

VYHODNOCENÍ ÚLOHY STANOVENÍ REZIDUÍ INHIBIČNÍCH LÁTEK V MLÉCE

DAVID ŠILHA
IVETA BROŽKOVÁ

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko–technologická
Katedra biologických a biochemických věd

*Centralizovaný rozvojový projekt MŠMT č. C29:
„Integrovaný systém vzdělávání v oblasti výskytu a eliminace reziduí léčiv v
životním prostředí“*



Vyučující:

Ing. Iveta Brožková, Ph.D.

Ing. David Šilha

Katedra biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko–technologická, Univerzita Pardubice

Enzymatické zkoušky – reduktázová zkouška

Vyhodnocení:

Je-li mléko odbarveno ze dvou třetin, pokládáme test za skončený (povrchová vrstva zůstává modrá proto, že redukovaná modř je opět oxidována vzdušným kyslíkem). Doba do odbarvení methylenové modři vyjadřuje kvalitu mléka a hodnocení se provádí dle níže uvedené

Tabulky 1.

Tabulka 1 Reduktázová zkouška – vyhodnocení kvality mléka

Doba odbarvení (h)	Jakost mléka	Orientační počet mikroorganismů (CFU/ml)
≥ 5	dobrá	$1-2 \cdot 10^5$
2–4	vyhovující	$2 \cdot 10^{5-6}$
< 2	špatná	$2 \cdot 10^{6-7}$

Enzymatické zkoušky – kvasná zkouška

Vyhodnocení:

Dle vzhledu sraženiny orientačně usuzujeme na kvalitu mléka.

- I. Sraženina celistvá, porcelánovitá, obsahuje 1–2 bublinky nebo jejich svislou stopu. Charakter sraženiny tak svědčí o převážném zastoupení bakterií mléčného kysání.
Kvalita mléka je velmi dobrá.
- II. Sraženina je prostoupena bublinkami, trhlinkami, příp. vystupuje syrovátka. Mléko je kontaminováno plynotvornými (čeled' *Enterobacteriaceae*) a peptonizujícími mikroorganismy (*Bacillus* spp.). **Kvalita mléka je méně dobrá.**

- III. Sraženina je klkovitá, mléko je výrazně peptonizováno, je patrná velká tvorba plynu (*Bacillus*, koliformní, *Pseudomonas*). Někdy se mléko vůbec nesráží (obsah inhibičních látek, např. antibiotik). **Kvalita mléka je špatná.**

Stanovení RIL v mléce – jogurtový test

Vyhodnocení:

Po inkubaci se stanoví titračně kyselost mléka v obou baňkách dle Soxhlet–Henkela (tj. titrací 0,25M NaOH na fenolftalein do pleťově růžového zbarvení). Výsledná se hodnota se uvádí v °SH. Spotřeba 0,25M NaOH se vynásobí 2 (°SH definovány na 100 ml vzorku mléka) a ze získané hodnoty posoudíme tzv. kysací schopnost mléka. U výběrového mléka musí kysací schopnost vykazat hodnotu nejméně 20. Zjistí-li se titrační schopnost mléka o 10 stupňů nižší oproti slepému pokusu, považujeme to za prokázanou přítomnost RIL v mléce.

Stanovení RIL v mléce – papírková metoda

Vyhodnocení:

Na základě zbarvení testačního proužku antibiotestu usuzujeme na přítomnost inhibičních látek (*Antibiotest I*), popř. konkrétně na obsah např. penicilinu (*Antibiotest II*).

Antibiotest I červený	inhibiční látky v mléce nejsou přítomny nebo do 0,01 jednotek penicilinu v 1 ml
Antibiotest I růžový	inhibiční látky v mléce jsou přítomny do 0,03 jednotek penicilinu v 1 ml
Antibiotest I bílý	inhibiční látky v mléce jsou přítomny ve vyšším množství
Antibiotest II	pokud je přítomen penicilin, enzym jej rozloží a kultura se začne množit, TTC se redukuje, změna zbarvení dočervena signalizuje přítomnost penicilinu ve vzorku

Stanovení RIL v mléce – *plotnová metoda*

Vyhodnocení:

Po ukončení kultivace se měří velikost vzniklé inhibiční zóny, a to od okraje vzorku po okraj inhibiční linie. Podle velikosti zóny lze orientačně odhadovat koncentrace inhibičních látek ve vzorku.

Likvidace odpadů:

Likvidace mikrobiologického odpadu podléhá specifickým pravidlům. Veškerý odpad v průběhu práce likvidujte v souladu s instrukcemi vyučujících.

Literatura:

Vytrásová J., Bílková Z. (2014): Laboratorní cvičení z obecné mikrobiologie, Pardubice, 3. vydání, Univerzita Pardubice, ISBN 978–80–7395–747–6

Navrátilová P., Vyhnálková J., Jeřábková J. (2014): Plotnová difuzní metoda pro stanovení reziduí inhibičních látek v mléce, Mlékařské listy, 146, str. 4–7.