

147,54 mg/kg. Podobný trend byl zjištěn i u fenyletylaminu, kde nebylo v prvním případě detekovatelné množství a ve druhém byl stanoven obsah 22,63 mg/kg. Pozitivní vliv přísad kmene ML4DP se nepotvrdil v případě putrescinu, kde byly zjištěny hodnoty jeho obsahu 47,79 a 30,89 mg/kg. Kmen L17(18/10) v předchozích testech (Černý a kol., 2012) produkoval jen velmi nízké množství putrescinu až na hranici detekce, proto se domníváme, že jeho mírně zvýšené množství mohlo být způsobeno přítomností jiné mikroflóry s dekarboxylační schopností pocházející z mléka. Celkově je ale nutné konstatovat, že celkový obsah biogenních aminů byl velmi nízký, což bylo pravděpodobně způsobeno velkým zvýšením sušiny během zrání pod nátěrem, čímž došlo k zhoršení podmínek pro růst testovaných laktobacilů a zároveň mohla být zhoršena přístupnost prekurzorů biogenních aminů, tj. aminokyselin ve vodné fázi sýra. Sušina sýrů se během zrání zvýšila přibližně o 20 % a aktivita vody klesla až na hodnoty mezi 0,90 a 0,88 (Tab. č. 2a).

Výsledky rozborů sýrů z pokusných výrob neodpovídají zcela výsledkům laboratorních testů (Tab. č. 1), v reálném prostředí byl účinek nižší, přesto ale došlo v přítomnosti kmene ML4DP ke snížení celkového obsahu biogenních aminů v sýrech.

Výsledky dalších pokusných výrob nebylo možné pro omezený rozsah článku uvádět a jsou k dispozici u autorů na pracovišti VÚM v Táboře.

Závěr

Na základě dosažených výsledků byla potvrzena antimikrobiální aktivita živých buněk testovaného kmene *Lbc. paracasei/casei* ML4DP vůči souboru indikátorových kmenů *Lbc. curvatus* jejich společnou kultivací v obnoveném mléce s přísadkou kvasničného autolyzátu v RABITU.

Přídavek kmene *Lbc. paracasei/casei* ML4DP vedl, na základě výsledků plotnové kultivační metody, v polo-provozních podmínkách výroby sýrů ke snížení počtů KTJ/ml biogenní aminy tvořících kmenů *Lbc. curvatus* přibližně o 1 řád, aniž by byly ovlivněny fyzikálně chemické vlastnosti vyrobených sýrů.

Stanovením obsahu vybrané skupiny biogenních aminů v pokusných sýrech byl potvrzen vliv přísadky kmene *Lbc. paracasei/casei* ML4DP. U sýrů vyrobených v polo-provozních podmínkách po době zrání 90 dnů došlo vlivem přísadky testovaného kmene ke snížení obsahu tyraminu přibližně o polovinu.

Tato práce vznikla v rámci institucionální podpory výzkumné organizace VÚM s.r.o., rozhodnutí RO 0511.

Literatura

- ČERNÝ V., HAVLÍKOVÁ Š., KVASNIČKOVÁ E. (2012): Tvorba biogenních aminů v sýrech eidamského typu. In Sborník *Celostátní přehlídka sýrů 2012*, Praha, VŠCHT, s. 197-202, ISBN 978-80-7080-838-2
- DADAČOVÁ E., KRÍŽEK P., PELIKÁNOVÁ T. (2009): Determination of biogenic amines in foods using ultra-performance liquid chromatography (UPLC). *Food Chemistry*, 116, s. 365-370.

- FERNANDEZ M., ZÚNIGA M. (2006): Amino Acid Catabolic Pathways of Lactic Acid Bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 32, s. 155-183
- GAJDŮŠEK S., KLÍČNÍK V. (1988): *Mlékařství*, MZLU v Brně, s. 128
- INNOCENTE N., MARINO M., MARCHESINI G., BIASUTTI M. (2009): Presence of biogenic amines in a traditional salted Italian cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 62, (2), s. 154-160
- LADERO V., MARTÍNEZ N., MARTÍN M. C., FERNÁNDEZ M., ALVAREZ M. A. (2010): qPCR for quantitative detection of tyramin producing bacteria in dairy products. *Food Research International*, 43, s. 289-295
- MARCOBAL A., DE LAS RIVAS B., MUNOZ R. (2006): Methods for the Detection of Bacteria Producing Biogenic Amines on Foods. A Survey. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 1, s. 187-196

Přijato do tisku 11. 3. 2013

Lektorováno 1. 4. 2013

VÝVOJ MLÉČNÝCH SYNBIO- TICKÝCH FERMENTOVANÝCH NÁPOJŮ A JOGURTŮ

Gabriela Kunová^{1,2}, Ivan Boháčenko³, Marta Pechačová¹, Jitka Pinkrová³, Jitka Peroutková¹

¹ - Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

² - Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita v Praze

³ - Výzkumný ústav potravinářský Praha v.v.i.

Development of synbiotic milk-based fermented beverages and yogurts

Abstrakt

Cílem práce bylo na základě experimentálních znalostí o interakcích mezi probiotiky a prebiotiky navrhnout a laboratorně připravit nové synbiotické fermentované mléčné výrobky. Připraveny byly 2 synbiotické fermentované nápoje a 3 synbiotické jogurty s obsahem fruktanů (Orafti P95) a kombinací základních kultur s doplňkovými kulturami s probiotickými vlastnostmi (*Lbc. rhamnosus* CCDM 150, *Bifidobacterium* sp. CCDM 94, *Ent. durans* CCDM 922). Oba typy výrobků byly podrobeny 30-dennímu skladování, v průběhu kterého byl přibližně v sedmidenních intervalech sledován počet mikroorganismů, pH a obsah prebiotik. Obsah fruktooligosacharidů (Orafti P95) zůstal během skladování konstantní s minimálními rozdíly (v rámci nejistoty stanovení). V průběhu skladování nápojů a jogurtů došlo také k poklesu mikroorganismů, přičemž ve většině případů se jednalo o mírný pokles (0,2 - 0,3 log KTJ/g) mikrobiálních počtů doplňkových kultur. U jednoho vzorku, a to u jogurtu obsahujícího kombinaci kmenů CCDM 922 a CCDM 94 došlo však k výraznému poklesu počtů, a to zejména u kmene CCDM 922 (pokles o 4,1 log KTJ/g). Obsah živých buněk probiotických bakterií v tomto případě výrazně poklesl pod hranici jednoho milionu v 1g, resp. 1 ml výrobku stanovenou vyhláškou, kdy

počty na konci skladování činily 2,1 log KTJ/g. V průběhu skladování došlo také k velmi mírnému poklesu pH nápojů a jogurtů (o 0,1 - 0,2), které významněji klesá v prvních 14 dnech skladování.

Klíčová slova: synbiotika, fruktany, skladování, probiotika

Abstract

The aim of this work was to design and to prepare new synbiotic fermented dairy products, based on experimental knowledge on the interactions between pro- and prebiotics. Two synbiotic fermented beverages and three synbiotic yogurts containing fructans (Orafti P95) and a combination of basic cultures and cultures with probiotic properties (*Lbc. rhamnosus* CCDM 150, *Bifidobacterium* sp. CCDM 94, *Ent. durans* CCDM) were prepared. Both, yogurts as well as fermented beverages were subjected to 30-days storage testing, during which bacterial counts, pH values and prebiotic content was monitored. The content of fructooligosaccharides (Orafti P95) remained constant during storage testing. In most samples a slight decrease (0.2 to 0.3 log cfu/g) of probiotic cultures was detected. In one sample, in the yoghurt containing a combination of strains CCDM 922 and CCDM 94 a significant decrease, especially in the case of strain CCDM 922 (drop by 4.1 log cfu/g) was observed. The viable counts in this case at the end of storage were 2.1 log cfu/g, which is deeply below one million in one gram of the product set by the international standard. A very slight decrease of pH values (0.1 - 0.2) of beverages and yogurts, especially in the first 14 days of storage was also observed.

Keywords: synbiotics, fructans, storage, probiotics

Úvod

Velmi perspektivní oblastí vývoje funkčních složek potravin je vývoj synbiotik. Jedná se o směsi probiotik a prebiotik, u kterých je klíčové právě synergické působení obou komponent. Prebiotika jsou definována jako "nestravitelné složky potravy, které při požití v dostatečném množství selektivně stimulují růst a/nebo aktivity jednoho nebo omezeného počtu mikrobů v tlustém střevě, což vede k dokumentovaným zdravotním benefitům" (Ouweland a kol., 2007).

Prebiotika vykazují mnohé zdravotní benefity. Pozitivně ovlivňují složení a metabolickou aktivitu střevní mikroflóry a regulovaný příjem těchto nestravitelných oligosacharidů stimuluje absorpci minerálních látek, zejména Ca, Mg (Van Loo a kol., 1999) a Fe (Bhattarai a kol., 2007). Dále velmi významná je schopnost některých funkčních prebiotik ovlivňovat a kontrolovat hladinu glukosy v krvi (Bennett a kol., 2006), regulovat lipidový metabolismus (Nesselhut a kol., 1993), jak u zdravých jedinců, tak u diabetických pacientů (Kawamori a kol., 2007). Z dalších zdravotních účinků je možné zmínit snížení výskytu průjmů a jejich trvání, a to díky zlepšené

absorpci vody a elektrolytů (Vernazza a kol., 2005). Neméně důležité jsou i technologické vlastnosti prebiotik, díky kterým se využívají v potravinářském průmyslu. Mnohými studii bylo prokázáno jejich protektivní účinek v probiotických výrobcích během skladování, lyofilizace, nebo sprejového sušení (Schwab a kol., 2007; Capela a kol., 2006; Desmond a kol., 2005). Mezi další významné vlastnosti prebiotik patří také nízká kalorická hodnota, snížená sladivost a schopnost modifikovat viskozitu nebo i bod mraznutí potravinářských produktů (Playne a Crittenden, 1996).

Využití pro-, pre- a synbiotik je předmětem současného intenzivního výzkumu, i když v oblasti výzkumu prebiotik bylo oproti probiotikům provedeno daleko méně studií. Nejvíce studií týkajících se prebiotik existuje o fruktooligosacharidech (FOS) a galaktooligosacharidech (GOS). FOS jsou přírodní látky, které lze nalézt v některých rostlinách (např. čekanka, topinambur, chřest, pórek, artyčoky, cibule, česnek apod.). Komerčně dostupné FOS se vyrábějí dvěma způsoby; a to ze sacharosy působením enzymu β -fruktofuranosidasa (transfruktosylační aktivita), nebo kontrolovanou enzymatickou hydrolýzou polysacharidu inulinu (Playne a Crittenden, 1996). Podle způsobu výroby rozlišujeme transfruktosylované FOS (např. Meioligo, Japonsko) nebo FOS získané z inulinu (např. ORAFTI P95, Beneo Orafti, Belgie). Díky svým výživovým a technologickým benefitům se inulin přidává v potravinářském průmyslu do široké škály potravin. Přídavek inulinu (1-3%) zlepšuje senzorické vlastnosti nízkotučných jogurtů nebo některých sýrů, především zvýrazňuje jejich krémovou chuť (Pagliarini a Beatrice, 1994; Spiegel a kol., 1994; Kip a kol., 2006), dále zlepšuje některé fyzikálně-chemické vlastnosti, jako např. texturu, díky schopnosti vázat vodu apod. (Aryana a kol., 2007). Experimentální výsledky prokázaly, že přídavek inulinu zvýšil i počet živých mikroorganismů (laktobacilů a bifidobakterií) v jogurtech po 21-28 dnech skladování při 4 °C ve srovnání s kontrolou bez přídavku inulinu (Donkor a kol., 2007; Capela a kol., 2006, Akalin a kol., 2004). Jak inulin, tak oligofruktosa jsou rezistentní vůči hydrolýze enzymy trávicího traktu, což potvrdili četné in vitro i in vivo studie (např. Molis a kol., 1996; Ellegard a kol., 1997). Navíc nejsou ve významné míře absorbovány trávicím traktem (Alles a kol., 1996; Molis a kol., 1996) a vstupují do tlustého střeva, kde slouží jako substrát pro střevní bakterie, což je dalším důležitým předpokladem potenciálních prebiotik. GOS jsou syntetizovány z laktosy pomocí enzymatické transgalaktosylace účinkem enzymu β -galaktosidasa (Boehm a kol., 2004). Výrobci po celém světě vyrábějí prebiotické směsi různé čistoty, nejčastěji ve formě prášku nebo sirupu (Playne a Crittenden, 1996).

Z klinických testů provedených za účelem stanovení prebiotického účinku vybraných prebiotik vyplynulo, že prebiotický účinek inulinu a oligofruktosy byl zajištěn při dávkách 4 - 8 g/den, u trans-galaktooligosacharidů při dávkách 10 - 15 g/den (Ito a kol., 1993; Bouhnik a kol., 1997; Krusse a kol., 1999; Menne a kol., 2000).

Cílem práce bylo na základě experimentálních znalostí o interakcích mezi probiotiky a prebiotiky, navrhnout a laboratorně připravit nové synbiotické fermentované nápoje a jogurty, a to s ohledem na počet probiotických mikroorganismů, obsah prebiotik a vyhovující sensorické hodnocení po 30 denním skladování.

Materiál a metodika

Mikroorganismy

Na testování byly použity kmeny pocházející ze Sbírký mlékařských mikroorganismů Laktoflora®.

Základní kultury:

- smetanová kultura CCDM 17: směsná kultura kmenů *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetilactis*
- jogurtová kultura CCDM 176 (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)

Doplňkové kultury s probiotickými vlastnostmi:

- *Bifidobacterium* sp. CCDM 94
- *Lactobacillus rhamnosus* CCDM 150
- *Enterococcus durans* CCDM 922

Tab. 1 Kombinace mikroorganismů v synbiotických nápojích (N) a jogurtech (J)

označení	základní kultura	doplňková kultura 1	doplňková kultura 2
N11	CCDM 17	CCDM 94	CCDM 922
N12	CCDM 17	CCDM 94	CCDM 150
J3	CCDM 176	CCDM 94	CCDM 922
J7	CCDM 176	CCDM 150	CCDM 94
J9	CCDM 176	CCDM 150	-

Prebiotické preparáty a substráty

Orafit P95, (Beneo, Belgie) slabě nasádlý, hygroskopický, bílý jemný prášek, obsahující převážně oligofruktosu jako produkt parciální enzymové hydrolyzy čekankového inulinu. Její polymerační stupeň se pohybuje v rozmezí 2 až 8. Chemické složení: oligofruktosa: $\geq 93,2$ %/suš., volná glukosa + fruktosa + sacharosa: $\leq 6,8$ %/suš., sušina: $97 \pm 1,5$ %

Standardy sacharidů

Glukosa, fruktosa, sacharosa, laktosa, vše čistoty p.a. (Fluka, ČR)

Enzymové preparáty

Fructanase mixture (exo-inulase 2000U/ml, endoinulase 200 U/ml, Megazyme, Irsko)

Živné půdy a substráty

MRS agar pH 5,7, M17 agar, Slanetz Bartley agar (vše MILCOM Tábor), TOS-propionate agar (Merck, Německo), UHT polotučné mléko (1,5 % tuku), antibiotika mupirocin (Merck, Německo) a vankomycin (Sigma Aldrich, ČR).

Chromatografický materiál a chemikálie

Kolona Prevail Carbohydrate ES HPLC Polymer Column-W, 250 x 4,6 mm, 5 μ m, předkolona Prevail Carbohydrate ES All-Guard Cartridge (Grace, USA) SPE kolonky Chromabond SB (Macherey Nagel, Německo), mikrofiltry 0,22 μ m, acetonitril gradient grade J.T.Baker (Maneko, ČR), ledová kyselina octová, hydroxid sodný, octan zinečnatý dihydrát, kyselina fosfowolframová 24-hydrát (vše Lach-ner, ČR), L-cystein hydrochlorid (Merck, Německo).

Stanovení obsahu fruktanů

K 10,0 g rozmraženého vzorku fermentovaného synbiotického nápoje nebo synbiotického jogurtu bylo přidáno 2,5 g deproteinačního činidla a doplněno demineralizovanou vodou do 25 g. Po 1 hod stání při laboratorní teplotě byl vzorek přefiltrován přes skládaný papírový filtr. Ze získaného čirého roztoku byly provedeny dvě analýzy:

- 1) stanovení obsahů volné fruktosy, glukosy a sacharosy před hydrolyzou,
- 2) stanovení obsahů fruktosy a glukosy po hydrolyze fruktanasou,

ad 1) cca 2 ml vzorku bylo přefiltrováno přes SPE kolonku Chromabond SB a po 2 5% přídavku čistého acetonitrilu použito k chromatografické analýze (fru_0 , glc_0 , $sach_0$, $lakt_0$),

ad 2) k 1,25 g vzorku bylo přidáno 0,25 g enzymu fruktanasy a směs byla inkubována 30 min. při 40 °C v třepací vodní lázni za mírného míchání. Po přefiltrování přes SPE kolonku Chromabond SB a 25% přídavku čistého acetonitrilu byl vzorek použit k chromatografické analýze (fru_h , glc_h).

Procentický obsah fruktanů byl pak vypočítán podle vzorce:

$$FOS = [3,0 * (fru_h + glc_h) - 2,5 * (fru_0 + glc_0 + sach_0)] * k;$$

kde je 3,0 ... faktor ředění vzorku při hydrolyze,
2,5 ... faktor ředění vzorku při deproteinační,
k faktor přepočtu na obsah FOS o průměrném polymeračním stupni n (pro inulin doporučeno 0,91, pro oligofruktosu 0,93).

Rozšířená nejistota stanovení (U), vyjádřená jako dvojnásobek směrodatné odchylky činí $\pm 0,3$ %.

Stanovení počtu mikroorganismů

Stanovení počtu mikroorganismů bylo prováděno klasickou plotnovou metodou - kultivační podmínky:

Lbc. rhamnosus CCDM 150: MRS agar pH 5,7 + vankomycin, anaerobně, 37 °C/48 hod.

Bifidobacterium sp.: TOS-propionate agar + mupirocin, anaerobně, 37 °C/48 hod.

Ent. durans CCDM 922: Slanetz-Bartley agar, aerobně, 37 °C/48 hod.

smetanová základní kultura CCDM 17: M17 agar, aerobně, 30 °C/48 hod.

jogurtová kultura CCDM 176 - *Lbc. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*: MRS agar pH 5,4, anaerobně, 37 °C/48 hod.; *Streptococcus thermophilus*: M17 agar, aerobně, 37 °C/48 hod.

Současně se stanovením počtů mikroorganismů bylo měřeno pH substrátů potenciometricky.

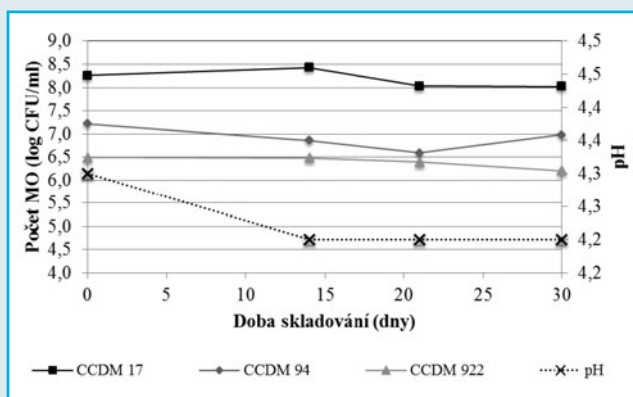
Příprava jogurtů a nápojů

Základ nápojů tvořilo trvanlivé polotučné mléko (1,5 % tuku), v případě jogurtů také sušené odstředěné mléko (0,2 % tuku) tak, aby sušina finálního výrobku byla 18 % (tj. na 1000 g jogurtu bylo přidáno 77 g sušeného odstředěného mléka a 923 g mléka o tučnosti 1,5 %). Přidáno bylo 5 % hmot. prebiotika Orafit P95 a směs byla ohřívána na přibližně 40 °C a míchána po dobu 10 minut. Následovala pasterace při teplotě 85 °C/10 minut. Po zchlazení na kultivační teplotu byl mléčný základ rozdělen do sterilních vzorkovnic a následně zaočkován příslušnými základními a probiotickými kulturami. V případě nápojů byla u kmenů CCDM 150 a 922 použita očkovací dávka 0,5 %, pro kulturu CCDM 17 inokulum 1 % a pro kmen CCDM 94 bylo použito inokulum 2 %. V případě jogurtů byla u kmene CCDM 150 použita očkovací dávka 0,3 %, pro CCDM 922 dávka 0,5 %, pro jogurtovou kulturu CCDM 176 bylo použito inokulum 0,1 % a pro kmen CCDM 94 inokulum 2 %. Po zaočkování byly vzorky kultivovány v termostatu při teplotě 30 °C po dobu 16 hodin. Po vyjmutí z termostatu se koagulát důsledně rozmíchal a vzorky byly zchlazeny pro ukončení procesu fermentace. Následně byly odebrány vzorky na stanovení počtů mikroorganismů, pH a obsah fruktanů na začátku pokusu, tj. po fermentaci.

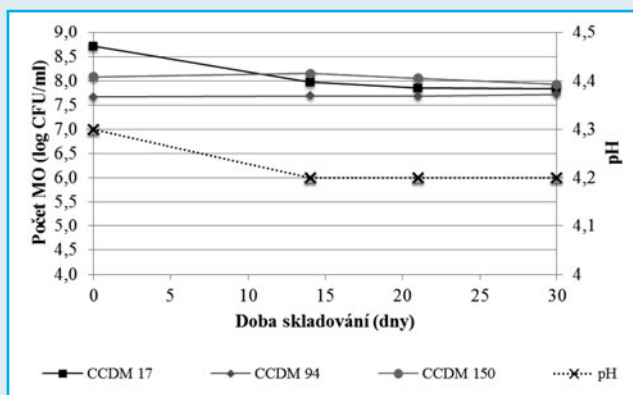
Se vzorky synbiotických nápojů a jogurtů byly uskutečněny 30 denní skladovací pokusy při teplotě 4-6 °C, při kterých byl v cca 7 denních intervalech sledován počet mikroorganismů, pH a obsah fruktanů, současně bylo na začátku a na konci skladování provedeno jejich interní senzorické hodnocení. Vzorky zkoušených kombinací základních kultur a pre- a probiotik byly v první fázi řešení senzoricky hodnoceny 7 člennou komisí, která byla složena z řešitelů projektu. Toto hodnocení mělo pouze screeningový charakter, neboť byl hodnocen pouze tzv. "celkový dojem", podle kterého byly vzorky rozděleny do tří kategorií, a to jako výborné (1), uspokojivé (2), resp. neuspokojivé (3).

Výsledky a diskuse

Fermentované synbiotické nápoje a jogurty musí splňovat některá kritéria, konkrétně podle platných mezinárodních norem (Vyhláška č. 370/2008 Sb.) je požadována přítomnost minimálně jednoho milionu živých buněk probiotických bakterií v jednom gramu resp. mililitru výrobku, a to až do konce záruční doby. U vzorků nápojů došlo v průběhu skladování k mírnému poklesu počtu probiotických mikroorganismů, a to o 0,2 až 0,3 log KTJ/ml (obr. 1-2). Pokud se týká základní smetanové kultury CCDM 17, činil pokles počtu mikroorganismů do jednoho logaritického řádu KTJ/ml. U vzorků jogurtů J7 a J9, činil rozdíl počtu mikroorganismů na začátku a na konci skladování u základní jogur-

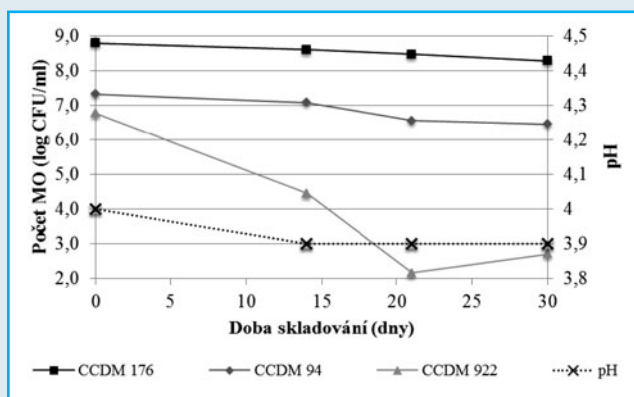


Obr. 1 Průběh změn počtu MO a pH při skladování synbiotického nápoje N11

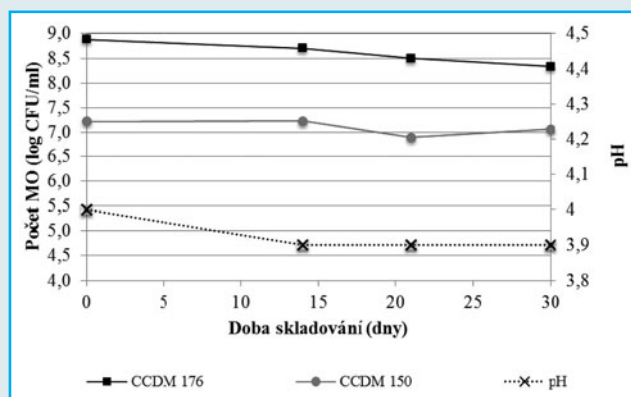


Obr. 2 Průběh změn počtu MO a pH při skladování synbiotického nápoje N12

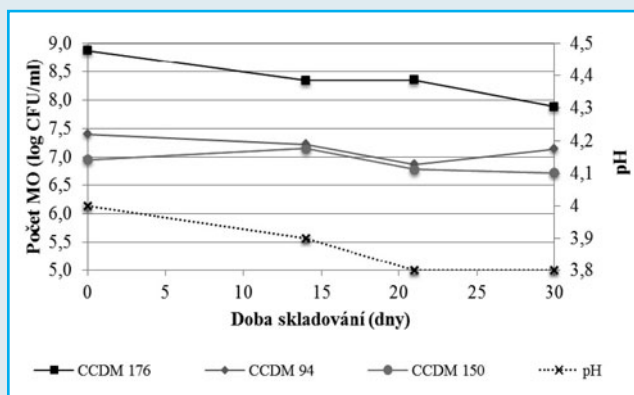
tové kultury CCDM 176 do jednoho logaritického řádu KTJ/g (obr. 4-5) a u probiotických kmenů CCDM 94, resp. CCDM 150 přibližně 0,2 log KTJ/g. Výjimkou byl jogurt J3, u kterého byl pozorován výraznější pokles probiotických bakterií, v případě kmene CCDM 94 o 0,87 log KTJ/g, v případě kmene *Enterococcus durans* CCDM 922 došlo k výraznému poklesu, a to až o 4,1 log KTJ/g (obr. 3). Pro lepší názornost průběhu změn počtu mikroorganismů během skladování byly výsledky zpracovány i graficky (obr. 1-5). Průběh změn počtu mikroorganismů je možné charakterizovat jako mírný, plynulý pokles bez výrazných výkyvů, jak v případě probiotik, tak základních kultur. Výjimkou byl vzorek jogurtu J3. V tomto případě je zřejmé, že pokles počtu mikroorganismů na konci skladování pod hodnotu 6,0 log KTJ/g se týká pouze kmene *Ent. durans* CCDM 922. Začátek tohoto poklesu se projevil již po 14 dnech skladování, kdy z počáteční hodnoty 6,78 log KTJ/ml došlo k prudkému poklesu na 4,5 log KTJ/g. V 21 dnu skladování počet mikroorganismů dále klesl na hodnotu 2,1 log KTJ/g, která se do konce skladování neměnila. Lze předpokládat, že u tohoto vzorku došlo k vzájemným negativním interakcím mezi mikroorganismy, což nasvědčuje tomu, že určité kombinace mikroorganismů není vhodné aplikovat do výrobků současně, má-li se dosáhnout minimální počet probiotických bakterií na konci expirace 10⁶ KTJ/ml/g.



Obr. 3 Průběh změn počtu MO a pH při skladování synbiotického jogurtu J3



Obr. 5 Průběh změn počtu MO a pH při skladování synbiotického jogurtu J9



Obr. 4 Průběh změn počtu MO a pH při skladování synbiotického jogurtu J7

V průběhu skladování nápojů a jogurtů došlo též k velmi mírnému poklesu jejich pH (o 0,1-0,2), které významněji klesá v prvých 14 dnech skladování. Pokud se týká obsahu fruktoooligosacharidů (Orafti P95), zůstává během skladování konstantní a uvedené rozdíly jsou v rámci nejistoty jejich stanovení (Tabulka 2 a 3). V předcházejících experimentech (Bohačenko a kol., 2012) bylo prokázáno, že při 16-hodinové fermentaci za optimálních podmínek dochází v případě testovaných laktobacilů (CCDM 150 a 151) k využívání jak inulinu z Orafti GR, tak FOS z Orafti P95. Nicméně *Enterococcus durans* CCDM 922 je možné použít pro výrobu fermentovaných synbiotických nápojů a jogurtů pouze v kombinaci s Orafti P95 vzhledem k tomu, že u tohoto kmene dochází k velmi slabému využívání inulinu z Orafti GR.

Po sensorické stránce byl kladně hodnocen zejména nápoj obsahující kmen *Enterococcus durans* CCDM 922. Ten se kromě tvorby aromotvorních látek významně podílí také na zvýšení viskozity, a to díky produkci extracelulárních polysacharidových substancí (EPS). Fermentované výrobky s obsahem tohoto kmene jsou pak viskóznější, krémovitější, což je posuzováno ze sensorického hlediska velmi pozitivně. Důležitým poznatkem je, že přídavek prebiotika Orafti P95 neovlivňuje po výrobě ani po skladování (30 dní/2-6 °C) konzistenční vlastnosti jogurtů a nápojů a nedochází k nežádoucímu uvolňování plazmatu. Vlivem přídavku prebiotik nedochází k výraznému poklesu pH, ani

k chuťovým změnám. Jako základní kultura pro výrobu fermentovaných nápojů byla použita smetanová kultura CCDM 17, která se podílí na vytváření lahodné mléčné chuti nápojů díky své produkci aromotvorních látek (zejména diacetylů). Kmen *Bifidobacterium* sp. CCDM 94 je vhodné kombinovat s další probiotickou kulturou, a to z důvodu vyšší produkce kyseliny octové, která by mohla způsobovat příliš kyselou (octovou) chuť finálního výrobku.

Tab. 2 Změna obsahu prebiotik (fruktanů) a sensorické hodnocení nápojů v průběhu skladování

nápoj	den	obsah fruktanů (%)	sensorické hodnocení
N11	0	1,8	1
	30	1,8	1
N12	0	2,1	1
	30	2,0	1

sensorické hodnocení: 1- výborný, 2 - uspokojivý

Tab. 3 Změna obsahu prebiotik (fruktanů) a sensorické hodnocení jogurtů v průběhu skladování

nápoj	den	obsah fruktanů (%)	sensorické hodnocení
J3	0	3,1	1
	30	2,9	1-2
J7	0	3,0	1-2
	30	3,1	1-2
J9	0	3,0	1
	30	3,0	1

sensorické hodnocení: 1- výborný, 2 - uspokojivý

Závěr

Na základě experimentálních znalostí o interakcích mezi pro- a prebiotiky byly laboratorně připraveny synbiotické fermentované nápoje a jogurty s obsahem fruktanů a kombinací základních kultur s doplňkovými kulturami s probiotickými vlastnostmi. Vypracován a podán byl také návrh užitečného vzoru č. 24725 "Synbiotický jogurt s obsahem probiotik a fruktanů".

Poděkování

Tato práce byla uskutečněna s podporou MZe ČR, NAZV, projektu QI91B274.

Použitá literatura:

- AKALIN, A.S., FENDERYA, S., AKBULUT, N. (2004): Viability and activity of bifidobacteria in yogurt containing fructooligosaccharide during refrigerated store. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 39: 613-321.
- ALLES, M.S., HAUTVAST, J.G.A., NAGENGAST, F.M. (1996): Fate of fructo-oligosaccharides in the human intestine. *Br. J. Nutr.*, 76: 211.
- ARYANA, K.J., PLAUCHE, S., RAO, R.M., MCGREW, P., SHAH, N.P. (2007): Fat-free plain yoghurt manufactured with inulins of various chain lengths and *Lactobacillus acidophilus*. *J. Food Sci.*, 72: 79-84.
- BENNETT, N., GRECO, D.S., PETERSON, M.E., KIRK, C., MATHES, M., FETTMAN, M.J. (2006): Comparison of a low carbohydrate - low fiber diet and a moderate carbohydrate-high fiber diet in the management of feline diabetes mellitus. *J. Feline Med. Surg.*, 8: 73-84.
- BHATTARAI, S.R., REMANT, B.K.C., ARYAL, S., KHIL, M.S., KIM, H.Y. (2007): N-acylated chitosan stabilized iron oxide nanoparticles as a novel nano-matrix and ceramic modification. *Carboh. Polymers*, 69: 467-477.
- BOEHM, G., FANARO, S., MORO, G., KNOL, J., ARSLANOGLU, S., MOSCA, F., STAHL, B. (2004): Prebiotic oligosaccharides in infant nutrition: effects on intestinal flora. *Agro FOOD industry hi-tech*, September/October: 14-16.
- BOHÁČENKO, I., PINKROVÁ, J., KOPICOVÁ, Z., KUNOVÁ, G., PEROUTKOVÁ, J., PECHAČOVÁ, M. (2012): Fermentace komerčních fruktanů inulinového typu laktobacily a enterokoky. *MLékařské listy*, 132: IV-VIII.
- BOUHNÍK, Y., FLOURIÉ, B., D'AGAY-ABENSOEUR, L., POCHART, P., GRAMET, G., DURAN, M., RAMBAUD, J.C. (1997): Administration of transgalactooligosaccharides increases bifidobacteria and modifies colonic fermentation metabolism in healthy humans. *J. Nutr.*, 127: 444-448.
- CAPELA, P., HAY, T.K.C., SHAH, N.P. (2006): Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yogurt and freeze-dried yogurt. *Food Res. Int.*, 39: 203-211.
- DESMOND, C., CORCORAN, B.M., COAKLEY, M., FITZGERALD, G.F., ROSS, R.P., STANTON, C. (2005): Development of dairy-based functional foods containing probiotics and prebiotics. *Austr. J. Dairy Technol.*, 60: 121-126.
- DONKOR, O.N., NILMINI, S.L.I., STOLIC, P., VASILJEVIC, T., SHAH, N.P. (2007): Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *Int. Dairy J.*, 17: 657-665.
- ELLEGARD, L., ANDERSSON, H., BOSAEUS, I. (1997): Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, and the excretion of cholesterol, Fe, Ca, Mg and bile acids but increases energy excretion in man. A blinded controlled cross-over study in ileostomy subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 51: 1.
- ITO, M., KIMURA, M., DEGUCHI, Y., MIYAMORI-WATABE, A., YAJIMA, T., KAN, T. (1993): Effects of transgalactosylated disaccharides on the human intestinal micro flora and their metabolism. *J. Nutr. Sci. Vitam.*, 39: 279-288.
- KAWAMORI, R., KADOWAKI, T., ONJI, M., SEINO, Y., AKANUMA, Y. (2007): Hepatic safety profile and glycemic control of pioglitazone in more than 20 000 patients with type 2 diabetes mellitus: Postmarketing surveillance study in Japan. *Diab. Res. Clin. Practice*, 76: 229-235.
- KIP, P., MEYER, D., JELLEMA, R.H. (2006): Inulins improve sensory and textural properties of low-fat yogurts. *Int. Dairy J.*, 16: 1098-1103.
- KRUSSE, H.P., KLEESSEN, B., BLAUT, M. (1999): Effects of inulin on faecal Bifidobacteria in human subjects. *Br. J. Nutr.*, 82: 375-382.
- MENNE, E., GUGGENBUHL, N., ROBERFROID, M.B. (2000): Fn-type chicory inulin hydrolysate has a prebiotic effect in humans. *J. Nutr.*, 30.
- MOLIS, C., FLORIE, B., OUARNE, F. (1996): Digestion, excretion, and energy value of fructooligosaccharides in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, 64: 324.
- NESSSELHUT, T., RATH, W., GRUNOW, E., KAUFHOLZ, G., OSTERMAL, U., CILLIEN, N. (1993): The relationship between urinary Tamm-Horsfall glykoprotein excretion and urinary activity of glycosidases in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Europ. J. Obstetr. Gynecol. Reprod. Biology*, 48: 23-31.

- OUWEHAND, A.C., TIHONEN, K., MAKIVUOKKO, H., RAUTONEN, N. (2007): Synbiotics: combining the benefits of pre- and probiotics. In: Functional dairy products. Woodhead publishing, Cambridge: 195-209.
- PAGLIARINI, E., BEATRICE, N. (1994): Sensory and rheological properties of low-fat filled "pasta filata" cheese. *J. Dairy Res.*, 61: 299-304.
- PLAYNE, M. J., CRITTENDEN, R. (1996): Commercially available oligosaccharides. In: Bulletin of the International Dairy Federation No 313/1996: 9-22.
- SCHWAB, C., VOGEL, R., GÄNZLE, M.G. (2007): Influence of oligosaccharides on the viability and membrane properties of *Lactobacillus reuteri* TMW1.106 during freeze-drying. *Cryobiology* 55: 108-114.
- SPIEGEL, J.E., ROSE, R., KARABELL, P., FRANKOS, V.H., SCHMITT, D.F. (1994): Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. *Food Technol.*, 48: 61-65.
- VAN LOO, J., CUMMINGS, J., DELZENNE, N., ENGLYST, H., FRANCK, A., HOPKINS, M., KOK, N., MACFARLANE, G., NEWTON, D., QUIGLEY, M., ROBERFROID, M., VAN VLIET, T., VAN DEN HEUVEL, E. (1999): Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095). *Br. J. Nutr.*, 81: 121-132.
- VERNAZZA, C.L., GIBSON, G.R., RASTALL, R.A. (2005): In vitro fermentation of chitosan derivatives by mixed cultures of human faecal bacteria. *Carboh. Polymers*, 60: 539-545.

Přijato do tisku 11. 3. 2013

Lektorováno 4. 4. 2013

POČET SOMATICKÝCH BUNĚK A DALŠÍ UKAZATELE JAKOSTI MLÉKA

Ing. Jindřich Kvapilík, DrSc., Ing. Jan Syrůček

Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i., Praha - Uhřetěves

Somatic cell counts and other indicators of milk quality

Souhrn

V žádném z téměř 700 vzorků "měsíčních" bazénových vzorků mléka analyzovaných v německých a českých laboratořích nepřekročil PSB a CPM stanovený limit, nízký byl výskyt RIL a uspokojivý obsah bílkovin a tuku. Srovnání výsledků mezi několika státy poukazuje na rezervy v jakosti českého mléka především v PSB a v CPM.

Z regresních koeficientů lze odhadnout, že snížení PSB o 100 tis. v 1 ml bazénového mléka mělo za následek signifikantní pokles CPM o cca 15 tis. a podílu vzorků s RIL o 0,14 %, zvýšení obsahu bílkovin a tuku o 0,09 a 0,21 %, nárůst podílu vzorků ve třídě "S" o 26 % a pokles podílu vzorků ve třídě II o 0,6 %. Modelově vypočítané tržby byly při PSB 100 tis. v 1 ml o cca 0,79 Kč za kg mléka, 15,80 Kč na krávu a den a 575 tis. Kč za modelový podnik a rok (100 krav, dodávka 20 kg mléka na krávu a den a 730 tis. kg za rok) vyšší než při PSB 350 tis. v 1 ml mléka. Zjištěné výsledky potvrdily, že snižování PSB v mléce má za následek průkazné zvyšování jeho jakosti a nákupní ceny.

Klíčová slova: mléko, PSB, CPM, RIL, tučnost, bílkoviny, nákupní ceny