

# Jakość mikrobiologiczna mlecznych produktów dietetycznych

## Microbiological quality of dietary milk products

IZABELA STEINKA<sup>1/</sup>, ANITA KUKUŁOWICZ<sup>2/</sup>

<sup>1/</sup> Zakład Higieny Żywności, Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

<sup>2/</sup> Katedra Towaroznawstwa i Zarządzania Jakością, Akademia Morska w Gdyni, Gdynia

**Wstęp.** Mleczne produkty dietetyczne powinny być bezpieczne. Nieodpowiednio dobrana liczba pałeczek mlekowych z rodzaju *Lactobacillus* spp. nie gwarantuje pozytywnego efektu zdrowotnego. Produkty te powinny być także wolne od mikroflory chorobotwórczej.

**Cel.** Ocena bezpieczeństwa mlecznych produktów dietetycznych stosowanych jako regulatory perystaltyki jelit, wykorzystywanych w leczeniu żywieniowym oraz w redukcji poziomu cholesterolu we krwi.

**Materiał i metoda.** Badaniom poddano produkty mleczne regulujące perystaltykę jelit, wzmacniające funkcjonowanie układu immunologicznego, obniżające poziom cholesterolu w organizmie. Zakres badań obejmował: oznaczenie liczby, pałeczek mlekowych z rodzaju *Lactobacillus* spp., liczby koagulazo-dodatnich *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* oraz grzybów.

**Wyniki i wnioski.** Badania wykazały wyższą liczbę pałeczek *Lactobacillus* w suplementach A i C zawierających dodatki smakowe w porównaniu z napojami naturalnymi. Jedynie produkt A wykazywał wymagany dla efektu prozdrowotnego, poziom bakterii fermentacji mlekowej. Nie wszystkie produkty można było zakwalifikować do grupy bezpiecznych. Napoje jogurtopodobne E wykazywały obecność gronkowców na poziomie ponad 2 log jtk/ml, a napoje B obecność grzybów strzępkowych oraz enterokoków między 1,88 a 3,95 log jtk/g.

**Słowa kluczowe:** mleczne produkty dietetyczne, bakterie fermentacji mlekowej, bakterie chorobotwórcze, bezpieczeństwo zdrowotne

**Introduction.** Dietary milk supplements should be safe. Inadequate choice of LAB count may not guarantee positive health effect. Diet supplements should also be free of pathogenic micro-flora.

**Aim.** Safety assessment of dietary milk products used as intestinal peristalsis regulators, applied in therapeutic nutrition and in reduction of blood cholesterol level.

**Material and method.** This study examined milk products regulating intestinal peristalsis, boosting the immune system, and lowering cholesterol. The tests performed included the count of: *Lactobacillus* spp., coagulating-positive *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, and fungi.

**Results and conclusions.** The results showed a higher count of *Lactobacillus* in A and K supplements with flavor additives in comparison to natural beverages. Only the A product had the fermentation bacteria count sufficient to ensure the desired health effect. Not all products were classified as safe. E Yogurt-like products revealed 2 log jtk/ml *Staphylococcus* levels, whereas B beverages contained fungi and *Enterococcus* spp. ranging from 1.88 to 3.95 log cfu/g.

**Key words:** dietary milk products, LAB, pathogenic bacteria, health safety

© Probl Hig Epidemiol 2011, 92(1): 44-47

www.phie.pl

Nadesłano: 08.10.2010

Zakwalifikowano do druku: 31.12.2010

Adres do korespondencji / Address for correspondence

dr hab. Izabela Steinka

Gryfa Pomorskiego 56 E/11, 81-572 Gdynia

609860085, isteinka@wp.pl

## Wykaz skrótów

jtk – jednostki tworzące kolonie

cfu – colonia formation union

## Wprowadzenie

Mleczne produkty dietetyczne są znaczącym dodatkiem dla osób z zaburzeniami perystaltyki jelit, wysokim poziomem cholesterolu lub dysfunkcjami przewodu pokarmowego. Produkty te, najczęściej w postaci płynnej zawierają różne gatunki i wielkość populacji bakterii fermentacji mlekowej.

Dostępne mleczne produkty wspomagające zarówno perystaltykę jelit jak i prawidłową gospodarkę lipidową organizmu to przeważnie preparaty wytwarzane z surowca mlecznego, które podawane są w formie napojów zawierających kultury probiotyczne oraz substancje pochodzenia roślinnego.

Bakterie fermentacji mlekowej o charakterze probiotyków między wieloma funkcjami prozdrowotnym a zwłaszcza w prewencji schorzeń jelitowych wykazują również i aktywność w prewencji chorób krążenia [1,2,3,4,5,6,7].

W celu uzyskania pożądanych efektów zdrowotnych poziom tych bakterii powinien być ściśle określony zarówno w preparatach farmaceutycznych i suplementach diet. W tych pierwszych poziom mikroorganizmów probiotycznych powinien wynosić ok.  $10^9$ - $10^{10}$  jtk. Nieodpowiednio dobrana liczba pałeczek mlekowych nie gwarantuje w stosunku do organizmu konsumenta efektu zdrowotnego. Ponadto preparaty te powinny być bezpieczne – pozbawione mikroflory chorobotwórczej.

### Cel badań

Ocena bezpieczeństwa mlecznych produktów dietetycznych stosowanych jako regulatory perystaltyki jelit, wykorzystywanych w leczeniu żywnościowym oraz w redukcji poziomu cholesterolu we krwi. Oceny dokonano poprzez porównanie wymaganej i obecnej w produktach liczby kultur probiotycznych oraz przez zbadanie możliwości obecności bakterii i grzybów względnie patogennych w tych produktach.

### Materiał i metody

Do badań pobierano próbki z napojów: regulujących perystaltykę jelit i wzmacniających funkcjonowanie układu immunologicznego (A, C), obniżających poziom cholesterolu (B, D), stosowany w różnych schorzeniach przewodu pokarmowego (E). Badane produkty pochodziły od trzech różnych producentów i oznaczone zostały symbolami od A do E.

Produkt A – napój zawierający w składzie mleko odtłuszczone, szczepy *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* i *Lactobacillus casei* DN-114 001 *defensis* w deklarowanych ilościach  $10^9$  i  $10^{10}$  jtk/ml. Dodatkowo napój A charakteryzowała obecność paciorkowców *Streptococcus thermophilus* w ilości  $10^{10}$  jtk, preparat owocowy, cukier, woda, sok owocowy skrobia kukurydziana kwas cytrynowy, barwniki naturalne.

Produkt B – to jogurt zawierający roślinne stanole o wysokiej skuteczności w obniżaniu poziomu LDL w surowicy krwi.

Produkt C – napój o charakterze zmodyfikowanego jogurtu z dodatkowym szczepem probiotycznym *Bifidobacterium* DN-173 010 *defensis*, na bazie mleka pasteryzowanego z substancjami barwiącymi, stabilizującymi i wsadem owocowym.

Produkt D – składał się z mleka odtłuszczonego, preparatów owocowych, szczepów *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* + *Streptococcus salivarius spp. thermophilus*, błonnika, sztucznych środków słodzących i stabilizatorów, steroli roślinnych.

Produkt E – napój o charakterze jogurtu pitnego, zawierający białka serwatkowe, meltodekstryny i sacharozę, błonnik pokarmowy, witaminy i sole mineralne, cholinę oraz szczepy probiotyczne.

Badaniom poddawano po 3 próbki z każdego rodzaju napojów. W przypadku produktów A i C analiza mikrobiologiczna obejmowała napoje smakowe takie jak: truskawkowe, wiśniowo-żurawinowe i zawierające wsad z owoców leśnych, a produktu C – śliwkowe i truskawkowe.

Zakres badań obejmował:

- oznaczenie pałeczek mlekowych z rodzaju *Lactobacillus*
- oznaczenie liczby koagulazo – dodatnich *Staphylococcus aureus*
- oznaczenie liczby *Enterococcus faecalis*
- oznaczenie liczby grzybów

W badanych produktach oznaczano obecność żywych komórek *Lactobacillus* płytkową, stosując pożywkę agarową MRS (według de Mana, Rogosy i Sharpa). Po zestaleniu pożywki, odwrócone płytki umieszczano w wilgotnej komorze, w środowisku gazowym wzbogaconym w  $\text{CO}_2$ , w pojemniku do hodowli beztlenowej Anaerocult C. Inkubację prowadzono w temperaturze  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  przez 48h.

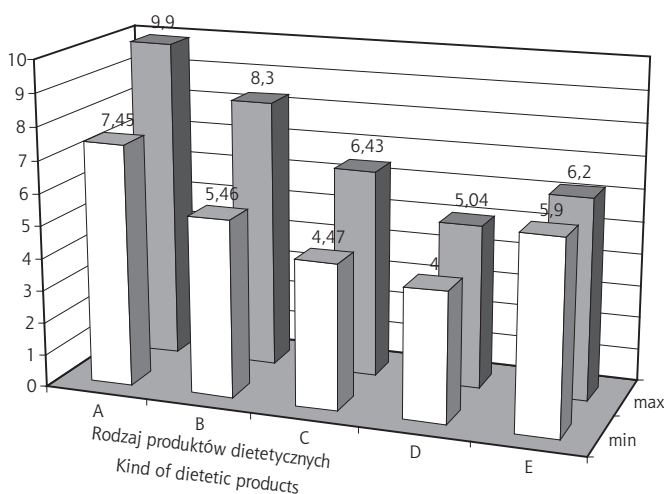
Liczbę *Staphylococcus aureus* wykonywano poprzez zastosowanie podłoża agarowego Baird Parker RPF firmy bioMérieux, według PN – 93/A – 86034/13. Liczbę gronkowców odczytywano po 48 godzinach hodowli w  $37 \pm 2^\circ\text{C}$

Do oznaczania liczby *Enterococcus faecalis* stosowano metodę oznaczania na podłożu D-coocoseł. Odczyt wyników dokonywano po 48 godzinnej hodowli w temperaturze  $370 \pm 2^\circ\text{C}$ . Grzyby strzępkowe inkubowano na pożywce YGC z chloramfenikolem przez 96h w temperaturze  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

### Wyniki badań

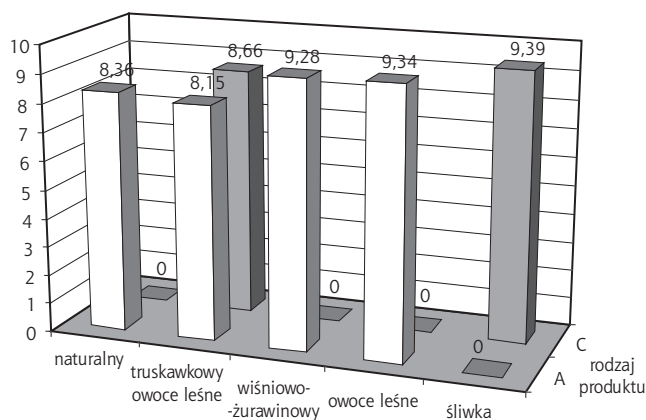
Stwierdzono, że poziom szczepów probiotycznych z rodzaju *Lactobacillus* wahał się od 4,0 log jtk/ml do 9,9 log jtk/ml w badanych napojach. Najwyższy poziom mikroflory probiotycznej stwierdzono w napojach stosowanych do pobudzenia perystaltyki jelit A oraz obniżania poziomu cholesterolu C (ryc. 1). Średnia liczba pałeczek z rodzaju *Lactobacillus spp.* w produktach A i E wahała się w zależności od rodzaju dodatku smakowego od 8,15 do 9,39 log jtk/g (ryc. 2). Poziom pałeczek mlekowych poniżej 6 log jtk/g stwierdzono w napojach przeznaczonych do obniżania poziomu cholesterolu D i przeznaczonych do żywienia dojelitowego w warunkach domowych E.

Z uzyskanych danych wynika, że dodatki do diet o szczególnym znaczeniu żywnościowym – przeznaczone do obniżania poziomu cholesterolu oraz żywienia dojelitowego wykazują niewielką liczbę bakterii względnie beztlenowych wpływających na bezpieczeństwo tych preparatów. Najwyższy poziom *Staphylococcus aureus* stwierdzono w napojach jogurtopodobnych



Ryc. 1. Maksimum i minimum liczby *Lactobacillus spp.* w produktach dietetycznych (log jtk/ml)

Fig. 1. Maximum and minimum amount of *Lactobacillus spp.* in dietary products (log cfu/g)



Ryc. 2. Liczba *Lactobacillus spp.* w produktach A i C (log jtk/ml)

Fig. 2. *Lactobacillus spp.* count in A and C products (log cfu/g)

E przeznaczonych do żywienia dojelitowego. Liczba gronkowców wahała się od 2,34 do 2,69 log jtk/g (tab. I). Produkty D i B nie zawierały gronkowców w liczbie przekraczającej 100 jtk/g. W produkcie B ani minimalny ani maksymalny poziom gronkowców nie stanowił zagrożenia zdrowotnego (tab. I). Produkty probiotyczne A i C nie wykazywały obecności *Staphylococcus aureus* w żadnej badanej próbce.

We wszystkich próbkach B stwierdzono obecność enterokoków. Ich liczba wahała się od 1,88 do 3,95 log jtk/g.

Preparaty D i B charakteryzowała obecność grzybów strzępkowych. Maksymalne wielkości populacji tych mikroorganizmów przekraczały 4,59 log jtk/g w 10% badanych próbek suplementów B.

Z uzyskanych danych wynikało, że suplementy B, D i E, nie spełniają wymagań w zakresie obecności w składzie minimalnych dawek szczepów koniecznych do uzyskania efektu probiotycznego.

Tabela I. Poziom mikroflory względnie beztlenowej w suplementach diet o szczególnym znaczeniu żywieniowym

Table I. Count of facultative anaerobic micro-flora in special diet supplements

Rodzaj suplementu	Rodzaj mikroorganizmów	Wartość minimalna	Wartość maksymalna
		Log jtk.g-1	
A	Enterococcus sp.	0	0
	Staphylococcus aureus	0	0
	Grzyby strzępkowe	0	0
B	Enterococcus sp.	1,88	3,95
	Staphylococcus aureus	1,0	2,0
	Grzyby strzępkowe	2,0	4,59
C	Enterococcus sp.	0	0
	Staphylococcus aureus	0	0
	Grzyby strzępkowe	0	15
D	Enterococcus sp.	nb	nb
	Staphylococcus aureus	1,0	2,0
	Grzyby strzępkowe	1,0	3,47
E	Enterococcus sp.	nb	nb
	Staphylococcus aureus	2,34	2,69
	Grzyby strzępkowe	0	1,3

## Dyskusja

Poziom probiotycznych pałeczek kwasu mlekowego powinien w żywności wynosić co najmniej  $10^7$ - $10^8$  jtk żywych i aktywnych [8].

Prowadzone badania wykazują, że dla uzyskania szybkiego efektu medycznego związanego z działaniem bakterii probiotycznych konieczne jest wprowadzenie do dziennej diety populacji tych bakterii o liczebności od  $10^9$  do  $10^{12}$  [9].

O ile bakterie stosowane w produkcji jogurtów nie wykazują wielu cech probiotyku, o tyle już dodatek wyselekcjonowanych szczepów powoduje, że napój można uznać za wykazujący działanie prozdrowotne. Z tych względów za probiotyczne możnaby było uznać napoje A, C, D, gdyby nie fakt, że w produktach D i C deklarowany przez producenta i faktyczny poziom bakterii probiotycznych w napojach różni się w niektórych znacznie od zakładanych. Dotyczy to zwłaszcza napojów C, w których występująca różnica między wymaganymi, a ocenianymi w trakcie badań wynosi od 3,5 do 4 log jtk/g.

W trakcie badań stwierdzano wyższe wartości pałeczek *Lactobacillus* w suplementach A i C zawierających dodatki smakowe w porównaniu z napojami naturalnymi (ryc. 2).

Napoje B i E nie zawierają szczepów probiotycznych ale obecność wprowadzanych bakterii fermentacji mlekowej powinna wykazywać określony poziom, w celu zagwarantowania skutecznego, pozytywnego oddziaływania.

Zawarte w produkcie dietetycznym E witaminy, sole mineralne, cholina, a w produkcie B roślinne

stanole, to substancje stymulujące rozwój mikroorganizmów. Są one zaliczane do czynników powodujących intensywny wzrost drobnoustrojów. Niebezpieczeństwo ich obecności w produktach wynika z faktu, że zakładana przez producenta stymulacja wzrostu bakterii fermentacji mlekowej dotyczyć może nie tylko tych bakterii, ale także mikroflory względnie patogennej.

Samo natomiast wprowadzenie szczepu *Lactobacillus caesi* do produktów C, także nie musi stanowić gwarancji uzyskiwania pozytywnych efektów działania tych pałeczek w prewencji schorzeń, jeżeli jego stężenie w produkcie nie jest dostateczne [10,11]. Deklarowanym założeniem producentów suplementów A i C jest obecność  $10^{10}$  jtk/g szczepów probiotycznych w produktach. W niniejszych badaniach wykazano, że maksymalne wartości tych bakterii osiągały ten poziom tylko w produktach A, przekraczając wartość  $9 \log$  jtk/g. Kunachowicz i wsp. (2002) wskazują na fakt, że nie należy traktować preparatów jako prozdrowotnych jeżeli nie zawierają szczepów o szczególnych właściwościach probiotycznych [12]. Z definicji wynika, że nie wszystkie bakterie fermentacji mlekowej są probiotykami – jedynie niektóre szczepy wyizolowane z organizmu ludzkiego, zarejestrowane w międzynarodowej kolekcji szczepów.

Jednakże doniesienia literaturowe wskazują na fakt, że drobnoustrojami o znaczącej efektywności w obniżaniu poziomu cholesterolu we krwi są pałeczki mlekowe nie posiadające cech probiotycznych, więc

dbałość o ich właściwy poziom i żywotność powinna być przez producenta zapewniona [13].

W badanych napojach stwierdzano obecność populacji *Staphylococcus aureus* o nieznacznej liczebności populacji. Liczba gronkowców pozostawała na poziomie kilkuset komórek, co nie jest czynnikiem sprzyjającym syntezie enterotoksyny. Obecność tych drobnoustrojów na takim, poziomie w badanych suplementach znajduje swoje odzwierciedlenie literaturze. Potwierdzeniem obserwowanej liczebności populacji gronkowców koagulazododatnich w suplementach były wyniki badań jogurtów prowadzone przez innych autorów [14].

W niektórych ocenianych napojach występowały niewielkie liczby bakterii z gatunku *Enterococcus faecalis*. Wyjątek stanowił produkt B, w którym także stwierdzono wysoką liczbę grzybów strzępkowych (tab. I).

## Wnioski

1. Analiza mikrobiologiczna suplementów pozwoliła zaliczyć 4 spośród pięciu rodzajów badanych produktów do grupy o dobrej jakości mikrobiologicznej, bezpiecznych dla konsumentów.
2. Z uwagi na poziom bakterii fermentacji mlekowej i nieobecność gronkowców jedynie dwa spośród pięciu badanych rodzajów produktów dietetycznych gwarantowały zakładany efekt prozdrowotny.

## Piśmiennictwo / References

1. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Brit J Nutr* 1998, 80, 1: 147-171.
2. Salminen S. Probiotics: current knowledge of health benefits and future perspectives. *Functional Food Forum*, Turun Yliopisto University of Turku 2008, 1-39.
3. Ryżko J. Zastosowanie probiotyków i prebiotyków w leczeniu nieswoistych zapaleń jelit oraz zaburzeń czynnościowych jelita grubego. *Pediatr Współ Gerontol Hepatol Żywnie Dziecka* 2002, 4, 1: 55-60.
4. Libudzisz Z, Walczak P, Bardowski J. Bakterie fermentacji mlekowej. *Monografie*, Łódź 2004, 75-89.
5. Libudzisz Z. Żywność probiotyczna. Mikroorganizmy w żywności i żywieniu. WAR, Poznań 2006.
6. Dekker J, Collett M, Prasad J, Gopal P. Functional of probiotics-potential for product development. *Forum Nutr* 2007, 60: 196-208.
7. Ljungh A, Wadstrom T. Lactic acid bacteria as probiotics. *Curr Issues Int Microbiol* 2006, 7, 2: 73-89.
8. Zaręba D, Ziarno M, Czapska M, Bednarczyk M. Czynniki warunkujące przeżywalność mikroflory jogurtów i biojogurtów. *Prz Mlecz* 2008, 10: 8-13.
9. Libudzisz Z. Probiotyki i prebiotyki w napojach fermentowanych. *Pediatr Współ* 2002, 1, 4: 18-26.
10. Guerin-Danan Chabanet C, Pedone C. Milk fermented with yogurt cultures and *Lactobacillus casei* compared with yogurt and gelled milk. *Am J Clin Nutr* 1998, 67: 11-117.
11. Rochet V, Rigottier-Gois L. Effects of orally administered *Lactobacillus casei* DN-114 001 on the composition or activities of the dominant fecal microbiota in healthy humans. *Brit J Nutr* 2006, 95: 421-429.
12. Kunachowicz H, Kłys W. Żywność funkcjonalna. Wpływ dodatku prebiotyków i probiotyków na wartość odżywczą żywności. *Pediatr Współ* 2002, 1, 4: 33-40.
13. Jiang N, Guo B, Sun L. *Lactobacillus casei* Bd-II strain used to reduce blood cholesterol. *Sanghai Bright Dairy* 2007, 9: 213-218.
14. Belickova E, Tkacikova L, Naas HT, Vargova M, Ondrasovic M, Ondrasovicova O, Obsitnikova D, Toto L. Staphylococci plate counts in food of milk origin. *Veterinari Medicina* 2001, 46, 1: 24-27.