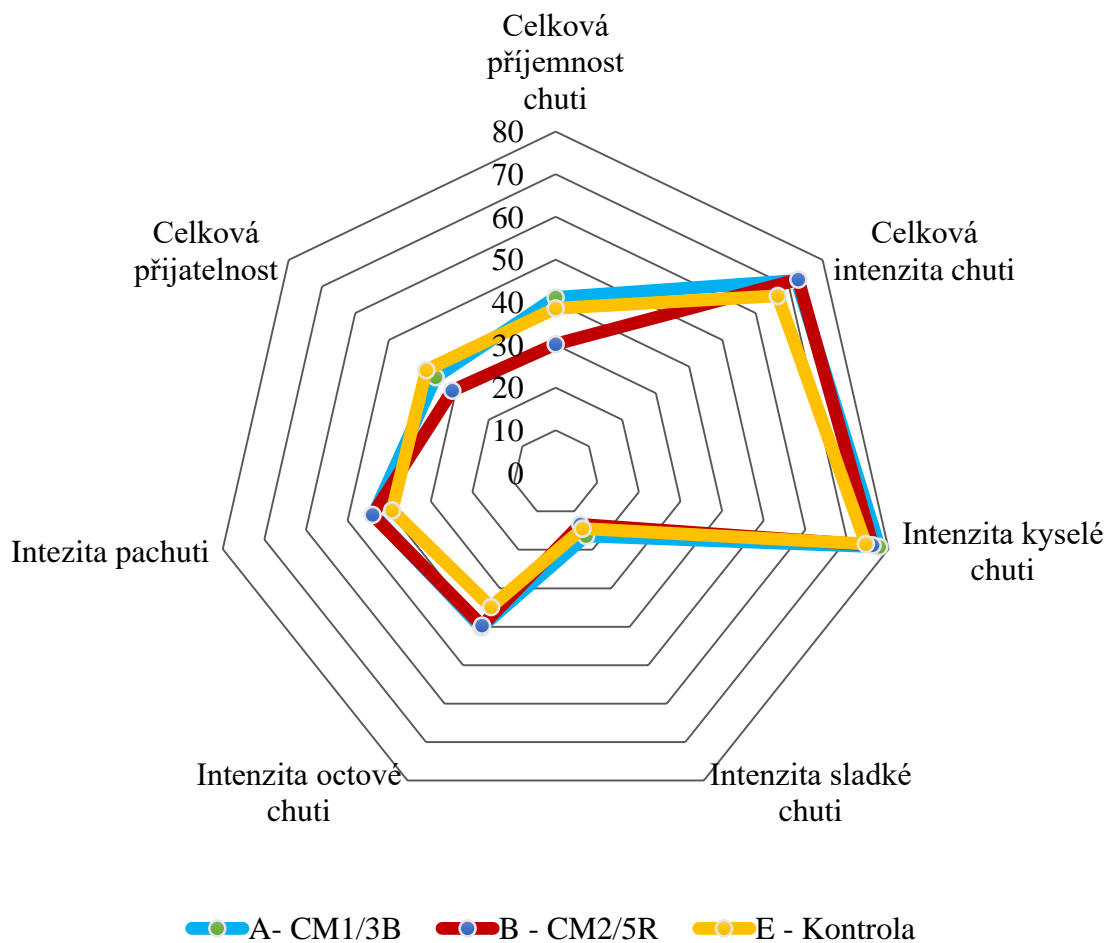
Senzorické analýzy mléčných výrobků fermentovaných bakteriemi velbloudího mléka spolu s jogurtovou kulturou se účastnilo opět 10 hodnotitelů. Senzorický profil byl posuzován dle určování intenzit jednotlivých deskriptorů (celková příjemnost chuti, celková intenzita chuti, intenzita kyselé chuti, intenzita sladké chuti, intenzita octové chuti a celková přijatelnost). Pomocí analýzy rozptylu bylo zkoumáno, zda v jednotlivých deskriptorech existuje na hladině významnosti $\alpha=0,05$ statisticky významný rozdíl mezi vzorky. Pro přehlednost byly výsledky zaneseny do pavučinových grafů (Graf 3 Senzorický profil – laktobacily, kontrola; Graf 4 Senzorický profil – bifidobakterie, kontrola).

Tabulka 17 Výsledky hodnocení profilu – průměr (%)±S.D., hodnoty ve sloupci s různým horním indexem se od sebe statisticky významně liší ($\alpha=0,05$)

Vzorek	Celková příjemnost chuti	Celková intenzita chuti	Intenzita kyselé chuti	Intenzita sladké chuti
A- CM1/3B	41±16 ^A	72±14 ^A	78±15 ^A	16±16 ^A
B - CM2/5R	30±15 ^A	73±15 ^A	76±13 ^A	13±12 ^A
C - C3/B5	26±19 ^A	86±7 ^A	82±10 ^A	19±17 ^A
D - C4/B12	33±22 ^A	68±12 ^A	74±16 ^A	21±19 ^A
E - Kontrola	39±17 ^A	67±13 ^A	75±9 ^A	15±14 ^A
Vzorek	Intenzita octové chuti	Intenzita pachuti	Celková přijatelnost	
A- CM1/3B	40±24 ^A	44±25 ^A	36±18 ^A	
B - CM2/5R	40±24 ^A	44±22 ^A	31±17 ^A	
C - C3/B5	64±21 ^A	59±20 ^A	24±20 ^A	
D - C4/B12	44±27 ^A	47±20 ^A	33±21 ^A	
E - Kontrola	35±25 ^A	39±27 ^A	39±14 ^A	

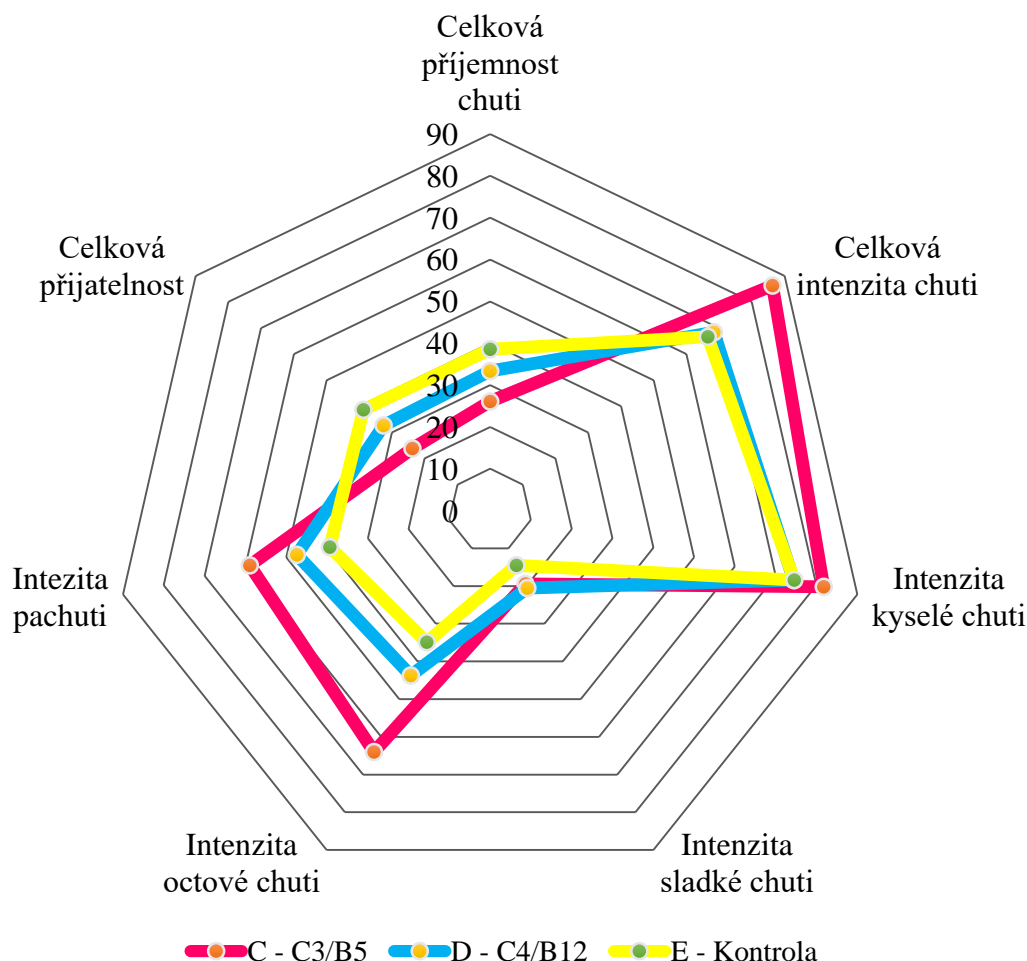
U žádného ze sledovaných deskriptorů mezi jednotlivými vzorky na hladině významnosti $\alpha=0,05$ nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl, což bylo nejspíš způsobeno neschopností mikroorganismů velbloudího mléka konkurovat v kravském mléce růstu bakterií jogurtové kultury. Všechny vzorky byly hodnoceny vysokou intenzitou kyselé chuti, která byla zvýšena zřejmě z důvodu delší doby prokysání bakterií jogurtové kultury.

Graf 3 Senzorický profil vzorků s laktobacily a kontrolního vzorku za použití jogurtové kultury (grafické lineární orientované nestruturované stupnice)



Hodnotitelé vzorky s obsahem laktobacilů hodnotili velmi podobně. Jak je vidět v Grafu 3 a Tabulce 17, mezi jednotlivými vzorky nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly. Pouze u vzorku CM/5R s *Lactobacillus plantarum* bylo výsledkem mírně nižší hodnocení v celkové příjemnosti chuti.

Graf 4 Senzorický profil vzorku s bifidobakteriemi a kontrolního vzorku za použití jogurtové kultury (grafické lineární orientované nestrukturované stupnice)



Přítomnost *Bifidobacterium crudilactis* ve vzorcích za účasti jogurtové kultury způsobila vznik nepříznivých sensorických vlastností. U vzorku C3/B5 byla rozpoznána velmi intenzivní pachů, octová a kyselá chuť. Oproti tomu u kontrolního vzorku byla hodnotiteli shledána nejvyšší celková přijatelnost a příjemnost chuti a nižší intenzita pachuti a octové chuti (Graf 4).

5.3.2.3 Pořadová zkouška

Pořadová zkouška byla opět provedena na základě preferencí hodnotitelů pomocí Friedmannova testu. Výsledky preferencí hodnotitelů jsou uvedeny v Tabulce 18 (hodnoty v řádku Součet s různými horními indexy se od sebe statisticky významně liší).

Po výpočtu Friedmanova kritéria bylo zjištěno, že na hladině významnosti $\alpha=0,05$ existují statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými vzorky. V tomto případě se jednalo pouze o rozdíl mezi vzorky s obsahem bifidobakterií (C, D) a kontrolním vzorkem. Oba vzorky s kmeny *Bifidobacterium crudilactis* byly hodnotiteli většinou pokládány za nejhorší a kontrolní vzorek za nejlepší (Tabulka 18).

Tabulka 18 Výsledky pořadové zkoušky vzorků s jogurtovou kulturou

Hodnotitel	A- CM1/3B	B - CM2/5R	C - C3/B5	D - C4/B12	E - Kontrola
1.	3	2	5	4	1
2.	1	3	4	5	2
3.	4	1	5	3	2
4.	2	3	5	4	1
5.	4	5	2	3	1
6.	5	4	3	2	1
7.	1	3	5	2	4
8.	1	4	5	2	3
9.	3	2	4	5	1
10.	5	3	2	4	1
Součet	29 ^A	30 ^A	40 ^B	34 ^B	17 ^A

6 Diskuze

Mikrobiologický profil velbloudího mléka se skládá z velmi rozmanité škály mikroorganismů. Byly v něm nalezeny také bakterie prospěšné pro lidský organismus, přičemž některé i s probiotickým potenciálem. Z velbloudího mléka byl například izolován *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus*, *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc lactis*, *Bifidobacterium mongolionense* (Ismalii et al., 2016; Khadid et al., 2009).

Pro tuto diplomovou práci byly z různých oblastí Alžírsko dovezeny 4 vzorky velbloudího mléka, z nichž byly pomocí molekulárně-genetických metod identifikovány rody *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* a *Enterococcus*. V první části experimentu byly tyto mikroorganismy testovány na schopnost samostatného růstu v kravském mléce, a to během 24 h při teplotě 29 °C a 37 °C, a během 4 h při teplotě 43 °C. Teplota 29 °C a stejně tak 43 °C se ukázala pro růst všech mikroorganismů velbloudího mléka zcela nevyhovující. V průběhu testování se výrazně nezvýšila titrační kyselost mléka a neproběhla téměř žádná tvorba koagulátu. Při teplotě 37 °C byla zjištěna schopnost fermentovat kravské mléko téměř u všech testovaných mikroorganismů. Pouze přítomnost *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus* a *Leuconostoc pseudomesenteroides* v kravském mléce nezpůsobila jeho koagulaci. Pro rod *Leuconostoc* byla stanovena optimální teplota růstu 21-28 °C. Proto výše uvedené teplotní podmínky pro něj byly nepříznivé a nedošlo tedy k fermentaci kravského mléka v žádném případě (Kot et al., 2014). Optimální teplota růstu kmene *Pediococcus pentosaceus* byla vymezena v rozmezí 20-30 °C, rovněž tedy při testování nedošlo k žádné koagulaci (Shori, 2017). Dle studie Shori (2017) fermentace mléka pomocí *Lactobacillus plantarum* se sice provádí optimálně za teploty 30-37 °C, avšak po dobu 24-48 h. Pravděpodobně kvůli kratšímu průběhu fermentace byla během testování tvorba koagulátu kravského mléka i u tohoto kmene minimální.

Pro následující část experimentu bylo využito několika potenciálně probiotických mikroorganismů, a sice 1 kmen *Bifidobacterium mongoliense*, 1 kmen *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum*, 2 kmeny *Bifidobacterium crudilactis*, 1 kmen *Lactobacillus plantarum* a 3 kmeny *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*. Tyto mikroorganismy velbloudího mléka byly testovány pomocí mikrobiologického rozboru a titrační analýzy na schopnost růstu v kravském mléce a možnost fermentovat jej buď samostatně, nebo za přítomnosti bakterií smetanové či jogurtové kultury.

Kmen *Bifidobacterium mongoliense* rostl samostatně v kravském mléce nejlépe ze všech testovaných kmenů bifidobakterií, což bylo potvrzeno i stanovením titrační kyselosti, kterou měl tento kmen nejvyšší. Po přidavku smetanové nebo jogurtové kultury se ovšem jeho schopnost růstu mírně snížila. Kmen *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum* významně narostl pouze samostatně v kravském mléce. Přidavkem smetanové či jogurtové kultury došlo k výraznému snížení růstu. Oba kmeny *Bifidobacterium crudilactis* vykazovaly dobrou růstovou schopnost. Je zajímavé, že přidavek smetanové kultury jejich schopnost fermentace ještě zvýšil. Tato skutečnost se potvrdila i titrační analýzou, kde kyselost vzorků se smetanovou kulturou a *B. crudilactis* byla výrazně vyšší než kyselost ve vzorku bez smetanové kultury a u kontrolního vzorku bez *B. crudilactis*. Již v dřívější studii bylo dokázáno, že bakterie smetanové kultury jsou schopné produkovat určité metabolity, které by pravděpodobně mohly ovlivňovat životaschopnost bifidobakterií, popřípadě podporovat jejich růst (Odamaki et al., 2011). Přidáním jogurtové kultury však došlo k takřka k úplnému utlumení růstu tohoto kmene v kravském mléce. Obecně se u jogurtové kultury předpokládá schopnost rychlého nárůstu v mléce. I když by fermentace měla probíhat především při teplotě 40 °C alespoň 4-5 h, bakterie jogurtové kultury bývají aktivní i při chladnějších teplotách. Proto mohou neustále produkovat z laktózy mléčnou kyselinu, a tím zvyšovat kyselost prostředí a snižovat životaschopnost některých bakterií mléčného kvašení (Mårtensson et al., 2002). Pravděpodobně z tohoto důvodu nebyl ani jeden zkoumaný kmen bifidobakterií za přítomnosti jogurtové kultury schopen signifikantně růst.

Výsledkem kultivačního stanovení schopnosti fermentace kravského mléka bylo, že jeden z kmenů *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* nedokáže samostatně nebo v přítomnosti smetanové kultury v mléce růst a fermentovat jej. U zbylých dvou těchto kmenů a kmene *Lactobacillus plantarum* ovšem tato schopnost zjištěna byla, což bylo v souladu s již dříve prováděnými studiemi, ve kterých bylo uvedeno, že tyto dva druhy laktobacilů mají schopnost fermentovat kravské mléko (Belkheir et al., 2017; Miao et al., 2015). Stejně jako v případě bifidobakterií byla prováděna i u laktobacilů zkouška fermentace za účasti bakterií jogurtové kultury. U všech vzorků byly shledány vysoké počty narostlých bakterií, avšak nebylo možné s přesností určit, zda fermentaci způsobily bakterie jogurtové kultury nebo laktobacily izolované z velbloudího mléka.

Na závěr byla provedena senzorická analýza, pro kterou byly vybrány 4 kmeny velbloudího mléka (1 kmen *Lactobacillus plantarum*, 1 kmen *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* a 2 kmeny *Bifidobacterium crudilactis*) vykazující schopnost růstu v kravském mléce.

Po přidavku smetanové či jogurtové kultury vzorky obsahující bakterie velbloudího mléka nevykazovaly dle sensorického hodnocení profilu příznivé vlastnosti oproti kontrolním vzorkům bez přidavku bakterií velbloudího mléka. Bifidobakterie se totiž vyznačují schopností produkovat v poměru 2:3 mléčnou a octovou kyselinu (Amaretti et al., 2007), čímž by pravděpodobně mohla být negativně ovlivněna chuť konečného fermentovaného výrobku. Zároveň ale už dříve bylo zjištěno, že velbloudí mléko jako takové, či ve formě fermentovaného mléčného výrobku, nebývá spotřebiteli vnímáno příznivě (Ibrahim et El Zubeir, 2016). Na základě výše uvedených důvodů by bylo vhodné bakterie velbloudího mléka začlenit do fermentovaného mléčného výrobku v jiném technologickém kroku. Během přípravy sensorické analýzy však došlo i k mírnému překysání konečného výrobku, obzvláště u vzorků s přidavkem jogurtové kultury, čímž byly pravděpodobně také negativně ovlivněny sensorické vlastnosti. Proto by bylo vhodné upravit i podmínky fermentace, např. změnou teploty v kombinaci s časem.

7 Závěr

Z velbloudího mléka byla pomocí molekulárně-genetických metod izolována řada mikroorganismů (rod *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* a *Enterococcus*). Během experimentu bylo zjištěno, že u většiny zkoumaných kmenů byla projevna schopnost samostatně fermentovat kravské mléko po 24 hodinách působením teploty 37 °C. Teploty 29 °C a 43 °C byly pro jejich růst zcela nevhodné. Téměř všechny kmeny byly schopné růst v kravském mléce v množství 7-8 log KTJ/ml. Jen u jednoho z kmenů *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* se ukázalo, že nemá schopnost růstu v kravském mléce za působení ani jedné z výše uvedených teplotních podmínek (pouze v množství menším než 2 log KTJ/ml).

Přídavkem základní smetanové kultury k mikroorganismům velbloudího mléka byla utlumena fermentace kravského mléka prakticky ve všech případech. Podpora růstu byla detekována pouze v kombinaci bakterií smetanové kultury s *Bifidobacterium crudilactis*. Naopak u kmene *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum* se neprojevila schopnost samostatného růstu, ani růstu spolu se smetanovou či jogurtovou kulturou. U všech kmenů laktobacilů byl stanoven signifikantně lepší samostatný růst v kravském mléce oproti kultivaci ve smetanové kultuře. Jeden z výsledků analýzy dokazoval, že mikroorganismy velbloudího mléka nemají schopnost konkurovat v kravském mléce bakteriím jogurtové kultury. Smísením laktobacilů velbloudího mléka a jogurtové kultury sice došlo významnému zvýšení počtu mikroorganismů v kravském mléce, avšak nebylo s přesností možné určit, zda tuto fermentaci způsobily laktobacily velbloudího mléka nebo jogurtové kultury.

Během senzoričského hodnocení vyšlo najevo, že přídavkem bifidobakterií a laktobacilů velbloudího mléka do fermentovaného výrobku z kravského mléka byla negativně ovlivněna jeho senzoričská jakost. Hodnotitelé výrobky často označovali za velmi kyselé s výraznou pachutí. Proto by bylo pravděpodobně vhodné přidávat je do fermentovaného mléčného produktu až v konečné fázi technologie výroby.

Testované kmeny velbloudího mléka by navíc mohly mít potenciálně probiotický charakter, nicméně je stále nezbytné dále testovat jejich funkčních vlastnosti.

Praktická část této diplomové práce byla prezentována na konferenci Mléko a sýry na VŠCHT v Praze, ze které byl sepsán příspěvek (Příloha 4) do sborníku.

8 Seznam literatury

- Abdel Rahman, I. E., Dirar, H. A., Osman, M. A. 2009. Microbiological and biochemical changes and sensory evaluation of camel milk fermented by selected bacterial starter cultures. *African Journal of Food Science*. 3 (12). 398–405.
- Abushelaibi, A., Al-Mahadin, S., El-Tarabily, K., Shah, N. P., Ayyash, M. 2017. Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. *LWT - Food Science and Technology*. 79. 316-325.
- Agrawal, R. P., Swami, S. C., Beniwal, R., Kochar, D. K., Sahani, M. S., Tuteja, F. C., Ghorui, S. 2003. Effect of camel milk on glycemic control, lipid profile and diabetes quality of life in type-1 diabetes: a randomised prospective controlled cross over study. *Indian Journal of Animal Science*. 73. 1105-1110.
- Al-Dhaheri, A. S., Al-Hemeiri, R., Kizhakkayil, J., Al-Naulsi, A., Abushelaibi, A., Shah, N. P., Ayyash, M. 2017. Health-promoting benefits of low-fat akawi cheese made by exopolysaccharide-producing probiotic *Lactobacillus plantarum* isolated from camel milk. *Journal of Dairy Science*. 100. 7771-7779.
- Al Haj, O. A., Al Kanhal, H. A. 2010. Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. *International Dairy Journal*. 20 (12). 811-821.
- Al-Saleh, A. A., Hammad, Y. A. 1992. Buffering capacity of camel milk. *Egyptian Journal of Food Science*. 20. 85-97.
- Amaretti, A., Bernardi, T., Tamburini, E., Zanoni, S., Lomma, M., Matteuzzi, D., Rossi, M. 2007. Kinetics and metabolism of *Bifidobacterium adolescentis* MB 239 growing on glucose, galactose, lactose, and galactooligosaccharides. *Applied and Environmental Microbiology*. 73 (11). 3637–3644.
- Ayyash, M. M., Sherkat, F., Shah, N. P. 2012. The effect of NaCl substitution with KCl on Akawi cheese: Chemical composition, proteolysis, angiotensin-converting enzyme-inhibitory activity, probiotic survival, texture profile, and sensory properties. *Journal of Dairy Science*. 95. 4747–4759.

- Balakrishnan, G., Agrawal, R. 2014. Antioxidant activity and fatty acid profile of fermented milk prepared by *Pediococcus pentosaceus*. *Journal of Food Science and Technology*. 51(12). 4138-4142 .
- Beg, O. U. 1986. Characterization of camel milk whey proteins. Ph.D. Thesis, University of Karachi, Pakistan.
- Beg, O. U., Bahr-Lindström, H. V., Zaidi, Z. H., Jörnvall, H. 1986. A camel milk whey protein rich in half cystine. Primary structure, assessment of variations, internal repeat patterns, and relationships with neurophysin and other active polypeptides. *European Journal of Biochemistry*. 159. 195-201.
- Belkheir, K., Karam, H. Z., Karam, N. E. 2017. New Proteolytic Pathway with Probable Hypoallergenic Properties of *Lactobacillus* Isolated from Dromedary Milk. *Arabian Journal for Science and Engineering*. 42(6). 2241-2246.
- Benkerroum, N. 2008. Antimicrobial activity of lysozyme with special relevance to milk. *African Journal of Biotechnology*. 7. 4856-4867.
- Caggianiello, G., Kleerebezem, M., Spano, G. 2016. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: From health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 100. 3877–3886.
- Duboc, P., Mollet, B. 2001. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*. 11. 759–768.
- El-Agamy, E. I. 1983. Studies on Camels Milk. Alexandria University, Egypt.
- El-Agamy, E. I. 2000. Effect of heat treatment on camel milk proteins with respect to antimicrobial factors: a comparison with cows' and buffalo milk proteins. *Food Chemistry*. 68. 227-232.
- El-Agamy, E. I., Nawar, M., Shamsia, S. M., Awad, S., Haenlein, G. F. W. 2009. Are camel milk proteins convenient to the nutrition of cow milk allergic children. *Small Ruminant Research*. 82. 1-6.

- Elayan, A. A., Sulieman, A. E., Saleh, F. A. 2008. The hypocholesterolemic effect of Gariss and Gariss containing Bifidobacteria in rats fed on a cholesterol-enriched diet. *Asian Journal of Biochemistry*. 3. 43-47.
- El-Zubeir, I. E. M., Jabreel, M. S. O. 2008. Fresh cheese from camel milk coagulated with Camifloc. *International Journal of Dairy Technology*. 61. 90-95.
- FAO/WHO. 2002. FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- Farah, Z. 1993. Composition and characteristics of camel milk. *Journal of Dairy Research*. 60. 603–626.
- Fugl, A., Berhe, T., Kiran, A., Hussain, S., Laursen, M. F., Bahl, M. I., Hailu, Y., Sørensen, K. I., Guya, M. E., Ipsen, R., Hansen, E. B. 2017. Characterisation of lactic acid bacteria in spontaneously fermented camel milk and selection of strains for fermentation of camel milk. *International Dairy Journal*. 73. 19-24.
- Fujimoto, J., Matsuki, T., Sasamoto, M., Tomii, Y., Watanabe, K. 2008. Identification and quantification of *Lactobacillus casei* strain Shirota in human feces with strain-specific primers derived from randomly amplified polymorphic DNA. *International Journal of Food Microbiology*. 126. 210–215.
- Gobbetti, M., Minervini, F., Rizzello, C. G. 2004. Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. *International Journal of Dairy Technology*. 57. 173–188.
- Guinebretière, M. H., Velge, P., Couvert, O., Carlin, F., Debuyser, M. L., Nguyen-The, C. 2010. Ability of *Bacillus cereus* group strains to cause food poisoning varies according to phylogenetic affiliation (groups I to VII) rather than species affiliation. *Journal of Clinical Microbiology*. 48. 3388–3391.
- Ibrahem, S. A., El Zubeir, I. E. M. 2016. Processing, composition and sensory characteristic of yoghurt made from camel milk and camel–sheep milk mixtures. *Small Ruminant Research*. 136. 109-112.

- Ismaili, M. A., Saidi, B., Zahar, M., Hamama, A., Ezzaier, R. 2016. Composition and microbial quality of raw camel milk produced in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.
- Jans, C., de Wouters, T., Bonfoh, B., Lacroix, C., Kaindi, D. W. M., Anderegg, J., Böck, D., Vitali, S., Schmid, T., Isenring, J., Kurt, F., Kogi-Makau, W., Meile, L. 2016. Phylogenetic, epidemiological and functional analyses of the *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* complex through an overarching MLST scheme. *BMC Microbiology*. 16. Article 117.
- Khedid, K., Faid, M., Mokhtari, A., Soulaymani, A., Zinedine, A. 2009. Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco. *Microbiological Research*. 164 (1). 81-91.
- Konuspayeva, G., Faye, B., Loiseau, G. 2009. The composition of camel milk: a meta-analysis of the literature data. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22. 95-101.
- Konuspayeva, G., Lemarie, E., Faye, B., Loiseau, G., Montet, D. 2008. Fatty acid and cholesterol composition of camel's (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* and hybrids) milk in Kazakhstan. *Dairy Science and Technology*. 88. 327-340.
- Kot, W., Hansen, L. H., Neve, H., Hammer, K., Jacobsen, S., Pedersen, P. D, Sørensen, S. J., Heller, K. J., Vogensen, F. K. 2014. Sequence and comparative analysis of *Leuconostoc* dairy bacteriophages. *International Journal of Food Microbiology*. 176. 29-37.
- Laleye, L. C., Jobe, B., Wasesa, A. A. H. 2008. Comparative study on heat stability and functionality of camel and bovine whey proteins. *Journal of Dairy Science*. 91. 4527-4534.
- Li, H., Papadopoulos, V. 1998. Peripheral-type benzodiazepine receptor function in cholesterol transport. Identification of a putative cholesterol recognition/interaction amino acid sequence and consensus pattern. *Endocrinology*. 139. 4991-4997.
- Logan, N. A. 2011. *Bacillus* and relatives in foodborne illness. *Journal of Applied Microbiology*. 112. 417-429.
- Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and Molecular Research*. 2(1). 63-76.

- Mårtensson, O., Öste, R., Holst, O. 2002. The effect of yoghurt culture on the survival of probiotic bacteria in oat-based, non-dairy products. *Food Research International*. 35 (8). 775-784.
- Mati, A., Senoussi-Ghezali, C., Si Ahmed Zennia, S., Almi-Sebbane, D., El-Hatmi, H., Girardet, J. M. 2017. Dromedary camel milk proteins, a source of peptides having biological activities – A review. *International Dairy Journal*. 73. 25-37.
- Matofari, J. W., Shalo, P. L., Younan, M., Nanua, J. N., Adongo, A., Qabale, Misiko, B. N., 2013. Analysis of microbial quality and safety of camel (*Camelus dromedarius*) milk chain and implications in Kenya. *Journal of Agricultural Extension and Rural Development*. 5 (3). 50–54.
- Mehaia, M. A. 1974. A Comparative Study of Milk of Different Dairy Animals. Some Physical Properties. Alexandria University. Egypt.
- Mehaia, M. A., Hablas, M. A., Abdel-Rahman, K. M., El-Mougy, S. A. 1995. Milk composition of Majaheim, Wadah and Hamra camels in Saudi Arabia. *Food Chemistry*. 52. 115-122.
- Miao, J., Xu, M., Guo, H., He, L. E, Gao, X., Dimarco-Crook, Ch., Xiao, H., Cao, Y. 2015. Optimization of culture conditions for the production of antimicrobial substances by probiotic *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* FX-6. *Journal of Functional Foods*. 18. 244-253.
- Ochoa, T. J., Cleary, T. G. 2009. Effect of lactoferrin on enteric pathogens. *Biochimie*. 91. 30-34.
- Odamaki, T., Xiao, J. Z., Yonezawa, S., Yaeshima, Z., Iwatsuki, K. 2011. Improved viability of bifidobacteria in fermented milk by cocultivation with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. *Journal of Dairy Science*. 94 (3). 1112-1121.
- Odongo, N. O., Lamuka, P. O., Matofari, J. W., Abong, G. O. 2016. Risk factors associated with the post-harvest loss of milk along camel milk value chain in Isiolo County, Kenya. *African Journal of Agricultural Research*. 11 (8). 674–682. 25.
- Papagianni, M., Anastasiadou, S. 2009. Pediocins: the bacteriocins of *Pediococci*. Sources, production, properties and applications. *Microbial Cell Factories*. 8. 1–16.

- Paulová, H., Bochořáková, H., Táborská, E. 2004. Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy*. 98. 174-179.
- Rahman, N., Xiaohong, Ch., Meiqin, F., Mingsheng, D. 2009. Characterization of the dominant mikroflóra in naturally fermented camel milk shubat. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 25. 1941-1946.
- Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., Zoon, P. 2002. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Internationa Dairy Journal*. 12. 163-171.
- Saitmuratova, O. Kh., Yakubova, F. T., Sagdiev, N. Zh. 2015. Chemical Composition and Biological Activity of Ver-Mol-2 Camel Milk. *Chemistry of Natural Compounds*. 51(4). 810-812.
- Sanders, J. W., Venema, G., Kok, J. 1999. Environmental stress responses in *Lactococcus lactis*. *FEMS Microbiology Reviews*. 23. 483–501.
- Sangrador-Vegas, A., Stanton, C., van Sinderen, D., Fitzgerald, G. F., Ross, R. P. 2007. Characterization of plasmid pASV479 from *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum* and its use for expression vector construction. *Plasmid*. 58. 140–147.
- Shah, N. P. 2000. Effects of milk-derived bioactives: an overview. *British Journal of Nutrition*. 84(1). 3-10.
- Shori, A. B. 2012. Comparative study of chemical composition, isolation and identification of mikroflora in traditional fermented camel milk products: Gariss, Suusac, and Shubat. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 11(2). 79-88.
- Shori, A. B. 2017. Camel milk and its fermented products as a source of potential probiotic strains and novel food cultures: A mini review. *PharmaNutrition*. 5(3). 84-88.
- Shukla, S., Goyal, A. 2011. 16S rRNA based identification of a glucanhyper-producing *Weissella confusa*. *Enzyme Research*.

- Shukla, S., Shi, Q., Maina, N. H., Juvonen, M., Tenkanen, M., Goyal, A. 2014. *Weissella confusa* Cab3 dextranucrase: Properties and in vitro synthesis of dextran and glucooligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 101. 554-564.
- Singh, M. B., Fotedar, R., Lakshminarayana, J. 2008. Camel milk consumption pattern and its association with diabetes among Raika community of Jodhpur district of Rajasthan. *Ethno-Medicine*. 2. 104-105.
- Tacconi, S., Sgorbati, B., Modesto, M., Biavati, B., Nissen, L., Matterelli, P. 2012. Carbohydrate stress-related response in *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum*. *Annals of Microbiology*. 62(4). 1751-1756.
- Watanabe, K., Makino, H., Sasamoto, M., Kudo, Y., Fujimoto, J., Demberel, S. 2009. *Bifidobacterium mongoliense* sp. nov., from airag, a traditional fermented mare's milk product from Mongolia. *International Journal of systematic and evolutionary Microbiology*. 59(6). 1535-1540.
- Zeller-Péronnet, V., Brockmann, E., Pavlovic, M., Timke, M., Busch, U., Huber, I. 2013. Potential and limitations of MALDI-TOF MS for discrimination within the species *Leuconostoc mesenteroides* and *Leuconostoc pseudomesenteroides*. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*. 8. 205–214.
- Ziane, M., Couvert, O., Le Chevalier, P., Moussa-Boudjema, B., Leguerinel, I. 2016. Identification and characterization of aerobic spore forming bacteria isolated from commercial camel's milk in south of Algeria. *Small Ruminant Research*. 137. 59-64.
- Zhao, D. B., Bai, Y. H., Niu, Y. W. 2015. Composition and characteristics of Chinese Bactrian camel milk. *Small Ruminant Research*. 127. 58-67.

9 Seznam tabulek

Tabulka 1 Složení velbloudího mléka velblouda dvouhrbého a jednohrbého v % g/100g (Zhao et al., 2015)	3
Tabulka 2 Teplota tání a tuhnutí tuku mléka velbloudího a mléka skotu °C (Al Haj et Al Kanhal, 2010; Konuspayeva et al., 2009).	7
Tabulka 3 Mikroorganismy izolované z velbloudího mléka.....	21
Tabulka 4 Nově izolované mikroorganismy z velbloudího mléka.....	22
Tabulka 5 Titrační kyselost mléka fermentovaného bakteriemi velbloudího mléka 24 h při teplotě 28-29 °C.....	27
Tabulka 6 Titrační kyselost mléka fermentovaného vzorky 6 a 8 bakterií velbloudího mléka 24 h při teplotě 37 °C.....	28
Tabulka 7 Konečné celkové množství mikroorganismů u vzorku 6 a 8	28
Tabulka 8 Titrační kyselost mléka fermentovaného bakteriemi velbloudího při působení teploty 37 °C 24 hodin a při teplotě 43 °C 4 hodiny	29
Tabulka 9 Přítomnost tyčinek v preparátu z mléčných kultur.....	30
Tabulka 10 Výsledky statistického hodnocení vzorků s bifidobakteriemi.....	30
Tabulka 11 Výsledky statistického hodnocení vzorků s laktobacily.....	31
Tabulka 12 Titrační kyselost fermentovaného mléčného výrobku bakteriemi velbloudího mléka samostatně, se smetanovou kulturou a s jogurtovou kulturou (SH)	32
Tabulka 13 Titrační kyselost (SH) mléčného výrobku fermentovaného bakteriemi velbloudího mléka se smetanovou kulturou	33
Tabulka 14 Výsledky hodnocení profilu – průměr (%)±S.D., hodnoty ve sloupci s různým horním indexem se od sebe statisticky významně liší ($\alpha=0,05$)	34
Tabulka 15 Výsledky pořadové zkoušky vzorků se smetanovou kulturou	37
Tabulka 16 Titrační kyselost (SH) mléčného výrobku fermentovaného bakteriemi velbloudího mléka s jogurtovou kulturou	38
Tabulka 17 Výsledky hodnocení profilu – průměr (%)±S.D., hodnoty ve sloupci s různým horním indexem se od sebe statisticky významně liší ($\alpha=0,05$)	38
Tabulka 18 Výsledky pořadové zkoušky vzorků s jogurtovou kulturou.....	41

10 Seznam grafů

Graf 1 Senzorický profil vzorků s laktobacily a kontrolního vzorku za použití smetanové kultury (grafické lineární orientované nestrukturované stupnice)	35
Graf 2 Senzorický profil vzorků s bifidobakteriemi a kontrolního vzorku za použití smetanové kultury (grafické lineární orientované nestrukturované stupnice)	36
Graf 3 Senzorický profil vzorků s laktobacily a kontrolního vzorku za použití jogurtové kultury (grafické lineární orientované nestrukturované stupnice)	39
Graf 4 Senzorický profil vzorku s bifidobakteriemi a kontrolního vzorku za použití jogurtové kultury (grafické lineární orientované nestrukturované stupnice)	40

11 Seznam zkratk

KTJ/CFU – Kolonie tvořící jednotku

MC1/5W - *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*

MC1/1W/1B - *Bifidobacterium pseudolongum globosum*

CM1/2B - *Bifidobacterium mongoliense*

CM1/3B - *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*

CM1/6B - *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*

CM2/5R - *Lactobacillus plantarum*

C3/5B - *Bifidobacterium crudilactis*

C4/12B- *Bifidobacterium crudilactis*

Přílohy

Příloha 1 Formulář pro senzoricou analýzu

HODNOCENÍ KYSANÉHO MLÉČNÉHO VÝROBKU

Jméno a příjmení:..... **Zdravotní stav:**.....

Datum:..... **Hodina:**.....

Úkol: Ochutnejte předložené vzorky a ohodnoťte je na grafické stupnici.

Číslo vzorku:.....

CELK. PŘÍJEMNOST

CHUTI:

odporná

velmi příjemná

CELK. INTENZITA

CHUTI:

neznatelná

velmi silná

INTENZITA KYSELÉ

CHUTI:

neznatelná

velmi silná

INTENZITA SLADKÉ

CHUTI:

neznatelná

velmi silná

INTENZITA OCTOVÉ

CHUTI:

neznatelná

velmi silná

INTENZITA PACHUTÍ:

neznatelná

velmi silná

CELKOVÁ

PŘIJATELNOST:

zcela nepříjemný

vynikající

Číslo vzorku:.....

CELK. PŘÍJEMNOST

CHUTI:

odporná

velmi příjemná

CELK. INTENZITA

CHUTI:

neznatelná

velmi silná

INTENZITA KYSELÉ

CHUTI:

neznatelná

velmi silná

INTENZITA SLADKÉ

CHUTI:

neznatelná

velmi silná

INTENZITA OCTOVÉ

CHUTI:

neznatelná

velmi silná

INTENZITA PACHUTÍ:

neznatelná

velmi silná

CELKOVÁ

PŘIJATELNOST:

zcela nepříjemný

vynikající

Číslo vzorku:.....

CELK. PŘÍJEMNOST CHUTI:	_____	_____
	odporná	velmi příjemná
CELK. INTENZITA CHUTI:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
INTENZITA KYSELÉ CHUTI:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
INTENZITA SLADKÉ CHUTI:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
INTENZITA OCTOVÉ CHUTI:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
INTENZITA PACHUTÍ:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
CELKOVÁ PŘIJATELNOST:	_____	_____
	zcela nepříjemný	vynikající

Číslo vzorku:.....

CELK. PŘÍJEMNOST CHUTI:	_____	_____
	odporná	velmi příjemná
CELK. INTENZITA CHUTI:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
INTENZITA KYSELÉ CHUTI:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
INTENZITA SLADKÉ CHUTI:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
INTENZITA OCTOVÉ CHUTI:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
INTENZITA PACHUTÍ:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
CELKOVÁ PŘIJATELNOST:	_____	_____
	zcela nepříjemný	vynikající

Číslo vzorku:.....

CELK. PŘÍJEMNOST CHUTI:	_____	_____
	odporná	velmi příjemná
CELK. INTENZITA CHUTI:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
INTENZITA KYSELÉ CHUTI:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
INTENZITA SLADKÉ CHUTI:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
INTENZITA OCTOVÉ CHUTI:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
INTENZITA PACHUTÍ:	_____	_____
	neznatelná	velmi silná
CELKOVÁ PŘIJATELNOST:	_____	_____
	zcela nepříjemný	vynikající

Po ohodnocení všech vzorků, proveďte prosím jejich seřazení podle celkové přijatelnosti od nejlepšího k nejhoršímu:

1. nejlepší vzorek:.....

2.....

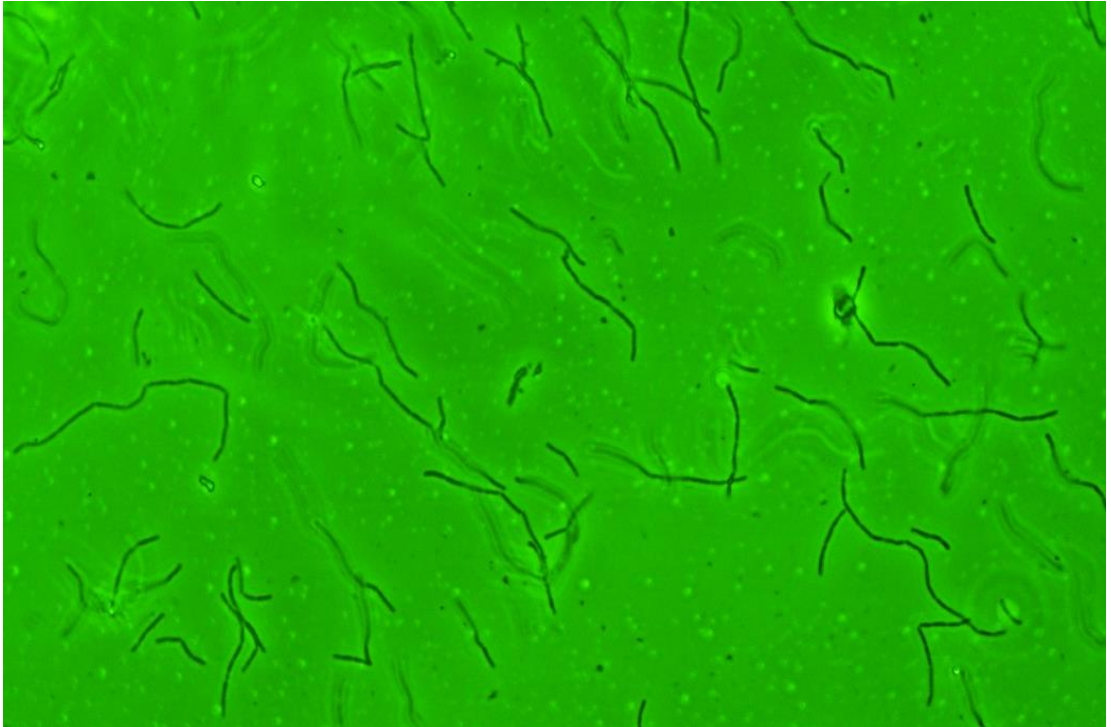
3.....

4.....

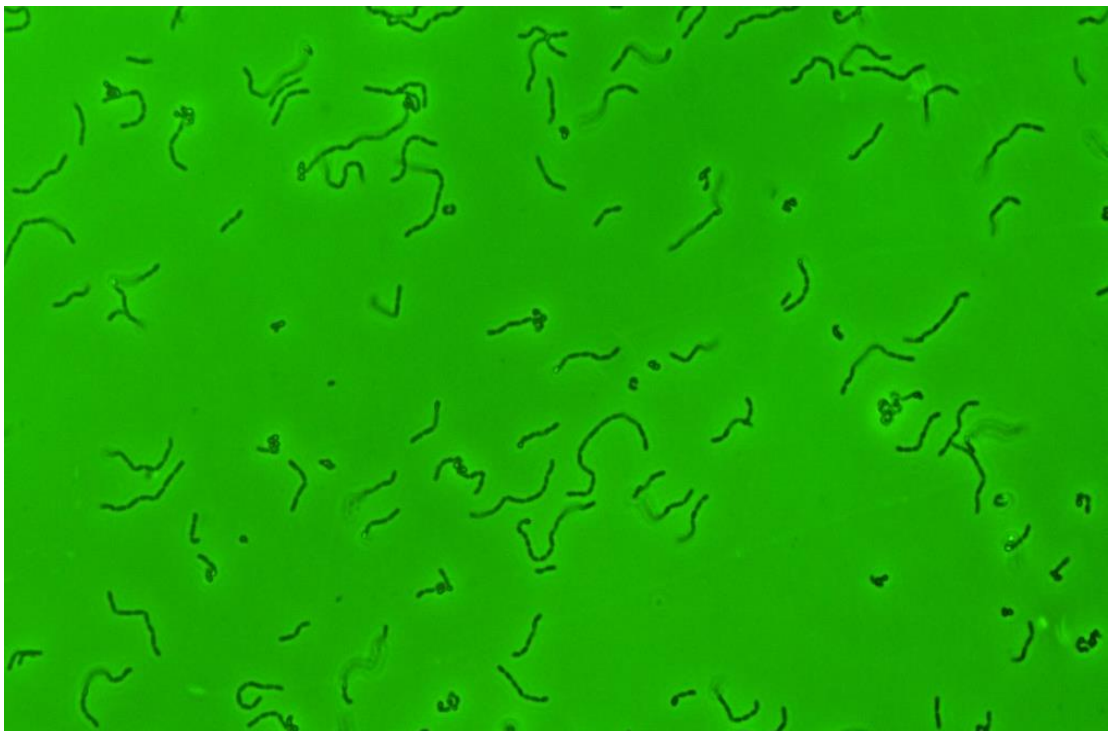
5. nejhorší vzorek:.....

Příloha 2 Obrázky mikroorganismů velbloudího mléka použitých v diplomové práci

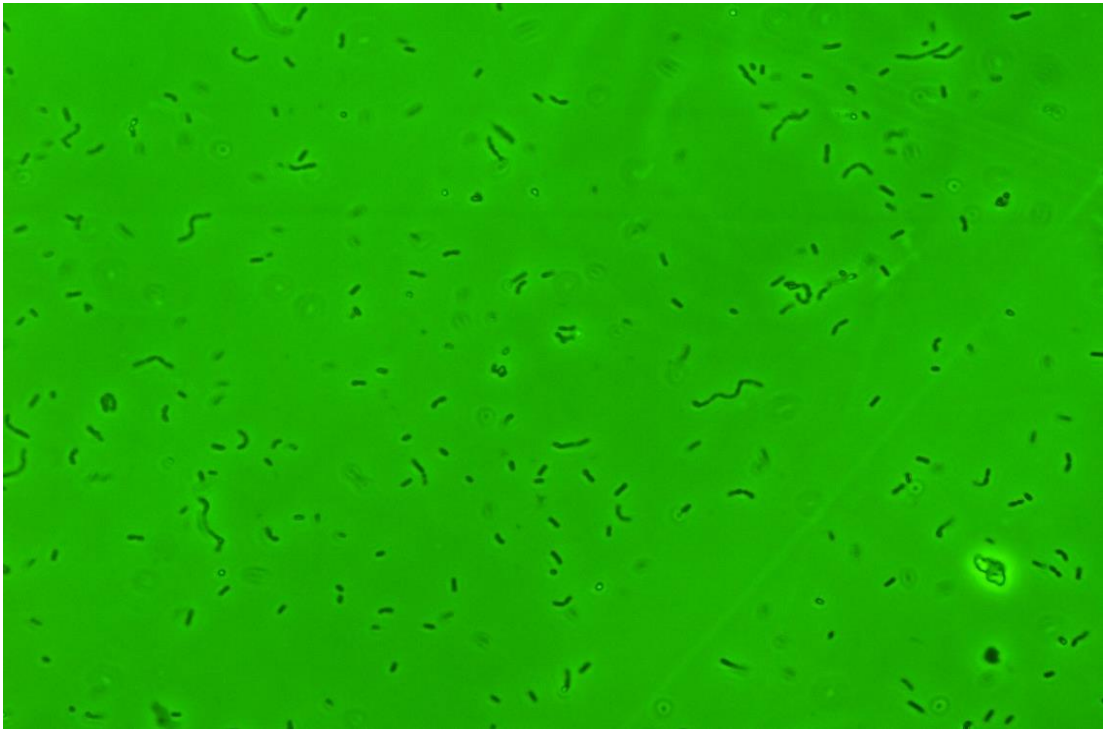
MC1/5W *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*



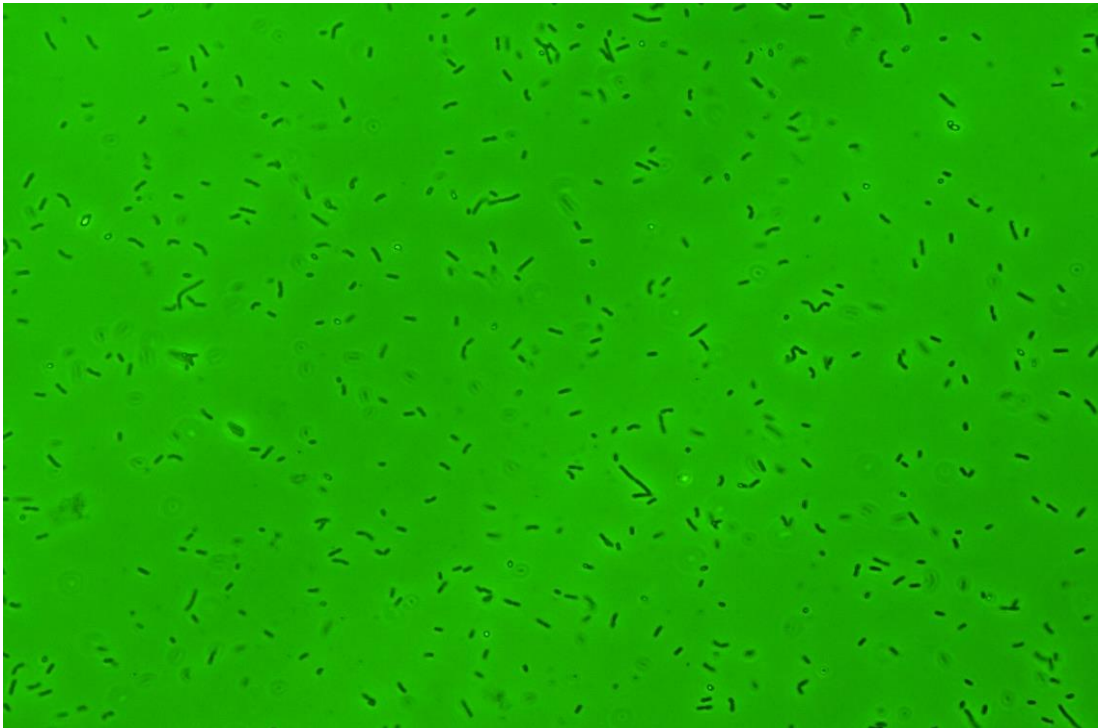
CM1/3B *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*



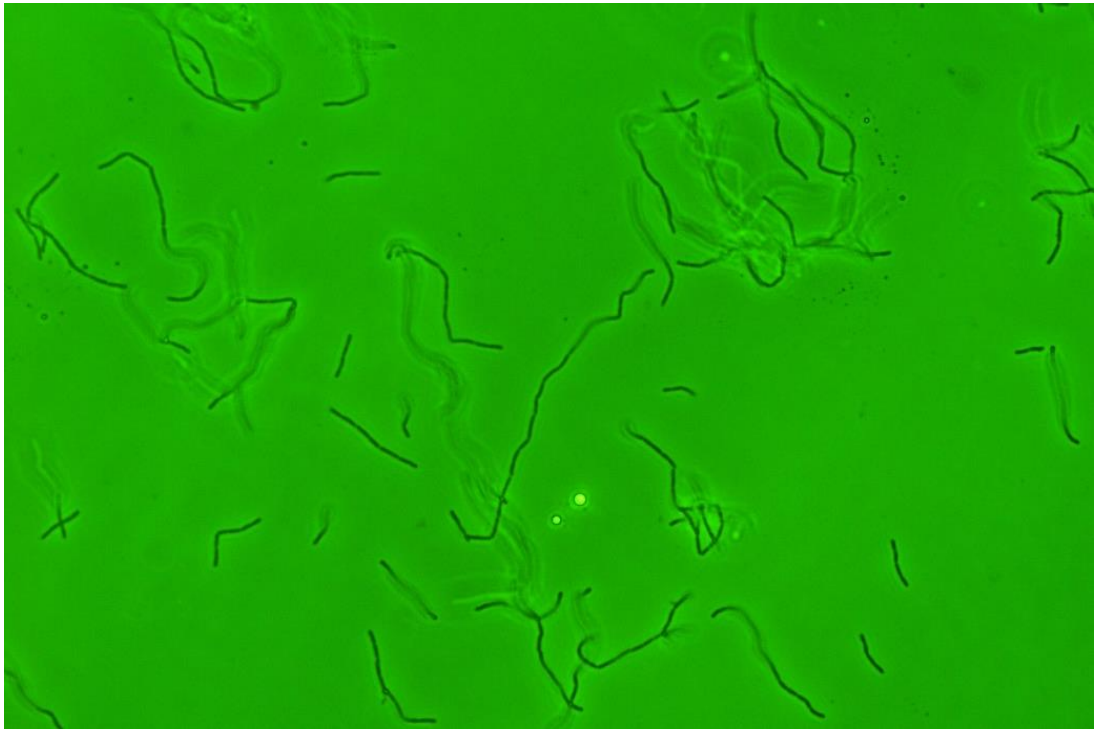
CM1/6B *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*



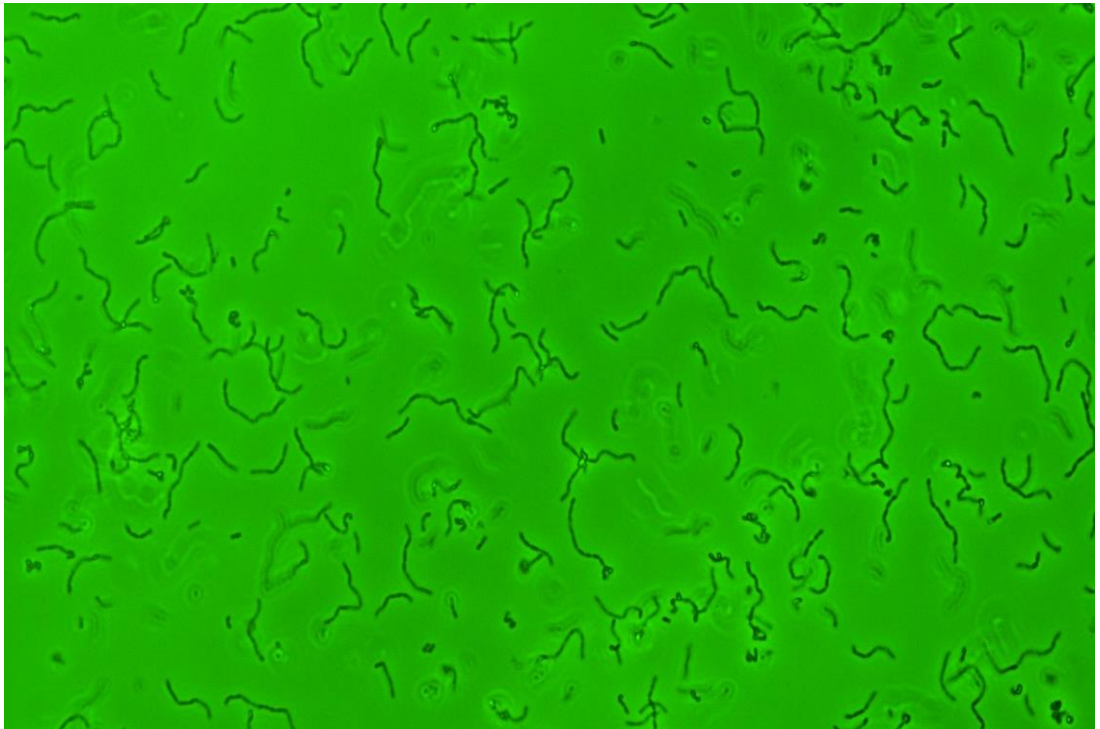
CM2/5R *Lactobacillus plantarum*



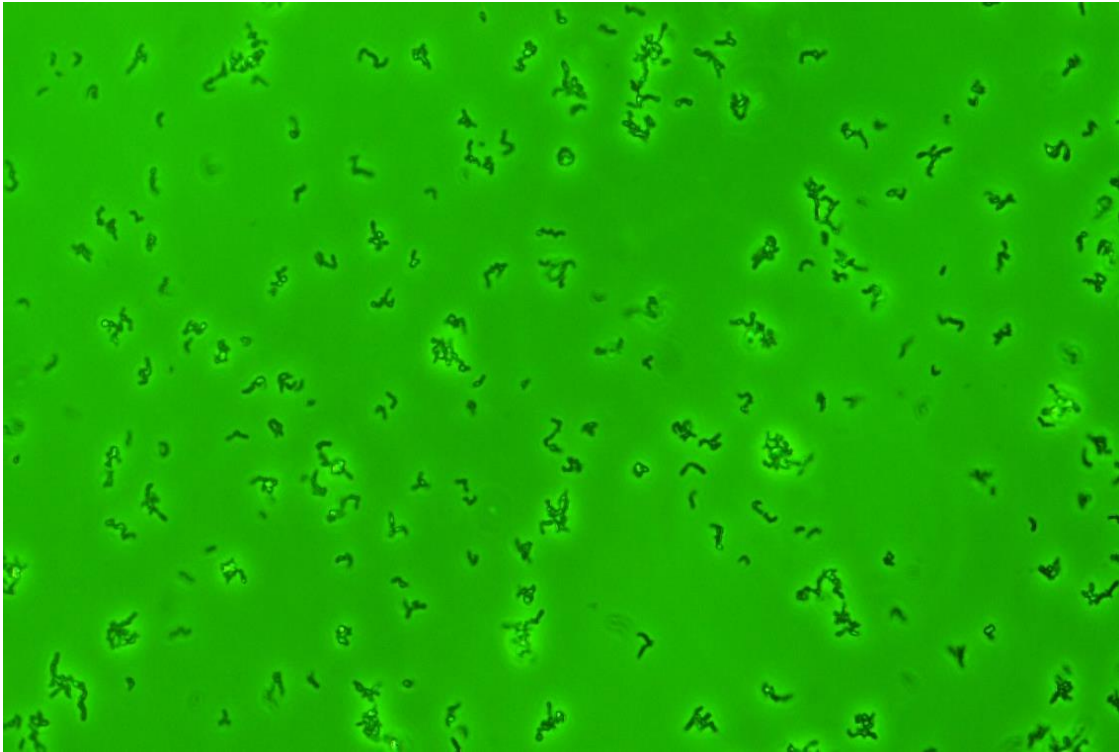
MC1/1W/1B *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *tolerans*



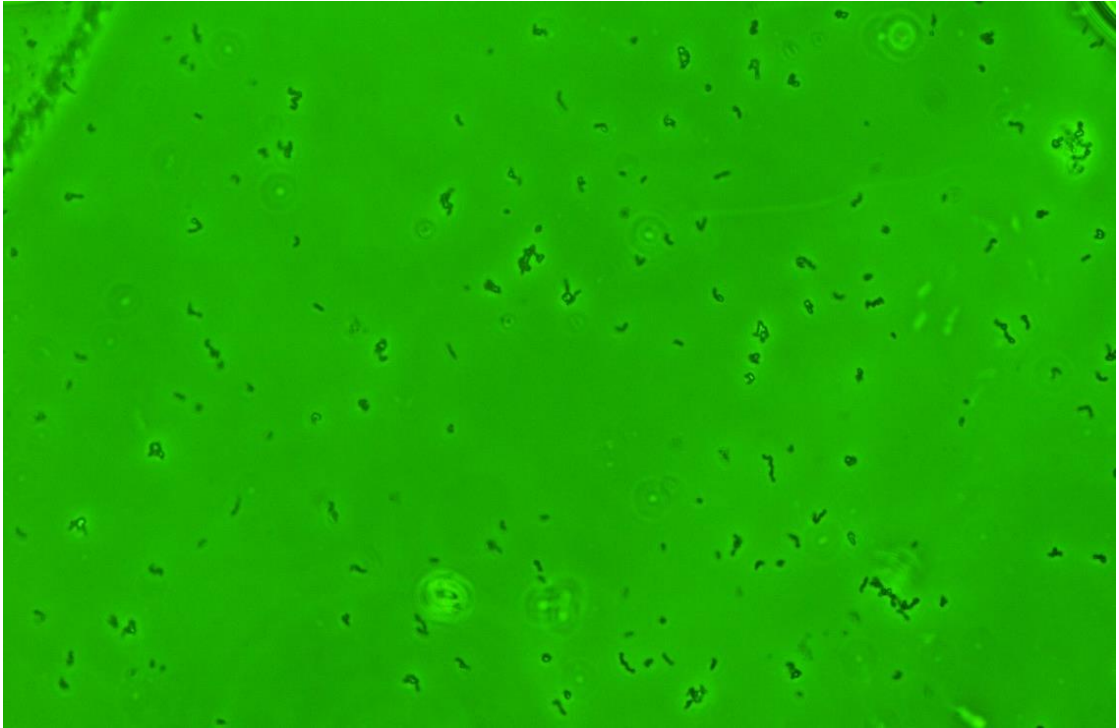
CM1/2B *Bifidobacterium mongoliense*



C3/B5 *Bifidobacterium crudilactis*



C4/B12 *Bifidobacterium crudilactis*



Příloha 3 Detailní výsledky senzoričkého hodnocení profilu

Příloha 3.1 Detailní výsledky senzoričkého hodnocení – smetanová kultura

	Celková příjemnost chuti	Celková intenzita chuti	Intenzita kyselé chuti	Intenzita sladké chuti	Intenzita octové chuti	Intenzita pachuti	Celková přijatelnost
Hodnotitel	A - CM1/3B - <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>						
1.	25	52	41	34	70	50	19
2.	58	65	58	41	26	9	58
3.	42	67	52	36	27	23	24
4.	13	65	32	24	10	35	19
5.	49	65	74	15	48	65	49
6.	37	78	84	14	15	80	37
7.	44	24	40	29	56	4	49
8.	30	65	70	6	25	55	29
9.	35	73	73	19	48	64	29
10.	92	91	19	22	39	4	94
Průměr	42,50	64,50	54,30	24,00	36,40	38,90	40,70
SD	20,38	16,61	20,03	10,45	18,08	26,42	21,88
	B - CM2/5R - <i>Lactobacillus plantarum</i>						
1.	34	68	65	60	59	50	36
2.	63	41	12	22	5	10	52
3.	44	56	48	31	37	42	35
4.	13	64	4	72	38	30	38
5.	38	50	72	19	52	69	41
6.	42	67	76	70	33	78	44
7.	48	11	4	23	38	7	45
8.	25	56	65	10	17	35	24
9.	40	70	72	15	52	63	33
10.	68	49	35	7	46	18	65
Průměr	41,50	53,20	45,30	32,90	37,70	40,20	41,30
SD	15,39	16,68	27,89	23,60	15,66	23,49	10,70

Hodnotitel	Celková příjemnost chuti	Celková intenzita chuti	Intenzita kyselé chuti	Intenzita sladké chuti	Intenzita octové chuti	Intenzita pachuti	Celková přijatelnost
C - C3/B5 - <i>Bifidobacterium crudilactis</i>							
1.	5	89	88	4	90	74	6
2.	32	77	74	21	72	39	35
3.	4	89	90	14	10	88	0
4.	30	55	66	57	22	18	28
5.	25	70	75	15	52	76	21
6.	3	95	90	5	73	83	3
7.	10	55	75	12	76	59	11
8.	11	64	80	9	44	51	15
9.	23	74	73	15	69	74	14
10.	37	67	38	1	42	11	49
Průměr	18,00	73,50	74,90	15,30	55,00	57,30	18,20
SD	12,16	13,36	14,49	15,04	24,27	25,64	14,58
D - C4/B12 - <i>Bifidobacterium crudilactis</i>							
1.	17	74	74	23	77	69	10
2.	49	73	64	60	18	15	48
3.	14	83	87	5	100	91	0
4.	13	90	30	90	50	65	29
5.	21	67	66	10	50	75	18
6.	2	98	95	2	96	92	1
7.	58	52	65	23	62	59	34
8.	19	55	76	19	41	55	18
9.	25	71	65	21	65	71	21
10.	40	79	64	0	0	17	42
Průměr	25,80	74,20	68,60	25,30	55,90	60,90	22,10
SD	16,71	13,57	16,38	27,00	29,95	25,16	15,40

Hodnotitel	Celková příjemnost chuti	Celková intenzita chuti	Intenzita kyselé chuti	Intenzita sladké chuti	Intenzita octové chuti	Intenzita pachuti	Celková přijatelnost
	E - Kontrola						
1.	66	57	51	52	3	3	84
2.	52	49	27	42	18	3	50
3.	41	63	54	22	18	11	36
4.	60	53	14	62	0	4	67
5.	75	62	61	54	25	15	70
6.	47	75	82	59	54	51	52
7.	81	0	30	49	0	62	86
8.	52	50	58	20	14	15	60
9.	72	72	71	8	9	8	73
10.	54	43	12	9	32	10	65
Průměr	60,00	52,40	46,00	37,70	17,30	18,20	64,30
SD	12,41	19,93	22,75	19,81	15,83	19,75	14,66

Příloha 3.2 Detailní výsledky senzoričkého hodnocení – jogurtová kultura

	Celková příjemnost chuti	Celková intenzita chuti	Intenzita kyselé chuti	Intenzita sladké chuti	Intenzita octové chuti	Intenzita pachuti	Celková přijatelnost
Hodnotitel	A - CM1/3B - <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>						
1.	30	69	76	11	65	62	16
2.	46	99	91	49	60	67	29
3.	34	66	66	31	55	56	31
4.	61	46	44	2	4	5	47
5.	4	79	95	7	44	94	2
6.	45	57	68	34	57	34	53
7.	40	76	85	19	24	15	42
8.	63	74	74	0	0	40	55
9.	46	71	87	11	68	33	61
10.	42	86	92	0	25	32	24
Průměr	41,10	72,30	77,80	16,40	40,20	43,80	36,00
SD	15,78	13,93	14,84	15,76	23,91	68,78	17,91
	B - CM2/5R - <i>Lactobacillus plantarum</i>						
1.	17	76	76	19	70	74	17
2.	19	95	88	28	66	67	22
3.	33	66	66	25	53	53	27
4.	19	63	94	1	3	1	26
5.	4	93	92	3	21	47	1
6.	43	42	53	34	52	30	52
7.	32	81	82	17	46	24	33
8.	54	59	64	1	0	39	63
9.	37	80	76	6	61	73	45
10.	44	72	71	0	25	32	24
Průměr	30,20	72,70	76,20	13,40	39,70	44,00	31,00
SD	14,46	14,50	12,48	12,11	24,33	43,57	17,12

	Celková příjemnost chuti	Celková intenzita chuti	Intenzita kyselé chuti	Intenzita sladké chuti	Intenzita octové chuti	Intenzita pachuti	Celková přijatelnost
C - C3/B5 - <i>Bifidobacterium crudilactis</i>							
1.	9	82	82	12	72	72	10
2.	8	89	88	48	100	76	5
3.	28	85	84	12	52	79	8
4.	2	79	92	2	65	75	3
5.	15	88	95	8	76	74	4
6.	35	69	56	51	50	54	43
7.	13	79	82	9	64	25	21
8.	61	79	81	22	19	33	38
9.	39	66	73	30	55	66	49
10.	51	76	85	0	87	35	57
Průměr	26,10	86,30	81,80	19,40	64,00	58,90	23,80
SD	18,93	7,10	10,37	17,21	21,17	19,55	19,83
D - C4/B12 - <i>Bifidobacterium crudilactis</i>							
1.	20	74	81	13	64	65	12
2.	7	88	91	54	94	75	14
3.	28	74	73	17	53	62	19
4.	3	51	67	1	42	65	8
5.	12	75	95	4	59	60	15
6.	56	47	37	45	17	33	58
7.	29	70	82	23	43	11	28
8.	69	69	70	7	4	43	60
9.	53	60	61	41	55	39	50
10.	57	76	87	0	6	21	62
Průměr	33,40	68,40	74,40	20,50	43,70	47,40	32,60
SD	22,42	11,76	16,17	18,63	26,65	20,18	21,11

	Celková příjemnost chuti	Celková intenzita chuti	Intenzita kyselé chuti	Intenzita sladké chuti	Intenzita octové chuti	Intenzita pachuti	Celková přijatelnost
E - Kontrola							
1.	20	75	79	11	57	69	18
2.	24	87	74	15	57	46	46
3.	30	73	67	20	63	71	29
4.	30	58	77	2	2	2	48
5.	24	77	71	30	40	76	25
6.	60	51	52	47	25	24	56
7.	25	49	82	6	37	11	24
8.	48	84	85	0	0	40	42
9.	58	54	81	14	66	53	39
10.	67	58	78	0	2	1	60
Průměr	38,60	66,60	74,60	14,50	34,90	39,30	38,70
SD	16,84	13,41	9,07	14,10	24,99	27,13	13,53

Příloha 4 Příspěvek do sborníku

Diplomová práce byla prezentována na konferenci Mléko a sýry na VŠCHT v Praze, ze které byl zpracován níže uvedený příspěvek do sborníku.

Růst bakterií izolovaných z velbloudího mléka v mléce kravském

Modráčková Nikol, Kouřimská Lenka, Vlková Eva, Mekadim Chahrazed, Melicharová Barbora, Killer Jiří

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Česká zemědělská univerzita v Praze

Growth of bacteria isolated from camel milk in cow milk

Summary:

Camel is a hornbeam that is used for farming, for sports and transport purposes. It is an important producer of nutritionally balanced camel milk, which is a possible source of potential probiotic bacteria. The aim of the study was to find out whether bacteria isolated from Algerian camel milk (*Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum*, *Bifidobacterium mongoliense*, *Bifidobacterium crudilactis*) are able to ferment cow milk. The identified camel bacterial strains were inoculated into 10% reconstituted cow milk alone or in combination with yoghurt or mesophilic starter culture. Their growth capacity was monitored using plate method on selective culture media. Most camel strains were able to ferment cow milk and their numbers ranged between 7 and 8 log CFU/ml. Growth of the *Bifidobacterium crudilactis* strains was enhanced by co-cultivation with mesophilic culture. On the contrary, yoghurt bacteria inhibited the growth of *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum* and *Bifidobacterium mongoliense*, as well as, mesophilic culture did not support the growth of *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*. The experiment was accompanied by sensory analysis of fermented milk containing camel strains together with mesophilic starter cultures using the sensory profile and the sequence examination. It has been proven, that the results indicate a negative influence of the camel isolates on the sensory quality of the products. Nevertheless, some of the tested camel strains exhibit appropriate technological properties and they could be usable as potentially probiotic strains. The functional properties will be tested.

Úvod

Velbloud je sudokopytník, který má velmi významný socioekonomický potenciál v suchých a polosuchých oblastech světa. Je chován pro hospodářské účely a je často využíván jako dopravní prostředek a mnohdy také ke sportovním účelům. Celkové počty kusů všech velbloudů k roku 2013 jsou odhadovány na 25,89 milionů kusů. Rod *Camelus* lze rozdělit na dva druhy v procentuálním poměru z celkových stavů 89:11. Více zastoupený je *Camelus dromedarius* (velbloud jednohrbý) žijící v suchých a polosuchých oblastech, mající subtilnější typ postavy s dlouhými končetinami a kratší srstí. Méně chován je *Camelus bactrianus* (velbloud dvouhrbý) žijící v chladnějších horských oblastech, mající mohutnější postavu s kratšími končetinami s kratší a hustší srstí¹. Podle statistických údajů je světová roční produkce velbloudího mléka 5,3 milionů tun, z čehož 1,3 milionů tun je využito k výživě lidí. Zbylé 4 miliony tun mléka jsou spotřebovány velbloudími telaty². Vysoký význam chovu velbloudů je ve venkovských oblastech Afriky, Asie a Středního východu, kde je omezená zemědělská produkce v přímé souvislosti s vysokými teplotami a malým množstvím srážek. V těchto místech je velkou výhodou chovu skromná spotřeba potravy velbloudy². Průměrná denní produkce velbloudího mléka je v rozmezí 3–10 litrů, s čímž souvisí vyšší cena této komodity, oproti ceně mléka kravského. Promyšlenou krmnou dávkou, zvýšeným přísunem vody a vhodnou veterinární péčí lze dosáhnout vyšší produkce mléka^{2,3}. Velbloudí mléko je přezdíváno jako „bílé zlato z pouště“, a to hlavně z důvodu vyváženého obsahu všech základních živin, vysoké nutriční hodnoty a snadné stravitelnosti. Svým složením je více podobné mléku mateřskému a obsahuje také menší množství β -kaseinu a β -laktoglobulinů, s čímž je spojován nižší alergenní potenciál vzhledem ke kravskému mléku. Pro nižší koncentraci κ -kaseinu není velbloudí mléko zpracováváno na sýry z důvodu snížené syřitelnosti při koagulaci chymosinových syřidlem. V současné době bylo velbloudí mléko spojováno s antidiabetickým a imunostimulačním účinkem, zároveň je jeho podávání doporučeno jako podpůrná terapie při průjemových onemocněních^{4,5,6}.

V Alžírsku ležícím v severní části Afriky na pobřeží Středozemního moře je roční spotřeba mléka na osobu 115 litrů. Na základě geografické pozice jsou známy preference různých druhů mlék – v jižní části země a s pouštním způsobem života je preferováno velbloudí a kozí mléko, zatímco v severní části země je preference mléka kravského². V současné době jsou stále popisovány nové kmeny a druhy mikroorganismů izolované z různých ekologických stanovišť jako jsou tradiční fermentované produkty, gastrointestinální trakt lidí a zvířat, ale také mléko. Potenciálně probiotické kmeny musí být fenotypově a genotypově charakterizovány a musí být

také otestovány jejich funkční a technologické vlastnosti, včetně bezpečnosti. Jednou z takových vlastností je schopnost prokysávat kravské mléko a schopnost v něm přežít^{7,8}.

Cíl práce

Cílem této práce bylo izolovat a identifikovat bakterie z velbloudího mléka pocházejícího z jihozápadní části Sahary v Alžírsku a otestovat schopnost jejich růstu v mléce kravském, a to buď samostatně, či v kombinaci se smetanovou, nebo jogurtovou kulturou. Dalším cílem bylo provedení senzorické analýzy zákysů kravského mléka s přidavkem vybraných kmenů vyizolovaných bakterií velbloudího mléka.

Materiál a metody

První fází pokusu byla izolace bakterií z velbloudího mléka. Velbloudí mléko bylo odebráno ze čtyř různých velbloudích farem v jihozápadní části Sahary, odkud bylo převezeno do Oranu, a poté bylo přepraveno na Katedru mikrobiologie, výživy a dietetiky (ČZU v Praze). Vzorky velbloudího mléka byly podrobeny klasickému mikrobiologickému rozboru deskovou metodou užitím neselektivního média (Wilkins-Chalgren Anaerobe Agar se sójovým peptonem; Oxoid, UK) a selektivních medií pro růst bifidobakterií (Wilkins-Chalgren Anaerobe Agar se sójovým peptonem (Oxoid, UK), octovou kyselinou a mupirocinem) a laktobacilů (Rogosa Agar (Oxoid, UK) s octovou kyselinou). Narostlé kolonie byly izolovány, kultivovány a poté identifikovány až na úroveň druhu/poddruhu pomocí sekvenace genu pro 16S rRNA.

Pro testování schopnosti růstu izolovaných kmenů v kravském mléce byly vybrány kmeny s probiotickým potenciálem – 3 kmeny *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, 1 kmen *Lactobacillus plantarum*, 1 kmen *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum*, 1 kmen *Bifidobacterium mongoliense* a 2 kmeny *Bifidobacterium crudilactis*. Vybrané kmeny byly zaočkovány do 10% rekonstituovaného odstředěného kravského mléka (Mlékárna Opočno; Bohemilk, a. s.) buď samostatně, nebo v kombinaci se smetanovou kulturou (Laktoflora; Milcom, a. s.), nebo jogurtovou kulturou (Laktoflora; Milcom, a. s.). Laktobacily byly inokulovány v 2% a bifidobakterie v 5% koncentraci. Po kultivaci (samostatné při 37 °C/24 hodin; se smetanovou kulturou při 22 °C/20 hodin; s jogurtovou kulturou při 37 °C/24 hodin) byla ověřena schopnost růstu potenciálně probiotických kmenů deskovou metodou použitím selektivních medií pro bifidobakterie a laktobacily. Testování schopnosti růstu s jogurtovou kulturou bylo provedeno při 37 °C, protože při 45 °C nebyly vybrané kmeny schopny růstu.

Na základě testování schopnosti růstu v kravském mléce byly vybrány 4 kmeny bakterií pro senzorickou analýzu se smetanovou kulturou. *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Lactobacillus plantarum* a 2 kmeny *Bifidobacterium crudilactis* vykazovaly dobrou růstovou schopnost v kravském mléce spolu se smetanovou kulturou a zároveň také kysací schopnost

ověřenou titrační kyselostí vyjádřenou SH. Při sensorickém hodnocení byla použita metoda sensorického profilu (ISO 13299:2016) využívající grafickou lineární orientovanou nestrukturovanou stupnici pro záznam hodnocení daného vzorku ve sledovaných vlastnostech celková příjemnost chuti, celková intenzita chuti, intenzita kyselé chuti, intenzita sladké chuti, intenzita octové chuti, intenzita pachuti a celková přijatelnost. Dílčí metodou sensorické analýzy byla pořadová zkouška (ISO 8587:2006) s vyhodnocením dle Friedmana.

Výsledky a diskuze

Velbloudí mléko je zdrojem řady mikroorganismů. U marockého dromedára byly například nalezeny druhy *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus casei* a *Lactobacillus plantarum*^{9, 10}. Ze čtyř testovaných vzorků velbloudích mlék z Alžírsko byly pomocí molekulárněgenetických metod identifikovány rody *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* a *Enterococcus*. V tabulce I jsou dále testované bakterie, které byly zidentifikovány na úroveň druhu/poddruhu.

Tabulka I Izolované a identifikované bakterie z velbloudího mléka

VZORKY	IZOLÁTY	IDENTIFIKACE (sekvenace genu pro 16S rRNA)
Velbloudí mléko 1	MC1/5W	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
	MC1/1W/1B	<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> subsp. <i>globosum</i>
	CM1/2B	<i>Bifidobacterium mongoliense</i>
	CM1/3B	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
	CM1/6B	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>
Velbloudí mléko 2	CM2/5R	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Velbloudí mléko 3	C3/5B	<i>Bifidobacterium crudilactis</i>
Velbloudí mléko 4	C4/12B	<i>Bifidobacterium crudilactis</i>

Potenciálně probiotické bakterie – 3 kmeny *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, 1 kmen *Lactobacillus plantarum*, 1 kmen *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum*, 1 kmen *Bifidobacterium mongoliense* a 2 kmeny *Bifidobacterium crudilactis* byly testovány na schopnost růstu v kravském mléce, buď samostatně, nebo v kombinaci se smetanovou, či jogurtovou kulturou. Růst laktobacilů v jogurtové kultuře nebyl testován z důvodu obtížnějšího odlišení velbloudích laktobacilů od laktobacilů, které jsou součástí jogurtové kultury. V tabulce II jsou uvedeny výsledné počty bakterií po kultivaci na selektivních médiích umožňujících kvantifikaci laktobacilů a bifidobakterií.

Tabulka II Výsledky kultivace bakterií izolovaných z velbloudího mléka

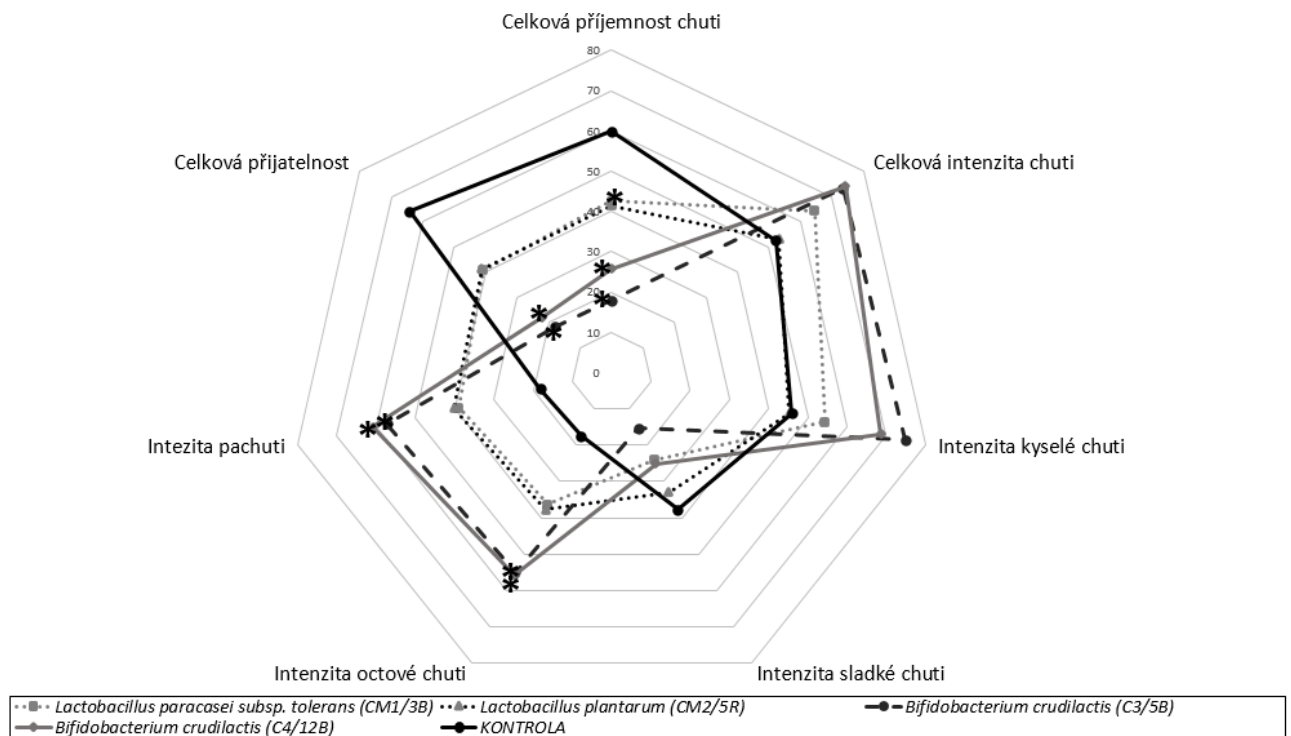
KMEN		Růst v KM	Růst v KM + smetanová kultura	Růst v KM + jogurtová kultura
MC1/5W	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	< 2	< 2	Netestováno
CM1/3B	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	8,93 ± 0,09 ^A	8,00 ± 0,24 ^B	
CM1/6B	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	8,54 ± 0,21 ^A	7,45 ± 0,14 ^B	
CM2/5R	<i>Lactobacillus plantarum</i>	7,45 ± 0,45 ^A	7,63 ± 0,21 ^A	
MC1/1W/1B	<i>Bifidobacterium pseudolongum</i> subsp. <i>globosum</i>	7,64 ± 0,48 ^A	0,93 ± 1,31 ^B	0,97 ± 1,36 ^B
CM1/2B	<i>Bifidobacterium mongoliense</i>	8,33 ± 0,13 ^A	5,64 ± 0,12 ^B	5,85 ± 0,16 ^B
C3/5B	<i>Bifidobacterium crudilactis</i>	7,98 ± 0,05 ^A	8,75 ± 0,45 ^B	< 2
C4/12B	<i>Bifidobacterium crudilactis</i>	7,87 ± 0,03 ^A	8,29 ± 0,32 ^B	< 2

Poznámka: KM = kravské mléko. Hodnoty jsou uvedeny v log KTJ/ml ± směrodatná odchylka ze tří opakování. Jednotlivé hodnoty v řádcích s odlišným horním indexem se od sebe statisticky významně liší na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($P < 0,05$).

Většina velbloudích kmenů byla schopna fermentovat kravské mléko, s výjimkou jednoho kmene *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, zbylé dva kmény rostly samostatně signifikantně lépe než v kombinaci se smetanovou kulturou. Oproti tomu kmen *B. crudilactis* rostl v obou případech samostatně signifikantně hůře než v kombinaci se smetanovou kulturou, což mohlo být způsobeno produkcí metabolitů smetanové kultury^{11,12}, které pravděpodobně stimulují růst tohoto kmene. Nicméně při společné kultivaci s jogurtovou kulturou naopak nebyl schopen tento kmen růstu. Při testování schopnosti růstu bifidobakterií v odstředěném kravském mléce bylo zjištěno, že bifidobakterie signifikantně lépe rostly samostatně oproti růstu v kravském mléce v kombinaci s jogurtovou kulturou¹³. Jogurtová kultura totiž vykazuje velmi rychlou růstovou schopnost, zatímco bifidobakterie rostou v kravském mléce pomaleji, čímž byl pravděpodobně jejich růst potlačen. Kmeny *Bifidobacterium pseudolongum* subsp. *globosum* a *Bifidobacterium mongoliense* rostly také samostatně signifikantně lépe v kravském

mléce oproti růstu v kombinaci se smetanovou a jogurtovou kulturou. Již při dřívějším testování byla detekována dobrá růstová schopnost bifidobakterií v kravském mléce¹⁴.

Po kultivačním stanovení počtu bakterií detekovaných ve vzorcích velbloudího mléka byly vybrány čtyři kmeny bakterií s prokazatelnou schopností růstu v kravském mléce – 1 kmen *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, 1 kmen *Lactobacillus plantarum* a 2 kmeny *Bifidobacterium crudilactis* – pro sensorickou analýzu smetanových zákysů. Vyhodnocení metody sensorického profilu je zobrazeno na pavučinovém grafu, v jehož vrcholech jsou hodnocené vlastnosti daného výrobku. Na obrázku 1 je znázorněno hodnocení zákysů s testovanými kmeny *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Lactobacillus plantarum* a dvěma kmeny *Bifidobacterium crudilactis* vzhledem ke kontrole na hladině významnosti $\alpha=0,05$. Kontrola byla připravena za stejných podmínek kultivací smetanové kultury v kravském mléce bez přídavku bifidobakterií a laktobacilů.



Obr. 1: Souhrnný pavučinový graf (metoda sensorického profilu). Porovnání všech vybraných kmenů *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Lactobacillus plantarum* a 2 kmenů *Bifidobacterium crudilactis* vzhledem ke kontrole pomocí analýzy rozptylu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($P < 0,05$). * znamená statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ nebyly detekovány žádné statisticky významné rozdíly kmenů *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* a *Lactobacillus plantarum* oproti kontrole, zatímco

u obou kmenů *Bifidobacterium crudilactis* v hodnocených parametrech celková příjemnost chuti, intenzita octové chuti, intenzita pachuti a celková přijatelnost statisticky významné rozdíly vzhledem ke kontrole detekovány byly. Tyto signifikantní rozdíly byly nicméně sensoricky negativně vnímány. Bifidobakterie totiž produkují octovou a mléčnou kyselinu v poměru 3:2¹⁵, a tudíž lze nepříznivé ovlivnění chuti předpokládat. Stejně tak laktobacily svým heterofermentativním typem metabolismu produkují kromě mléčné kyseliny také octovou kyselinu, oxid uhličitý a ethanol¹⁶, s čímž by rovněž mohlo být spojováno negativní ovlivnění sensorických vlastností produktů, do nichž byly laktobacily přidány. Právě z těchto důvodů je v mlékárenském průmyslu při technologii výroby probiotických výrobků přidáváno až finální množství používaných probiotických kmenů, aby nedošlo k nepříznivému ovlivnění sensorických vlastností. Pokud by námi testované kmeny vykazovaly funkční probiotické vlastnosti, byl by pravděpodobně modifikován technologický postup právě tímto způsobem. Je zajímavé, že analýzou rozptylu všech testovaných vzorků spolu s kontrolou byl detekován ještě další statisticky významný rozdíl v parametru celkové příjemnosti chuti mezi kmeny *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* a *Bifidobacterium crudilactis*.

Vyhodnocením pořadové zkoušky pomocí Friedmanova testu byly potvrzeny výsledky analýzy rozptylu. Oba kmeny *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* se statisticky významně nelišily od kontroly, zatímco u obou kmenů *Bifidobacterium crudilactis* byly detekovány statisticky významné rozdíly.

Závěr

Velbloudí mléko je zdrojem potenciálně probiotických bakterií. Většina z testovaných kmenů vykazovala schopnost samostatného růstu v kravském mléce. V kombinaci se základními mlékařskými kulturami (smetanová a jogurtová kultura) byl jejich růst spíše potlačován. Stimulace růstu v kombinaci se smetanovou kulturou byla detekována pouze u kmenů *B. crudilactis*. Velbloudí kmeny bakterií sensoricky negativně ovlivnily finální výrobek, a proto by bylo vhodnější je při jejich případném přidávání do mléčných výrobků inokulovat až ve finální koncentraci. Funkční vlastnosti velbloudích kmenů budou testovány.

Poděkování:

Tento výzkum byl podpořen s grantem MŠMT ČR.

Použitá literatura:

1. FARAH, Z. Composition and characteristics of camel milk. *Journal of Dairy Research*, 1993, vol. 60, no. 4, s. 603–626.
2. MEKADIM, C., KOUŘIMSKÁ, L., RADA, V. Velbloudí mléko a další mléčné produkty Alžírsko. *Potravinářská revue*, roč. 2017, č. 2, s. 14–16.
3. YAGIL, R. *Camels and camel milk*. Rome: FAO Animal Production and Health Paper,

- Publications Division, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1982. M-21. ISBN 92-5-101169-9.
4. SHABO, Y., BARZEL, R., MARGOULIS, M., YAGIL, R. Camel milk for food allergies in children. *Immunology and Allergies*, 2005, vol. 7, no. 12, s. 796–798.
 5. SAWAYA, W. N., KHALIL, J. K., AL-SHALHAT, A., AL-MOHAMMAD, H. Chemical composition and nutritional quality of camel milk. 1984, *Journal of Food Science*, vol. 49, no. 3, 744–747.
 6. MEKADIM, C., KOUŘIMSKÁ, L. Velbloudí mléko. Chemické složení a nutriční hodnota mléka velblouda jednohřbého chovaného v Alžírsku. *Potravinářská revue*, 2017, roč. 2017, č. 5, s. 22–23.
 7. FONTANA, L., BERMUDEZ-BRITO, M., PLAZA-DIAZ, J., MUNOZ-QUEZADA, S., GIL, A. Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *British Journal of Nutrition*, 2013, vol. 109, no. 2, s. 35–50.
 8. BANWO, K., SANNI, A., TAN, H. Technological properties and probiotic potential of *Enterococcus faecium* strains isolated from cow milk. *Journal of Applied Microbiology*, 2013, vol. 114, no. 1, s. 229–241.
 9. KHEDID, K., FAID, M., MOKHTARI, A., SOULAYMANI, A., & ZINEDINE, A. Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco. *Microbiological research*, 2009, vol. 164, no. 1, s. 81–91.
 10. YATEEM, A., BALBA, M. T., AL-SURRAYAI, T., AL-MUTAIRI, B., AL-DAHER, R. Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *International Journal of Dairy Science*, 2008, vol. 3, no. 4, s. 194–199.
 11. NEVES, A. R., POOL, W. A., KOK, J., KUIPERS, O. P., SANTOS, H. Overview on sugar metabolism and its control in *Lactococcus lactis*—the input from *in vivo* NMR. *FEMS microbiology reviews*, 2005, vol. 29, no. 3, s. 531–554.
 12. COGAN, T. M. Co-metabolism of citrate and glucose by *Leuconostoc* spp.: effects on growth, substrates and products. *Journal of Applied Microbiology*, 1987, vol. 63, no. 6, s. 551–558.
 13. SAMONA, A., ROBINSON, R. K. Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. *International Journal of Dairy Technology*, 1994, vol. 47, no. 2, s. 58–60.
 14. ROČKOVÁ, Š., RADA, V., HAVLIK, J., ŠVEJSTIL, R., VLKOVÁ, E., BUNEŠOVÁ, V., PROFOUSOVÁ, L. Growth of bifidobacteria in mammalian milk. *Czech Journal of Animal Science*, 2013, vol. 58, no. 3, s. 99–105.
 15. AMARETTI, A., BERNARDI, T., TAMBURINI, E., ZANONI, S., LOMMA, M., MATTEUZZI, D., ROSSI, M. Kinetics and metabolism of *Bifidobacterium adolescentis* MB 239 growing on glucose, galactose, lactose, and galactooligosaccharides. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, vol. 73, no. 11, s. 3637–3644.
 16. HAMMES, W. P., VOGEL, R. F. The genus *Lactobacillus*. The genera of lactic acid bacteria Springer, Boston, MA, 1995. s. 19–54. ISBN 978-1-4615-5817-0.

Kontaktní adresa:

Ing. Nikol Modráčková, Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýcká 129, 165 00, Praha 6 – Suchbátka. modrackova@af.czu.cz