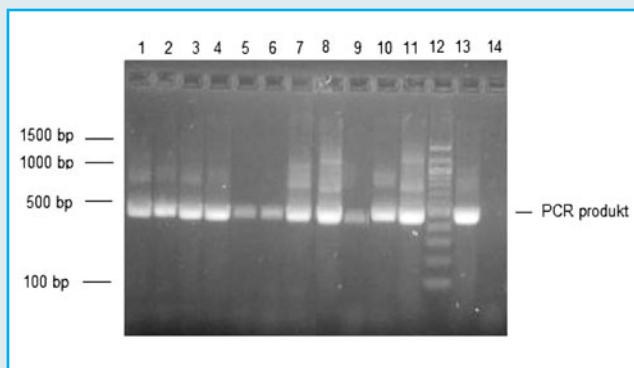


Obr. 1 Agarosová gelová elektroforéza produktů PCR (490 bp) specifických pro doménu *Bacteria*

Běh č.: (1) Activia, příchutí lesní plody, (2) Activia bílá, (3) Zott bílý, (4) Bílý jogurt z ovčího mléka, (5) Beba premium, (6) Baby lactum, (7) Hipp folgemilch, (8) Biopron Junior, (9) Junior mléko BIFIDUS, (10) Pangamin, (11) Linex forte, (12) DNA standard - 100 bp žebříček, (13) pozitivní kontrola DNA *Lactobacillus gasseri* K7 10 ng/μl, (14) negativní kontrola.

Tab. 2 Vyhodnocení výsledků kvantifikace DNA izolované z výrobků metodou magnetické separace

Výrobek	Ct	DNA <i>Lactobacillus</i> (ng/PCR směs)
Activia, - příchutí lesní plody	16,39	0,19
Activia - bílá	16,40	0,23
Zott - bílý	16,03	0,32
Bílý jogurt z ovčího mléka	16,42	0,27
Beba premium	16,74	0,20
Baby lactum	16,45	0,24
Hip folgemilch	16,69	0,20
Biopron Junior	16,48	0,24
Junior mléko BIFIDUS	n	n
Pangamin	16,06	0,27
Linex forte	15,57	0,52

n = nestanovené

Intenzity produktů PCR odpovídaly množství DNA ve směsi PCR (s výjimkou výrobku Biopron Junior). Výsledky jsou uvedeny na Obr. 1.

Polymerázová řetězová reakce v reálném čase

Kvantifikace DNA izolované pomocí magnetických částic u výrobků byla provedena pomocí PCR v reálném čase za využití primerů specifických pro doménu *Bacteria*¹⁰ a rod *Lactobacillus*¹¹. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 2. Množství DNA bylo řádově shodné s očekávaným nebo výrobcem deklarovaným množstvím DNA.

Analýzou křivek tání byla potvrzena specifita získaných produktů PCR. Pro specifický PCR produkt o velikosti 490 bp (doména *Bacteria*) byla teplota tání stanovena na ≈ 90 °C; pro produkt PCR o velikosti 250 bp (rod *Lactobacillus*) byla teplota tání ≈ 85 °C.

Závěr

Metoda magnetické separace využívající magnetické nosiče je vhodnou metodou izolace genomové DNA z reálných vzorků (mléčných výrobků, mléčných náhrad, probiotických doplňků stravy apod). Vypracovaná metoda magnetické separace je vhodná pro kvantifikaci DNA

izolované z komplexních vzorků pomocí PCR v reálném čase. Za použitých experimentálních podmínek magnetické mikročástice neovlivňovaly průběh amplifikace ani kvantifikaci DNA u PCR v reálném čase.

Literatura

- VASILEVSKAYA, V. V., KHOKHLOV, A. R., MATSUZAWA, Y., YOSHIKAWA, K. J. (1995): *Chem. Phys.* 102, s. 6595.
- KLEIDEITER, G., NORDMEIER, E. (1999): *Polymer* 40 s. 4025.
- ESUMI, K., NAKAIE, Y., SAKAI, K., TORIGOE, K. (2001): *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 194, s. 7.
- KŘÍŽOVÁ J., ŠPANOVÁ A., RITTICH B., HORÁK D. (2005): *J. Chromatogr. A* 1064, s. 247.
- ŠPANOVÁ, A., RITTICH, B., ŠTYRIAK, I., ŠTYRIAKOVÁ, I., HORÁK, D. (2006) : *J. Chromatogr. A*, 1130, s. 115.
- ŠPANOVÁ, A., RITTICH, B., BENEŠ, M.J., HORÁK, D. (2005) : *J. Chromatogr. A*, 1080, s. 93.
- RITTICH, B., ŠPANOVÁ, A., HORÁK, D., BENEŠ, M. J., KLESILOVÁ, L., PETROVÁ, K., RYBNÍKÁŘ, A. (2006): *Colloids Surf. B: Biointerfaces* 52, s. 143.
- RITTICH, B., ŠPANOVÁ, A., ŠÁLEK, P., NĚMCOVÁ, P., TRACHTOVÁ, Š., HORÁK, D. (2009): *J. Magn. Magn. Mater.* 321, s. 1667.
- HORÁK, D., SEMENYUK, N., LEDNICKÝ, F. (2003): *J. Polym. Sci., Polym. Chem. Ed.* 41, s. 1848.
- HAARMAN, M., KNOL, J. (2006): *Appl. Environ. Microbiol.* 72, s. 2359.
- DUBERNET S., DESMASURES N., GUÉGUEN M. (2002): *FEMS Microbiol. Letters* 214, s. 271.

Přijato do tisku 10. 5. 2011

Lektorováno 23. 5. 2011

RŮST BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ V MLÉCE FORTIFIKOVANÉM BIOAKTIVNÍMI LÁTKAMI

Peroutková J., Pechačová M., Šalaková A., Kejmarová M.
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

Growth of lactic acid bacteria in milk enriched with bio-active substances

Abstrakt

V této práci byl sledován růst vybraných kmenů bakterií mléčného kvašení, konkrétně rod *Lactobacillus*. Jako substrát bylo použito mléko obohacené o bioaktivní látky. Testován byl přídatek omega-3-polynenasycených mastných kyselin, pupalkového oleje v sušené formě, sojového mléka, sladového výtažku a pšeničných klíčků. Po fermentaci byly substráty hodnoceny dle denzity mikroorganismů, aktivní kyselosti, obsahu organických kyselin a zároveň bylo provedeno senzoričké hodnocení.

Klíčová slova: *Lactobacillus*, fortifikace, bioaktivní látky

Abstract

In this work was monitored growth of some strains of lactic acid bacteria from the genus *Lactobacillus*. Enriched

milk with an addition of bio-active substances, omega-3 polyunsaturated fatty acids, evening primrose oil in dried form, soya milk, malt extract and wheat germs, was used as substrate for testing. After fermentation were measured bacterial density, active acidity and content of organic acids. Sensory analysis of final substrates was observed too.

Key words: *Lactobacillus*, fortification, bio-active substances

Úvod

Ve světě jsou stále oblíbenější potraviny, které se označují jako funkční potraviny. Mají i další označení jako nutraceutika, pharmafoods apod. Jedná se o potraviny, které se konzumují jako běžná strava a které mají další specifické účinky zejména z hlediska lidského zdraví. Směr výzkumu a vývoje budoucích potravin s funkčními složkami byl cílem i naší práce.

U vybraných mikroorganismů byla testována růstová aktivita a zároveň byla měřena produkce širokého spektra organických kyselin, a to v substrátech, které byly doplněny o složky s pozitivním vlivem na zdraví konzumenta a které bývají většinou v naší stravě deficitní. Je tedy žádoucí jejich množství ve výživě navýšit.

Sledovanými nutričními faktory byly přírodní rostlinné oleje s obsahem nenasycených mastných kyselin a dále bioaktivní látky, které byly dodávány do funkčních produktů v podobě sojového mléka, sladového výtažku a pšeničných klíčků.

Omega-3-nenasycené mastné kyseliny jsou obsaženy v celé řadě semen, z nichž se pak získávají lisováním. Tvoří nezbytnou součást výživy, protože mají významné zdravotní účinky na celý náš organismus, pozitivně ovlivňují průběh kardiovaskulárních chorob (Nageswari a kol., 1999; Harris a kol., 2008), blahodárně působí na mozek a nervovou soustavu, posilují imunitu, pomáhají v léčbě alergických onemocnění (Anandan a kol., 2009), ekzému, akné, lupénky a jsou prevencí mnoha druhů nádorových onemocnění (Fernandes, Venkatraman, 1993). Potrava bohatá na omega-3-mastné kyseliny pomáhá oddálit ztrátu zraku. Podle posledních výzkumů brání tyto kyseliny rozvoji degenerace žluté skvrny (Sangiovanni a kol., 2005), onemocnění, které postihuje nejčastěji seniory. Žlutá skvrna (makula) je částí oční sítnice zodpovědná za centrální vidění. Ukázalo se, že bez ohledu na to, jaké potravinové doplňky dobrovolníci v rámci výzkumných studií užívali, u těch, jejichž strava byla bohatá na omega-3-mastné kyseliny, se zpomalil rozvoj degenerace žluté skvrny o čtvrtinu (Chong a kol., 2009). Tyto mastné kyseliny patří mezi esenciální, což znamená, že si je naše tělo neumí vytvořit a musíme je tedy přijímat stravou. Do omega-3-mastných kyselin patří tzv. alfa-linolenová kyselina, eikosapentaenová (EPA) a dokosahexaenová (DHA) kyselina.

Lisováním zralých semen pupalky dvouleté se získává pupalkový olej. Pupalkový olej je svým vysokým obsahem biologicky aktivních látek pro lidské zdraví velkým přínosem, je ho možno řadit mezi suroviny přechodné mezi

potravinami a léky. Olej má velmi široké použití, zlepšuje obtíže u osob s atopickým ekzémem (Senapati a kol., 2008). Jako jediný z panenských olejů má pozitivní vliv při roztroušené skleróze. Pupalkový olej významně zamezuje klimakterickým obtížím. Tento olej je zdrojem nenasycených mastných kyselin, které organismus potřebuje k biosyntéze životně důležitých látek, souhrnně označovaných jako eikosanoidy. Jsou to biologicky aktivní látky (zjednodušeně srovnatelné s hormony), které ovlivňují řadu funkcí lidského organismu - regulují krevní tlak, srdeční činnost, srážlivost krve, funkci trávicího a dýchacího systému, porodní funkce, imunitní reakce a zasahují pozitivně do řady patologických dějů, jako je rozvoj zánětů nebo mechanismus vzniku bolesti a jiné. Olej z pupalky se používá jako doplněk výživy, protože obsahuje látky, které se v běžné stravě vyskytují v zanedbatelném množství.

Sója a sojové mléko jsou zdrojem rostlinných bílkovin, které jsou po úpravě dobře stravitelné a využitelné pro lidský organismus. Sója obsahuje fytoestrogeny, což jsou přírodní látky podobné hormonům, které mají tu specifickou vlastnost, že harmonizují hladinu pohlavních hormonů u mužů i u žen. Jsou podpůrnou prevencí proti nádorům pohlavních orgánů u obou pohlaví. Sója je významnou a bezpečnou prevencí přechodových problémů u žen (Cornwell a kol. 2004). Obsahuje lecitin nutný pro správnou mozkovou činnost a pro metabolismus mozkových buněk, které zodpovídají za paměťové schopnosti, orientaci, rychlost myšlení i celkovou svěžest. Také podporuje výživu pokožky a příznivě ovlivňuje její pružnost. Všechny sojové výrobky mají významný obsah vápníku a ten se v této formě velmi dobře zabudovává do kostí.

Sladový výtažek obsahuje veškeré významné látky ječného zrna. Důležitá je i jeho schopnost náhrady jiných sladidel. Stále více roste poptávka po přírodních a organických sladidlech spolu s tím, jak roste poptávka po přírodních potravinách. Kategorie organických potravin zahrnuje různé funkční potraviny stejně jako další typy výrobků, v nichž jsou obsaženy přírodní složky. Sladový extrakt je původní, na škrobu založené sladidlo. Tvoří ho pouze dvě složky, ječmen a k němu přidaná voda. Ječný sirup a extrakt jsou i přírodními na škrobu založenými sladidly, která mohou být také používána do zmrzliny a mražených smetanových krémů, kde napomáhají vytvořit požadovanou viskozitu výrobků, případně jsou používána k řízení krystalizaci. Sladící sirupy, založené na škrobovém základě, jsou dlouhé polymery glukózových jednotek, stejně jako je tomu u fruktózy, glukózy a maltózy. Na škrobu založená sladidla, jako jsou sladové extrakty, mají významné redukční vlastnosti.

Pšeničné klíčky jsou zdrojem vitamínů a enzymů. Klíčky obsahují více než 25 % své kalorické hodnoty ve formě bílkovin. Jsou tak zdrojem významných živin a energie.

Materiál a metody

V práci byly použity:

- kmeny ze sbírky mlékařských mikroorganismů Laktoflora®

Tab. 1 Stanovení počtu laktobacilů KTJ/ml a aktivní kyselosti po fermentaci v mléce

kmen CCDM	počty KTJ/ml	pH
118	2,1.10 ⁹	3,85
157	4,3.10 ⁸	3,90
158A	1,9.10 ⁹	4,14
441	8,3.10 ⁸	3,97
579	2,7.10 ⁸	4,32
610	2,6.10 ⁸	4,28
821	2,7.10 ⁹	4,31
963A	9,6.10 ⁸	4,20
963B	5,6.10 ⁸	4,02
233	1,2.10 ⁹	4,18
422	2,0.10 ⁹	4,03
650	2,1.10 ⁹	4,25
145	7,5.10 ⁸	4,33
198	1,3.10 ⁹	4,14
199	9,2.10 ⁸	4,10

Tab. 2 Kontrola růstových substrátů po tepelném ošetření (pH)

substrát	pH
mléko sterilní	6,67
mléko+ 10 % sojové mléko	6,81
mléko+ 3 % sladový výtažek	6,60
mléko + 3 % pšeničné klíčky	6,74

- *Lactobacillus casei* (CCDM 422, 650, 145, 198, 199)

- *Lactobacillus rhamnosus* (CCDM 118, 157, 158A, 441, 579, 610, 821, 963A, 963B, 233)

- omega-3-Pulver 67 (alfa-Linolensaure-Pulver) je jedlý olej z lněného semene z prvního studeného lisování. Speciální úpravou na fyzikální bázi, která je velmi šetrná, je olej čištěn a stabilizován. Stabilizace zamezuje rozvoji hořkých látek. Produkt má žluto-načervenalou barvu s neutrální, lehce oříškovou chutí. Obsah alfa-linoleové kyseliny je cca 60 %, obsah nasycených mastných kyselin je pod 10 %. Z antioxidantů je přítomen přírodní tokoferol.

rol. Koncentrát je snadno rozpustný, a proto je vhodný pro různé výrobové aplikace fortifikací omega -3.

- pupalkový olej sušený v práškové formě obsahuje minimálně 65 % čistého rafinovaného a extrahovaného oleje z pupalky v maltodextrinové bázi. Preparát je stabilizován přírodním tokoferolem.
- sušené sojové mléko Zajíc (Mogador)
- pšeničné klíčky (Vladimír Valta - Evit)
- sladový výtažek kanditní (Sladovna Bruntál)

Senzorická analýza byla prováděna dle ČSN ISO 6658. U vzorků byl posuzován kvalitativní senzorický profil šestičlenným panelem hodnotitelů. Hodnocenými parametry byly vůně, chuť, konzistence.

Výsledky

Vybrané mlékařské kultury byly obnoveny z lyofilizované formy ve vhodném médiu. Kultivačním médiem bylo mléko 1,5 % tuku nebo mléko 1,5 % tuku s 0,5 % kvasničného extraktu dle požadavku jednotlivých kmenů. Optimální teplota kultivace je pro tyto kmeny 37 °C. Doba kultivace se při obnově kmenů lišila. Převážná část kmenů srazila mléko za 16 - 18 hodin, kmen CCDM 199 za 24 hodin a kmeny CCDM 441 a 610 srazily mléko za 48 hodin. Všechny kmeny byly 4x přeočkovány v předepsaném optimálním médiu, předtím než byly zaočkovány do nových substrátů s funkčními složkami.

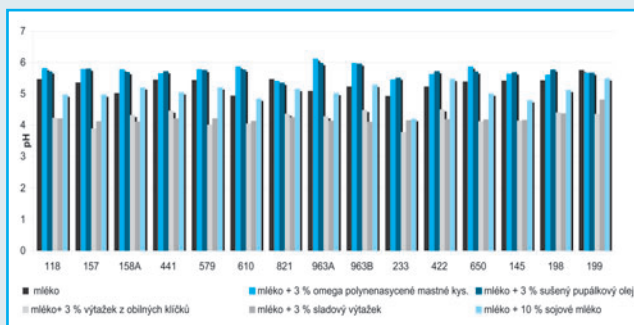
Před vlastním pokusem byly kmeny prověřeny mikroskopicky a byla stanovena aktivní kyselost a počty KTJ/ml (tab. 1). U substrátů s přidavkem bioaktivních látek po tepelném ošetření bylo měřeno pH před zaočkováním (tab. 2).

Fortifikace mléka omega-3 polynenasycenými mastnými kyselinami a sušeným pupalkovým olejem

Mléčná fortifikovaná směs, připravená přidavkem 3 g sušeného natučněného preparátu do 100 ml mléka, byla pasterována při 85 °C po dobu 10 minut. Po zchlazení na kultu-

Tab. 3 Hodnoty aktivní kyselosti substrátů s přidavkem bioaktivních látek po fermentaci (18 h/37 °C)

kmen CCDM	aktivní kyselost pH					
	mléko 1,5 % tuku	mléko + omega-3 PMK	mléko + pupalkový olej	mléko + sojové mléko	mléko + sladový výtažek	mléko + pšeničné klíčky
118	5,47	5,82	5,71	4,97	4,21	4,23
157	5,36	5,79	5,80	4,97	4,12	3,89
158A	5,02	5,78	5,69	5,20	4,11	4,32
441	5,45	5,65	5,72	5,04	4,21	4,46
963A	5,09	6,12	5,98	5,02	4,14	4,28
579	5,44	5,78	5,76	5,20	4,21	4,01
610	4,94	5,87	5,77	4,84	4,13	4,05
821	5,47	5,41	5,35	5,15	4,25	4,36
233	4,93	5,45	5,51	4,19	4,15	3,78
963B	5,23	5,98	5,96	5,28	4,10	4,48
422	5,23	5,63	5,72	5,47	4,19	4,50
145	5,42	5,64	5,68	4,79	4,16	4,14
199	5,76	5,67	5,67	5,49	4,81	4,35
650	5,39	5,87	5,71	5,00	4,18	4,12
198	5,43	5,61	5,77	5,12	4,37	4,40

Graf 1 Aktivní kyselost vybraných kmenů laktobacilů v testovaných substrátech po fermentaci

vační teplotu byla zaočkována 2 % matečné kultury a kultivována při optimálních kultivačních podmínkách po dobu 16-18 hodin. Po kultivaci byla směs zchlazena. Následně byla stanovena aktivní kyselost po fermentaci a počty mikroorganismů KTJ/g směsi. Stanovení bylo provedeno na živné půdě MRS agar pH 5,7 při 37 °C/3 dny za aerobních podmínek. Získané výsledky jsou uvedeny v tab. 3 a 4.

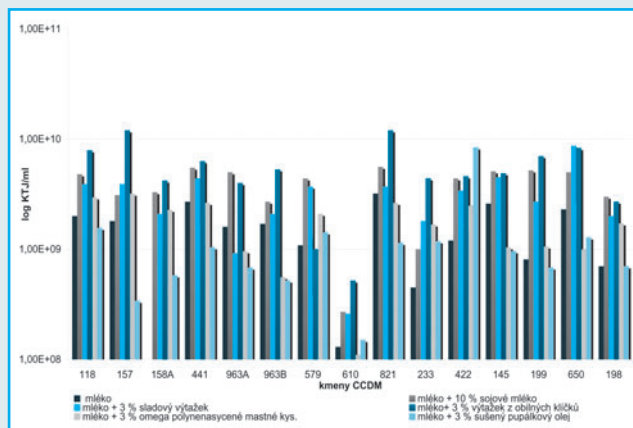
Vliv dalších bioaktivních látek rostlinného původu na růst probiotických bakterií

Dále byly zkoušeny přídatky bioaktivních látek s níže uvedenými koncentracemi

- sušené sojové mléko (10 % hm.) (Z)
- sladový výtazek (3 % hm.) (SV)
- pšeničné klíčky (3 % hm.) (K)
- mléko o tučnosti 1,5 % (M)

Substráty s přídatkem bioaktivních látek byly tepelně ošetřeny. Kontrolní substrát mléko (M) byl podroben sterilačnímu zahřevu 114°C/20 minut. Ostatní substráty s přídatkem sušeného sojového mléka (Z), sladového výtazku (SV) a pšeničných klíčků (K) byla pasterována při teplotě 90 °C s výdrží 10 minut.

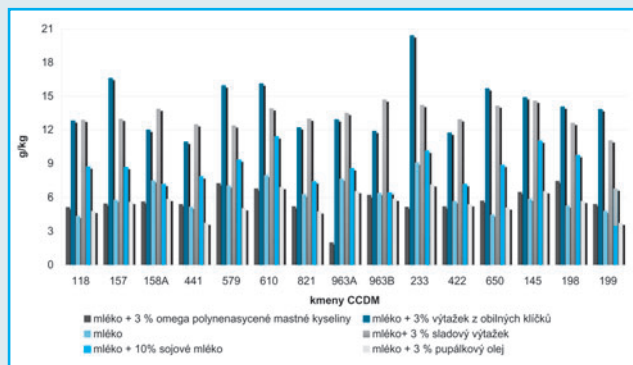
Substráty byly očkované 2 % matečné kultury, kultivace probíhala při teplotě 37 °C po dobu 18 h. Po kultivaci byla

Graf 2 Densita laktobacilů v testovaných substrátech

měřena aktivní kyselost pH (tab. 3) a stanoveny počty mikroorganismů (tab. 4)

Produkce kyseliny mléčné u vybraných kmenů laktobacilů

U substrátů po fermentaci byl měřen obsah organických kyselin pomocí metody kapilární elektroforézy. Sledován byl obsah kyseliny mravenčí, citrónové, fosforečné, octové, máslé a mléčné. Produkce kyseliny mléčné v jed-

Graf 3 Produkce kyseliny mléčné v substrátech po fermentaci**Tab. 4** Vliv přídatku bioaktivních látek rostlinného původu na densitu vybraných probiotických bakterií (kultivace 18 h/ 37 °C)

kmen CCDM	kultivační substrát, počty KTJ/ml					
	mléko 1,5 % tuku	mléko + omega-3 PMK	mléko + pupalkový olej	mléko + sojové mléko	mléko + sladový výtazek	mléko + pšeničné klíčky
118	2,0.10 ⁹	3,0.10 ⁹	1,6.10 ⁹	4,8.10 ⁹	3,9.10 ⁹	7,9.10 ⁹
157	1,8.10 ⁹	3,2.10 ⁹	3,4.10 ⁸	3,1.10 ⁹	3,9.10 ⁹	1,2.10 ¹⁰
158A	1,9.10 ⁷	2,3.10 ⁹	5,8.10 ⁸	3,3.10 ⁹	2,1.10 ⁹	4,2.10 ⁹
441	2,7.10 ⁹	2,6.10 ⁹	1,0.10 ⁹	5,5.10 ⁹	4,4.10 ⁹	6,3.10 ⁹
963A	1,6.10 ⁹	9,6.10 ⁸	6,8.10 ⁸	5,0.10 ⁹	9,2.10 ⁸	4,0.10 ⁹
963B	1,7.10 ⁹	5,6.10 ⁸	5,2.10 ⁸	2,7.10 ⁹	2,1.10 ⁹	5,3.10 ⁹
579	1,9.10 ⁹	2,1.10 ⁹	1,4.10 ⁹	4,4.10 ⁹	3,7.10 ⁹	1,0.10 ⁹
610	1,3.10 ⁸	1,1.10 ⁸	1,5.10 ⁸	2,7.10 ⁸	2,6.10 ⁸	5,2.10 ⁸
821	3,2.10 ⁹	2,6.10 ⁹	1,1.10 ⁹	5,6.10 ⁹	3,7.10 ⁹	1,2.10 ¹⁰
233	4,5.10 ⁸	1,7.10 ⁹	1,2.10 ⁹	1,0.10 ⁹	1,8.10 ⁹	4,4.10 ⁹
422	1,2.10 ⁹	2,5.10 ⁹	8,4.10 ⁹	4,4.10 ⁹	3,4.10 ⁹	4,6.10 ⁹
145	2,6.10 ⁹	1,0.10 ⁹	9,6.10 ⁸	5,1.10 ⁹	4,5.10 ⁹	4,9.10 ⁹
199	8,1.10 ⁸	1,1.10 ⁹	6,8.10 ⁸	5,2.10 ⁹	2,7.10 ⁹	7,0.10 ⁹
650	2,3.10 ⁹	1,0.10 ⁹	1,3.10 ⁹	5,0.10 ⁹	8,7.10 ⁹	8,3.10 ⁹
198	7,0.10 ⁸	1,7.10 ⁹	7,0.10 ⁸	3,0.10 ⁹	2,0.10 ⁹	2,7.10 ⁹

notlivých substrátech, jakožto hlavního produktu mléčného kvašení, je znázorněna v grafu č. 3.

Závěr

Zhodnocení růstu mikroorganismů na testovaných substrátech:

- denzita počtu mikroorganismů v kontrolním substrátu (M) řádově $10^8 - 10^9$ /ml (pouze kmen CCDM 158A počty mikroorganismů 10^7 /ml)
- žádná z testovaných bioaktivních látek a přírodních olejů neinhibuje růst vybraných laktobacilů
- nejvyšší denzity 10^{10} /ml dosaženo u substrátu fortifikovaného pšeničnými klíčky (K) u kmenů CCDM 157 a 821
- fortifikace růstových substrátů testovanými bioaktivními látkami u kmenu CCDM 158A ve srovnání s kontrolou (M) zvyšuje denzitu z řádu 10^7 KTJ/ml na 10^8 až 10^9 KTJ/ml

Zhodnocení vlivu bioaktivních látek v růstových substrátech na senzorycké vlastnosti:

- fermentovaná mléka s přidavkem omega-3 polynenasycených mastných kyselin a s přidavkem sušeného pupalkového oleje měla jemnou nevysráženou konzistenci ojedinele s jemným vločkováním. Přidaný tuk vystával na povrchu mlék, pro zlepšení této vady by bylo třeba mléko před pasterací a fermentací homogenizovat. Chuť byla příjemná s jemnou až nevýraznou chutí po oleji.
- z testovaných bioaktivních látek rostlinného původu má nejlepší vliv na senzorycké vlastnosti kultur sladový výtažek (hustá, hladká sraženina bez uvolňování plazmatu, lahodně mléčně kyselá chuť)
- při fortifikaci substrátu sojovým mlékem je po fermentaci u většiny testovaných kmenů pachut po sojové bílkovině. Při eventuální aplikaci do fermentovaných výrobků by bylo vhodné volit varianty ochucené ovocnou složkou a jako nosnou kulturu použít kmeny s výraznou a čistou mléčnou chutí (jogurtová kultura).
- pšeničné klíčky u některých kmenů laktobacilů zhoršily konzistenci (hrubší konzistence, uvolňování plazmatu), tento nedostatek lze minimalizovat výběrem vhodné kultury pro finální fermentovaný výrobek (nápoj, jogurt) a jako nosnou kulturu zvolit kultury s tvorbou exopolysacharidů (dále EPS).
- růstové substráty s pupalkovým olejem a omega-3 polynenasycenými mastnými kyselinami mají po fermentaci chuť čistou, nevýraznou po oleji. Při aplikaci těchto bioaktivních látek do mléka při výrobě kysaných mléčných výrobků, bude třeba volit jako nosnou kulturu kmeny s výraznější tvorbou kyseliny mléčné a EPS.

Vyhodnocení fermentačních profilů organických kyselin vybraných kmenů laktobacilů v závislosti na kultivačních substrátech:

- žádná z testovaných bioaktivních látek v kultivačním substrátu neovlivnila kvalitativní zastoupení organických kyselin
- nejvyšší množství kyseliny mléčné bylo detekováno u kmene CCDM 233 a CCDM 157 v růstovém substrátu

fortifikovaném pšeničnými klíčky. Množství zjištěné kyseliny mléčné koresponduje s hodnotami aktivní kyselosti (pH). Je možné konstatovat, že testované bioaktivní látky, pšeničné klíčky, sladový výtažek a sojové mléko, u všech testovaných kmenů stimulují tvorbu kyseliny mléčné.

- fortifikace růstových substrátů pupalkovým olejem a omega-3 polynenasycenými mastnými kyselinami potlačuje tvorbu kyseliny mléčné, dochází po ukončení fermentace pouze k vyvločkování (není ale negativně ovlivněna denzita počtu MO).

Mléko pro přípravu preparátů je složitě natučňováno a sušeno. Práce se sušeným preparátem tento krok výrazně zjednodušuje.

Fermentovaná mléka s obsahem pupalkového oleje a omega-3 mastných kyselin dle uvedených postupů splňují nařízení komise (EU) č. 116/2010 a výrobek může být označen jako zdroj omega-3 mastných kyselin. Tvzení, že se jedná o potravinu, která je zdrojem omega-3 mastných kyselin, a jakékoli tvrzení, které má pro spotřebitele pravděpodobně stejný význam, lze použít pouze tehdy, obsahuje-li produkt alespoň 0,3 g kyseliny alfa linoleové na 100 g a na 100 kcal.

Vzhledem k tomu, že fermentovaná mléka s omega-3 polynenasycenými mastnými kyselinami a s pupalkovým olejem obsahovala vysoké počty sledovaných laktobacilů, a jsou tím vhodná pro koncepci funkčních probiotických výrobků, je nutno mimo úpravy technologického zpracování surovin, aplikovat i vhodnou technologickou mikroflóru pro zlepšení konzistenčních parametrů fermentovaných mlék.

Oleje v sušené formě resp. nanosené na maltodextrinové matrici lze s výhodou používat i do sušených mléčných výrobků.

Tato práce vznikla díky podpoře MŠMT při řešení výzkumného záměru MSM 2672286101.

Literatura:

- ANANDAN C., NURMATOV U., SHEIKH A. (2009): Omega 3 and 6 oils for primary prevention of allergic disease: systematic review and meta-analysis. *Allergy*, 64 (6), s. 840-848.
- CORNWELL T., COHICK W., RASKIN I. (2004): Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry*, 65, (8), s. 995-1016.
- FERNANDES G., VENKATRAMAN J. T. (1993): Role of omega-3 fatty acids in health and disease. *Nutrition Research*, 13, Supplement 1, s. S19-S45.
- HARRIS W. S., MILLER M., TIGHE A. P., DAVIDSON M. H., SCHAEFER E. J. (2008): Omega-3 fatty acids and coronary heart disease risk: Clinical and mechanistic perspectives. *Atherosclerosis*, 197, (1), s. 12-24.
- CHONG E. W., ROBMAN L. D., SIMPSON J. A., HODGE A. M., AUNG K. Z., DOLPHIN, T. K., ENGLISH D. R. GILES G. G., GUYMER R. H. (2009): Fat consumption and its association with age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*, 127, (5), s. 674-80.
- NAGESWARI K., BANERJEE R., MENON, V. P. (1999): Effect of saturated, ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids on myocardial infarction. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 10, 6, s. 338-344.
- SANGIOVANNI J. P., CHEW E. Y. (2005): The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Progress in Retinal and Eye Research*, 24, (1), s. 87-138.
- SENAPATI S., BANERJEE S., GANGOPADHYAY D. N. (2008): Evening primrose oil is effective in atopic dermatitis: a randomized placebo-controlled trial. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.*, 74 (5), s. 447-52.

Přijato do tisku: 2. 5. 2011

Lektorováno: 19. 5. 2011