

# VÝBĚR VHDNÝCH HYDROKOLOIDŮ PRO STABILIZACI JAKOSTI TERMIZOVANÝCH JOGURTOVÝCH NÁPOJŮ

Tykvarťová Dagmar<sup>1)</sup>, Hrabě Jan<sup>1)</sup>, Horníčková Dita<sup>1)</sup>, Švarc Jiří<sup>1)</sup>, Mrázek Josef<sup>1)</sup>, Pospíšil Michal<sup>1)</sup>, Patrovský Jiří<sup>2)</sup>

1) Ústav technologie a mikrobiologie potravin, FT UTB ve Zlíně

2) Natura Food Additives, a.s.

## THE SELECTION OF SUITABLE HYDROCOLLOIDS FOR STABILIZATION OF QUALITY OF THERMIZED YOGHURT BEVERAGES

### Souhrn

Konzistence je velmi důležitá organoleptická vlastnost jogurtových nápojů. Analyzovali a srovnávali jsme vzorky termizovaných jogurtových nápojů vyrobených s přidáním různých hydrokoloidů. Vyrobené jogurtové nápoje byly analyzovány po výrobě v poloprovozních podmínkách. Na základě výsledků zkušebních výrob byly vybrány tři druhy hydrokoloidů nebo jejich směs: směs nativního tapiokového škrobu, xanthanové gumy a jedlé vepřové želatiny (vzorek A), směs modifikovaného kukuřičného škrobu a svatojánského chleba (vzorek B) a samostatný vysokoesterifikovaný pektin (vzorek C-P). Vyrobené vzorky jogurtových nápojů byly podrobeny fyzikálně-chemické a senzoričké analýze. Dodatečně byla proměřena i viskozita na přístroji RheolabQC Anton Paar. Na základě výsledků analýz jsme vybrali jako nejvhodnější směsný stabilizátor (vzorek B), který se jevil jako nejlepší pro průmyslové podmínky výroby.

Klíčová slova: hydrokoloidy, termizace, konzistence, senzoričké

### Summary

Consistency is very important organoleptic property of thermized yoghurt beverages due to the expected smooth appearance of those liquid foodstuffs with rich body and viscous mouthfeel. We analyzed and compared the samples of thermized yoghurt beverages prepared with addition of different hydrocolloids. Suitable hydrocolloids have been chosen in virtue of the tests with application of a generally available assortment of commercial hydrocolloids. Those yoghurt beverages samples were analyzed after production in pilot plant conditions. On the basis of our results from introductory trials, three types of hydrocolloids have been chosen for the subsequent experiments: the mixture of native tapioca starch, xanthan gum and edible pig skin gelatin (sample A), the mixture of modified starch and locust bean gum (sample B), and individual high-methoxyl pectin (sample C-P). Finally, evaluation of the finished samples of yoghurt beverages was performed by several

physically-chemical and sensory analyses. Additionally, viscoelastic properties were determined on the RheolabQC Anton Paar instrument. On the basis of comparative analysis, we have found the blended stabilizer (sample B) as the best hydrocolloids premix for our purpose its influence on viscoelastic and organoleptic properties was positive and found applicable in industrial conditions.

### Úvod

Hydrokoloidy - biopolymery převážně rostlinného, ale i živočišného a mikrobiálního původu, jsou látky dodávající potravinám funkční vlastnosti. Jsou přidávány k některým mlékárenským produktům s cílem stabilizovat strukturu finálního výrobku, resp. optimalizovat jejich konzistenci i texturu a současně i celkový senzoričké profil termizovaných výrobků.<sup>1,2</sup> Bylo zjištěno, že na reologické vlastnosti výrobků nemá vliv pouze množství hydrokoloidu, ale především jeho molární hmotnost, struktura, náboj a typ vazeb v daném biopolymeru.<sup>3</sup> Vliv molekulové hmotnosti biopolymeru na viskozitu jogurtů zkoumal Tuinier a kol.<sup>4</sup> Petry a kol.<sup>5</sup> sledovali vliv zastoupení jednotlivých monosacharidů na výslednou viskozitu produktu - extracelulárních polysacharidů kmenů *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* a konstatovali, že čím více glukózy je v řetězci biopolymeru, tím je viskozita produktu vyšší. Dalším faktorem, ovlivňujícím viskozitu, je náboj biopolymeru. Bylo zjištěno, že záporně nabitě biopolymery zvyšují elasticitu tím, že elektrostatickými silami interagují s kladně nabitým kaseinem a tím posilují proteinovou síť.<sup>6</sup>

Jogurtové nápoje se řadí k rozvíjející se skupině výrobků na našem trhu a tím i v mlékárenské technologii. Získaly poměrně rychle své příznivce, a to navzdory konkurenci s tradičními jogurty fermentovanými v obalu i jogurty s rozmíchaným koagulátem, protože si zachovávají jejich výhody ve smyslu nepopiratelného přínosu pro zdraví člověka v kombinaci se snadnou konzumací. Pro zvýšení stability konzistence a zpevnění textury jogurtových nápojů se používají přídatné látky, často v kombinaci s cukrem, ovocnou složkou nebo jinými ochucujícími složkami. Pro zvýšení krémovitosti a hladkosti jogurtových nápojů je vhodné, kromě obvyklých přídatných látek, vybrat i vhodnou jogurtovou kulturu vyznačující se navíc schopností tvorby vysokomolekulárních exopolysacharidů, složených zejména z glukózy, galaktózy a rhamnózy. Společným působením přídatných látek a přirozených exopolysacharidů je umocněn pozitivní vliv na zvýšení plnosti chuti, stabilní texturu a na zabránění synereze - uvolňování syrovátky nebo vody z výrobku v průběhu jeho skladování. V některých případech se pro prodloužení mikrobiologické trvanlivosti používá tepelné ošetření (např. termizace), což přináší vyšší nároky na výběr vhodných hydrokoloidů z důvodu rizika vysrážení bílkovin a vzniku moučnaté až písčité chuti výrobků. Kritickým bodem pro stabilitu proteinů při tepelném záhřevu mléka je pH odlišné od isoelektrického bodu kaseinu. Cílem aplikace přídatných látek je příspěvek k ochraně kaseinu před teplem indukovaným vysrážením a zároveň potlačení sedimentace příp. z výrobku oddělených složek a synereze.<sup>7</sup>

Pro zkušební výroby byly vybrány hydrokoloidy rostlinného původu - modifikované škroby, pektiny, svatojánský chléb, ale i mikrobiální xanthan a jedlá vepřová želatina. Použito bylo osm druhů hydrokoloidů, tvořených převážně škroby (bramborový, kukuřičný, tapiokový) nebo směsnými hydrokoloidy - kombinací škrobů s xanthanem, svatojánským chlebem, vepřovou želatínou či samotným vysokoesterifikovaným citrusovým pektinem.

Po senzoricím a fyzikálně-chemickém hodnocení připravených jogurtových nápojů byly vybrány druhy hydrokoloidů, které nejlépe vyhovovaly požadavkům (tzv. elitní vzorky) a pouze s nimi byly opakovaně provedeny testovací výroby a detailnější hodnocení kvality.

Při výběru hydrokoloidů pro poloproduční testy byla jako základní kritérium požadována schopnost vázat vodu a charakter vytvořené textury. Dalším kritériem byla stabilita gelů při nízkém pH a konečně i senzoricím vyhodnocení, což je vedle ceny hydrokoloidů nejspíše hlavním kritériem jejich použitelnosti.

Pektiny (E 440) jsou hydrokoloidy výlučně rostlinného původu - z jablečné dužniny nebo ze slupek citrusových plodů. Základní struktura pektinu je tvořena lineárním řetězcem 25-100 jednotek  $\alpha$ -D-galakturonové kyseliny spojených vazbou (1 $\rightarrow$ 4). Jsou částečně esterifikovány methanolem. Základní řetězec je v menší míře přerušován přítomností L-rhamnózy a jiných neutrálních jednotek (D-galaktóza, L-arabínóza, D-xylóza aj.). Pro pektiny je charakteristický stupeň esterifikace (DE), který v procentech vyjadřuje rozsah methylace galakturonových kyselin v methyl-esterové formě. Vysokoesterifikované pektiny (HM) jsou definovány jako ty, které mají hodnotu DE nad 50 %, nízkoesterifikované pektiny (LM) mají DE méně než 50 %. LM pektiny mohou být navíc ještě amidované (LMA) nebo neamidované (LMNA). Stupeň amidace (DA) vyjadřuje procentické zastoupení karboxylových skupin v amidové formě. Vysokoesterifikovaný pektin je obecně doporučován jako stabilizátor kysaných mléčných nápojů, kde v kyselém prostředí přispívá ke stabilizaci kaseinu proti vysrážení při záhřevu.<sup>8,9</sup>

Termickou a nebo chemickou modifikací škrobů jsou omezeny nežádoucí vlastnosti nativních škrobů, jako je špatná rozpustnost ve vodě, vysoká viskozita škrobových mazů, vznik gumovitě, kohézní textury a tvorba kalných a retrogradujících gelů.<sup>10</sup> Nejčastěji je jako nativní a pro následné modifikace užíván škrob bramborový, z voskové kukuřice a tapiokový s cílem zlepšit jeho rozpustnost, zvýšit odolnost při mechanickém namáhání (míchání, čerpání) proti vysokotepelemu záhřevu, vysoké kyselosti apod. Nejznámějšími postupy chemické modifikace jsou: enzymatická hydrolýza, oxidace, substituce, příp. pro dosažení rozpustnosti za studena i termická modifikace.<sup>11</sup>

Xanthanová guma (E 415) je hydrokoloid mikrobiálního původu. Producentem extracelulárního xanthanu jsou bakterie rodu *Xanthomonas* (nejčastěji *Xanthomonas campestris*), která je kultivována např. na melase nebo na syrovátce s následnou izolací do roztoku uvolněného exopolysacharidu. Jde o heteropolysacharid velké molární hmotnosti na bázi D-glukózy, D-mannózy a D-glukuronové

kyseliny. Xanthan se vyznačuje rozpustností ve studené vodě. Samotný xanthan jen zahušťuje, netvoří gely, ale termoreverzibilní gel vzniká ve směsi s polysacharidy, např. s galaktomannany (gumou rohovníku - moučkou svatojánského chleba), glukomannany (konjakovou gumou) a  $\kappa$ -karragenanem. Xanthan je často užíván společně s guarovou gumou (E 412) vzhledem k prokázané synergii účinků obou látek. Xanthan se vyznačuje pseudoplastickým chováním, v praxi pak závislostí viskozity jím zahuštěných medií na míře mechanického namáhání, resp. poklesem viskozity po rozmíchání s následným obnovením původního stavu. Xanthan je schopen zahuštění i za horka, zatímco ostatní hydrokoloidy zvýší viskozitu media až po zchlazení.<sup>8,9</sup>

Moučka ze semen svatojánského chleba (tzv. svatojánský chléb, guma rohovníku E 410) se vyrábí z endospermu semen stromu *Ceratonia siliqua*. Skládá se z polysacharidů vysoké molární hmotnosti na bázi galaktomannanů. Je ve formě bílého až nažloutlého prášku bez chuti a zápachu. Samotný prášek ve studené vodě bobtná, ale jeho rozpustnost je nepatrná, je nutný záhřev na teploty nad 70 °C s tvorbou gelu po zchlazení.<sup>8</sup>

Želatina (vepřová, hovězí, ale i drůbeží a rybí) se vyrábí z kolagenu obsaženého v pojivových tkáních jeho denaturací. Želatina typu A je vyrobena kyselým způsobem z kolagenových surovin (kůže a kosti), želatina typu B alkalickým způsobem z kostí a chrupavek. Její molární hmotnost má vliv na želirovací schopnost a pevnost výsledného gelu, na teplotu tvorby gelu a jeho tání.<sup>12</sup>

Cílem této práce bylo zkoumat schopnost jednotlivých hydrokoloidů nebo jejich směsí stabilizovat konzistenci a texturu a zabránit synerzi v jogurtových nápojích po procesu termizace v průběhu skladování.

## Materiál a metody

Jogurtové nápoje byly vyráběny z mléka o obsahu tuku 1,5 % hmot. za přidavku sušeného odstředěného mléka s úpravou na sušinu asi 13 % hmot. Po homogenizaci směsi ponorným mixerm při teplotě 10 °C, vysoké pasteraci na 95 °C s výdrží 10 minut a zchlazení na kysací teplotu 33 °C byla směs zaočkována jogurtovou kulturou (Yo-Flex YC-180 a YC-381). Kultura Yo-Flex YC-180 je tvořena bakteriemi *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Kultura Yo-Flex YC-381 obsahuje *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Po dosažení požadované kyselosti byl přidán hydrokoloid či jejich směs v práškové podobě přímo do termizačního zařízení Stephan UMM/SK 80 s pracovním objemem, resp. hmotností vsádky 2 kg. Teplota termizace byla 75 °C s výdrží 60 sec. s následným horkým rozlívem do spotřebitelských obalů. Díky typu použitého zařízení dosahovala doba náběhu teploty z 33 °C po přidavku hydrokoloidů na termizační teplotu obvykle 20-30 minut. V průběhu záhřevu byla důsledná pozornost věnována zachování sušiny výrobku omezením odparu.

K výrobě hodnocených jogurtových nápojů byly použity následující druhy hydrokoloidů.

- vzorek A: směs: nativní tapiokový škrob v množství 0,2 % hmot., xanthan E 415 v množství 0,05 % hmot. a jedlá vepřová želatina E 441 v množství 0,1 % hmot.
- vzorek B: směs: svatojánský chléb E 410 v množství 0,05 % hmot. a modifikovaný kukuřičný škrob E 1422 v množství 0,15 % hmot.
- vzorek C: modifikovaný bramborový škrob E 1414 v množství 0,3 % hmot.
- vzorek D: modifikovaný kukuřičný škrob E 1422 v množství 0,3 % hmot.
- vzorek E: modifikovaný bramborový škrob I E 1422 v množství 0,3 % hmot.
- vzorek F: modifikovaný bramborový škrob II E 1422 v množství 0,3 % hmot.
- vzorek G: směs: jedlá vepřová želatina E 441 v množství 0,1 % hmot. a mléčné bílkoviny v množství 1,5 % hmot.
- vzorek C-P: vysokoesterifikovaný citrusový pektin E 440 v množství 0,1 % hmot.

U každé výroby bylo prováděno senzoričké a fyzikálně-chemické hodnocení po výrobě. Senzoričké hodnocení bylo prováděno skupinou 12 vybraných posuzovatelů, vyškolených podle ČSN ISO 8586-1.<sup>13</sup> Vzorky byly předkládány anonymně při skladovací teplotě. Byla prováděna nejprve klasická senzoričká analýza pomocí hodnotitelských schémat a zařazování výrobků do jakostních tříd. Hodnoceny byly základní senzoričké znaky: barva a vzhled, konzistence, chuť a vůně. U tzv. elitních vzorků se k senzoričkému hodnocení pomocí pětibodové jakostní ordinální stupnice hedonického typu použila i párová porovnávací zkouška, která dovoluje zachytit mezi srovnávanými vzorky menší odchylky a pořadový preferenční test.<sup>14</sup> Výsledky senzoričkových analýz byly statisticky vyhodnoceny za použití Friedmanova a Kruskal Wallisova testu, který bere na zřetel druh použité ordinální stupnice. K výpočtům byl použit software program Statk 25. Ve výsledkové části jsou uvedeny pouze závěry hodnocení elitních vzorků pomocí pětibodové ordinální stupnice hedonického typu a výsledky jsou prezentovány jako mediány.<sup>15</sup>

Pro fyzikálně-chemickou analýzu byla použita ke stanovení obsahu tuku technická acidobutyrometrická metoda Gerberova ztekucovací, ke stanovení sušiny metoda přesná vážková. Aktivní kyselost metodou potenciometrickou a titrační kyselost alkalimetrickou titrací.<sup>16</sup>

Měření viskozity vyrobených vzorků bylo realizováno u předem vybraných, tzv. elitních vzorků na rotačním viskozimetru RheolabQC Anton Paar Germany GmbH. Měřicí soustava sestává z měřicí nádoby C-CC 39/QC naplněné po rysku měřeným vzorkem. Do této nádoby je zasunut měřicí válec B-CC39, který se po spuštění přístroje ve vzorku otáčí. Otáčky se v určitém časovém intervalu zvyšují a hodnoty naměřených veličin jsou zobrazeny na displeji přístroje. Při měření byla udržována teplota 12±0,2 °C termostatem a vzorky byly standardním způ-

sobem upravovány (promíchány). Proměřeny byly elitní vzorky A, B a C-P a naměřené výsledky byly graficky vyhodnoceny. Ve výsledkové části jsou uvedeny pouze grafické závislosti.<sup>17</sup>

## Výsledky a diskuze

V první fázi byly na základě fyzikálně-chemického a senzoričkého hodnocení z osmi navržených hydrokoloidů vybrány vzorky, které vykázaly optimální texturu termizovaného jogurtového nápoje, resp. vazbu syrovátky po dobu min. 3 týdnů a také vytvoření krémově tekuté, stejnorodé a hladké konzistence výrobku. Analýzy byly provedeny po výrobě. Hodnoty uvedené v tabulkách 1 a 2 jsou průměrné hodnoty a výsledky zjištěné ze tří pokusných výrob.

Sledované fyzikálně-chemické parametry se u jednotlivých vzorků příliš neliší. Rozdíl byl zaznamenán při senzoričném hodnocení. U vzorků C až G byly zjištěny vady konzistence, nejčastěji výskyt písčité konzistence a výraznější uvolňování syrovátky. Proto byly pro další sledování vybrány jen vzorky A, B a C-P, dále značené jako elitní. Po jejich výrobě byla k hodnocení použita senzoričká analýza pomocí pětibodové jakostní stupnice hedonického typu s charakteristikou každého stupně. Orientace škály byla volena tak, že 1. stupeň odpovídal úrovni “vynikající” a 5. stupeň úrovni “nevyhovující”. Tímto způsobem byly posuzovány základní senzoričké znaky jako u předešlého hodnocení. Senzoričká analýza byla doplněna

**Tab. 1** Fyzikálně-chemické hodnoty zjištěné u skupiny termizovaných jogurtových nápojů vyrobených za použití 8 vzorků hydrokoloidů

vzorky	tuk % w/w	sušina % w/w	titrační kyselost SH	aktivní kyselost pH
A	1,78	12,38	52,70	4,3
B	1,73	12,26	53,20	4,2
C	1,62	12,68	49,20	4,3
D	1,63	12,46	51,87	4,0
E	1,73	12,33	51,46	4,0
F	1,68	12,77	43,33	4,4
G	1,73	13,73	49,16	4,3
C-P	1,73	13,04	46,87	4,3

Použité přídatné látky - hydrokoloidy:

- A: směs: nativní tapiokový škrob, xanthan, vepřová želatina  
 B: směs: svatojánský chléb, modifikovaný kukuřičný škrob  
 C: modifikovaný bramborový škrob  
 D: modifikovaný kukuřičný škrob  
 E: modifikovaný bramborový škrob I  
 F: modifikovaný bramborový škrob II  
 G: směs: vepřová želatina, mléčné bílkoviny  
 C-P: vysokoesterifikovaný citrusový pektin

**Tab. 2** Výsledky senzoričkého hodnocení všech vyrobených vzorků a zařazení do jakostních skupin (jakost I a II-vyhovující, III-nevyhovující) podle hodnotícího schématu

vzorky	A	B	C	D	E	F	G	C-P
vzhled a barva	I	I	I	I	I	I	I	I
konzistence	I	I	II	II	II	II	II	I
chuť a vůně	I	I	I	I	I	I	I	I

Vysvětlení symbolů viz. legenda u tabulky 1



párovou porovnávací zkouškou, která dovoluje zachytit mezi srovnávanými vzorky menší odchylky. Dále byl proveden pořadový preferenční test. Vlastní hodnocení provedlo 12 hodnotitelů. Pro statistické hodnocení byla použita 5 % hladina významnosti. Výsledky byly vyhodnoceny za použití Friedmanova a Kruskal Wallisova testu, který bere na zřetel druh použité ordinální stupnice. K výpočtům byl použit software program Statk 25. Hodnoty uvedené v tabulce 3 jsou průměrné hodnoty a výsledky zjištěné ze tří pokusných výrob.

**Tab. 3** Výsledky hodnocení sensorických znaků u elitních vzorků pomocí pětibodové ordinální stupnice hedonického typu prezentovány jako mediány

znak	vzhled a barva			konzistence			chuť a vůně		
	A	B	C-P	A	B	C-P	A	B	C-P
vzorek									
medián	2	1	2	2	1	3	3	2	2,5

Použité přídavné látky - hydrokoloidy:

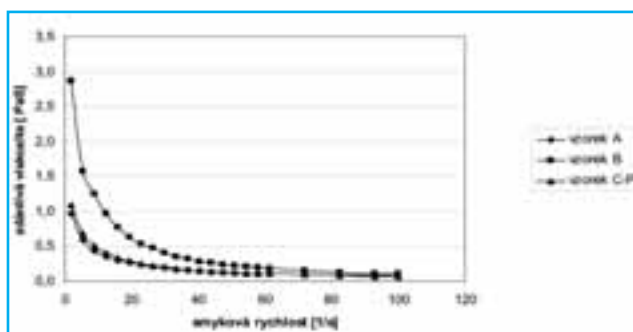
A:směs: nativní tapiokový škrob, xanthan, vepřová želatina

B:směs: svatojánský chléb, modifikovaný kukuřičný škrob

C-P:vysokoesterifikovaný citrusový pektin

U vzorků nebyl prokázán statisticky významný rozdíl ve vzhledu a barvě. V konzistenci byl zjištěn rozdíl mezi vzorky A a B, B a C-P, přičemž konzistence vzorku B byla hodnocena jako lepší. Párovým testem byl v chuti a vůni preferován vzorek B před vzorkem A. V konzistenci byl na hladině významnosti 5 % sledován statisticky významný rozdíl pouze mezi vzorky B a C-P. Výrobek B byl hodnocen jako konzistenčně lepší. Pořadovým preferenčním testem s 95 % spolehlivostí existují statisticky významné rozdíly v preferencích mezi vzorky. Jako nejvíce preferovaný označili hodnotitelé vzorek B, další v pořadí byl vzorek C-P a jako nejhorší byl hodnocen vzorek A. Statisticky významné rozdíly jsou však pouze mezi vzorky A a B.

U těchto elitních vzorků byla provedena i reologická měření pomocí rotačního viskozimetru RheolabQC Anton Paar, konkrétně hodnoty smykového napětí Pa a zdánlivé viskozity Pa s v závislosti na měnící se smykové rychlosti 1/s.<sup>18,19</sup>



**Obr. 1** Graf závislosti zdánlivé viskozity na smykové rychlosti

Z grafických závislostí na obr. 1 vyplývá, že vzorek B má nejvyšší hodnotu viskozity i smykového napětí. Se zvyšující se smykovou rychlostí je narušována síťová struktura gelu a viskozita všech vzorků postupně klesá.

## Závěr

Z použitých hydrokoloidů byly na základě hodnocení jednotlivých sensorických znaků postupně vybrány ty druhy, které dodaly výrobkům žádané texturní vlastnosti - hladký homogenní vzhled, krémově tekutou, stejnorodou konzistenci a stabilní netrhající se film bez hrudek, bez uvolňování syrovátky. Použité hydrokoloidy měly za cíl negativně neovlivnit chuť a vůni, která měla být jemná a typická po použité jogurtové kultuře. Tyto požadavky splnily tři vybrané druhy:

- vzorek A (směs nativního tapiokového škrobu, xanthanu a vepřové želatiny)
- vzorek B (svatojánský chléb a modifikovaný kukuřičný škrob E 1422)
- vzorek C-P vysokoesterifikovaný citrusový pektin.

Jako jednoznačně nejlepší byl vybrán vzorek B s nejvyšším ohodnocením sensorické jakosti a nejvyšší hodnotou zdánlivé viskozity. U dalších dvou vzorků nebyla sensorická jakost zcela odpovídající daným požadavkům, což ještě nemusí znamenat nižší kvalitu těchto hydrokoloidů, ale jejich menší vhodnost a omezenou použitelnost pro tento typ výrobků s daným způsobem přípravy. Dalším sledovaným parametrem byla schopnost výrobku vázat syrovátku, resp. zabránit její synerezi během skladování. Tento požadavek byl u vybraných vzorků naplněn, pokud byla dodržena stanovená doba záhřevu. U vzorků s prodlouženou expozicí termizačního záhřevu byla již zjištěna synereze syrovátky v menším rozsahu, z čehož vyplývá závěr dodržovat optimální kombinaci teploty a doby jejího působení na výrobky.

## Poděkování

Práce vznikla za podpory projektu MŠMT: MSM 7088352101

## Použitá literatura

1. SIMEONE, M., ALFANI, A., GUIDO, S. Phase diagram, rheology and interfacial tension of aqueous mixtures of Na-caseinate and Na-alginate. *Food Hydrocolloids*, 18, 2004, 463 - 470.
2. THAIUDOM, S., GOFF, H.D. Effect of  $\kappa$ -carrageenan on milk protein polysaccharide mixtures. *International Dairy Journal*, 13, 2003, 763 - 771.
3. MARSHALL, V.M., DUNN, H., ELVIN, M., MELAY, N., LAWS, A.P. Structural characterisation of the exopolysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus* EU20. *Carbohydrate Research*, 2001, 331,413-422.
4. TUINIER, R., ZOON, P., STUART, M.A.C., FLEER, G.J., de KRUIJF, C.G. Concentration and shear-rate dependence of the viscosity of an exocellular polysaccharide. *Biopolymers*, 1999, 50, 641-646.
5. PETRY, S., FURLAN, S., WAGHORNE, E., SAULNIER, L., CERNING, J., MAGUIN, E. Comparison of the thickening properties of four *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* strains and physicochemical characterization of their exopolysaccharides. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, 221, 285-291.
6. DUBOC, P., MOLLET, B. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11, 2001, 759-768
7. HORNÍČKOVÁ, D. Vliv hydrokoloidů na reologické vlastnosti termizovaných jogurtových výrobků. *Bakalářská práce*. Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně 2009, 1st ed., 82 s.
8. Propagační materiál firmy Degussa Texturant Systems, 2003, Německo
9. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin I*. 1. vyd. Tábor : OSSIS, 1999. 352 s. ISBN 80-902391-3-7

10. ZADRAŽIL, K., GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství*. 1. vyd. Praha : ISV, 2002. 125 s. ISBN 80-86642-15-1
11. KODET, J.; ŠTĚRBA, S.; ŠLECHTA, L. *Modifikované škroby*. 1st ed. Praha : SNTL, 1991. 388 s. ISBN 80-03-00554-X
12. KODET, J.; ŠOTLOVÁ, I.; ŠTĚRBA, S. *Plnicí, zahušťovací, gelotvorné a stabilizační látky pro potraviny (potravinářské hydrokoloidy)*. 1st ed. Praha : SPI, 1993. ISBN 80-85120-32-1.
13. ISO Standard No. 8586-1:1993 *Sensory analysis - General guidance for the selection, training and monitoring of assessors - Part 1: Selected assessors*. International Organization for Standardization, Geneva, 1993.
14. JAROŠOVÁ, A. *Senzorické hodnocení potravin*. 1. vyd. Brno : MZLU, 2001. 84 s. ISBN 80-7157-539-9
15. KRÍŽ, O., BUŇKA, F., HRABĚ, J. *Senzorická analýza potravin II. Statistické metody*. 1. vyd. UTB Zlín. 2007. 127 s. ISBN 978-80-7318-494-0
16. INDRA, Z., MIZERA, J. *Chemické kontrolní metody pro obor zpracování mléka*. 1. vyd. Praha. 1992. 273 s.
17. TAMIME, A. *Structure of Dairy Product*. 1st ed. Oxford : Blackwell, 2007. ISBN 978-1-4051-2975-6.
18. GUNASEKARAN, S. *Cheese reology and texture*. Boca Raben press LLC. 2003. ISBN 1-58716-021-8
19. KRÁČALÍK, M. *Reology of dispersive polymeric systems*. UTB Zlín. 2006. 46 s. ISBN 80-7318-493-1

### Kontaktní adresa

Ing. Dagmar Tykvartová, VOŠ potravinářská a SPŠ mlékárenská v Kroměříži, Štěchovice 1358, 767 54 Kroměříž, tel. 774 144 913, e-mail: dagmar.tykvartova @email.cz

Přijato do tisku 20. 10. 09  
Lektorováno 16. 12. 09

## VÝBĚR VHODNÉ MATRICE VZORKU PRO STANOVENÍ MIKROBIOLOGICKÝCH PARAMETRŮ INSTRUMENTÁLNÍMI METODAMI

**Peroutková Jitka, Elich Ondřej, Pechačová Marta, Roubal Petr**  
MILCOM a.s., Praha

### Selection of suitable sample matrix for determination of microbial parameters using instrumental methods

#### Abstrakt

Vzorky pro kontrolu přístrojů, kterými jsou sledovány mikrobiologické parametry v syrovém mléce, jsou skladovány při teplotě -40 °C. Při takové teplotě dochází k poklesu mikroorganismů, které jsou pak pod mezí detekce při stanovení klasickou plotnovou metodou, ale detekovatelné instrumentálními metodami, které jsou založeny na principu měření fluoro-opto-elektronického počítání obarvených nukleových kyselin v buňkách živých i odumřelých. Práce byla jednak zaměřena na výběr vhodného kmene a zároveň na výběr vhodného kryoprotekčního média pro vzorky sloužící

na kontrolu přístrojů, aby bylo zamezeno získání rozdílných výsledků při použití klasických a instrumentálních metod.

#### Abstract

Samples for instrument control used for monitoring microbial parameters in raw milk are conserved at -40 °C. Density of microorganisms decreases at this very low temperature and count of microorganisms are below of detection limit using classic plate method. However, microorganisms are detectable by instrumental methods based on the principle fluoro-opto-electronic measuring and count of stained nucleic acids in viable and dead cells. We focused on selection of suitable microbial strain and also on selection of suitable cryoprotective medium for samples in order to avoid different results using classic and instrumental method.

#### Úvod

Pro kontrolu přístrojů, používaných pro zjištění mikrobiálních parametrů u syrového mléka, jsou ve VÚM připravovány pilotní vzorky o dvou různých koncentracích mikroorganismů v řádech  $10^4$  a  $10^5$  KTJ/1 ml. Tyto hodnoty byly zvoleny záměrně tak, aby odpovídaly mlékům lepší i horší mikrobiální kvality. Připravené vzorky jsou zamrazeny při -40 °C po dobu i několik měsíců, proto během skladování dochází k poklesu počtu živých mikroorganismů. Pro zamezení poškození buněk během zmrazování a skladování a tím snížení denzity mikroorganismů pomáhají různé látky, které se přidávají jako kryoprotekční média.

K ochranným látkám patří jednoduché anorganické sloučeniny i velmi komplikované organické látky. Většina těchto látek působí extracelulárně, ale některé pronikají do buňky jako je tomu u glycerolu. Výborné kryoprotekční vlastnosti má přídavek mléka a jeho složky dále bílkovinné hydrolyzáty, pepton, želatina, aminokyseliny, soli např. fosforečnany, cukry aj.

Teploty nižší než je minimální teplota růstu přežívá většina mikroorganismů poměrně dlouhou dobu. Jestliže se však intenzivně množící buňky některých bakterií v exponenciální fázi růstu přenesou z optimální teploty na teploty blízké nule či nižší, dochází k tzv. chladovému šoku, který se projevuje ztrátou životnosti velkého podílu populace. Chladový šok byl pozorován u gramnegativních bakterií, u grampozitivních sporulujících bakterií a dokonce i u psychrofilů. Citlivost různých bakterií k chladovému šoku je velmi odlišná. Jako poměrně rezistentní se uvádí *Staphylococcus aureus* (Šilhánková, 1995) Odolnost mikroorganismů vůči nízkým teplotám je ovlivněna jednak propustností buněčných stěn a také chemickým složením protoplazmy (Hylmar a kol., 1989).

#### Materiál a metody

Pro pokus bylo vybráno několik zástupců bakterií s rozdílnými vlastnostmi (grampozitivní x gramnegativní, koky x tyčinky) a jeden zástupce kvasinek. Všechny vybrané mikroorganismy se v syrovém mléce běžně vyskytují. Kmeny byly získány z České sbírky mikroorganismů v Brně (Tab. č. 1).