

# VÝVOJ MLÉČNÝCH VÝROBKŮ PRO ÚČELY ROBOTICKÉ MINIMLÉKÁRNY

Šalaková A.<sup>1</sup>, Nehyba A.<sup>1</sup>, Drbohlav J.<sup>1</sup>, Roubal P.<sup>1</sup>, Čihák P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

<sup>2</sup> Fabric Construction s.r.o.2

## Development of dairy products for robotic dairy

### Abstrakt

Cílem výzkumu bylo aplikovat technologii výroby jogurtového nápoje a nápoje fermentovaného směsí mikroorganismů *Streptococcus thermophilus* CCDM 144, *Lactobacillus acidophilus* CCDM 151 a *Bifidobacterium* sp. CCDM 94 s obsahem prebiotik do podmínek plně robotizované minimlékárny s prodejním, výdejovým místem Milkbar a tím poskytnout možnost optimalizace výrobních postupů a současně obohatit sortiment o výrobky se zdravotním benefitem. Nová koncepce zpracování mléka a nových poznatků v oboru robotiky byla zaměřena na sledování vlivu teploty na průběh fermentace jogurtového nápoje inokulovaného jogurtovou kulturou CCDM 1076 a na kysací schopnost a senzorické vlastnosti fermentovaného výrobku s prebiotiky. Bylo zjištěno, že fermentační teplotou lze významně ovlivnit průběh výroby jogurtového nápoje a tím optimalizovat využití technologického zařízení.

### Abstract

The aim of the research was to apply the technology of yoghurt drink and milk fermented using mixture of *Streptococcus thermophilus* CCDM 144, *Lactobacillus acidophilus* CCDM 151 and *Bifidobacterium* sp. CCDM 94 containing prebiotics to conditions of fully robotized dairy with sale place Milkbar and thus provide an opportunity to optimize manufacturing processes and at the same time enrich the assortment of products with health benefits. The new concept of milk processing and new developments in the field of robotics has been focused on monitoring the effect of temperature during fermentation of yoghurt drink inoculated using culture CCDM 1076 and acidification ability and sensoric properties of the fermented product with prebiotics. It was found that the fermentation temperature can significantly affect the time course of production of the yoghurt drink and thereby optimize the utilization of processing equipment.

### Úvod

V lidské výživě je rostoucí zájem spotřebitelů o funkční potraviny, zdravou výživu a potraviny, které přinášejí při-

danou hodnotu ke konzumované stravě (Rajasekaran A., Kalaivani M., 2013). Přidanou hodnotu přinášejí bioaktivní složky, mezi které patří probiotika a prebiotika (Vieira A.T. a kol., 2013). Probiotika jsou živé mikroorganismy, které aplikovány v přiměřeném množství příznivě ovlivňují zdravotní stav, prevenci a léčení chorob. Aby probiotická potravina byla účinná, musí být schopná dodat spotřebiteli vysoký počet prospěšných mikroorganismů, např. různých druhů bifidobakterií a laktobacilů a to ve viabilním stavu. Je požadováno, aby tento počet byl minimálně  $10^6$  CFU/ml nebo g. Tento požadavek často představuje hlavní technologický problém. Další významnou bioaktivní složkou funkčních potravin může být i prebiotikum (Collins M. D., Gibson G. R., 1999). Prebiotika jsou látky nenatratitelné enzymy eukariotických buněk, jejichž konzumace má příznivý fyziologický účinek na hostitele selektivní stimulací růstu nebo aktivity některých střevních kmenů mikroflóry, zejména probiotických. Prebiotikum tvoří důležitý substrát, který bakterie mléčného kvašení, které mají probiotické vlastnosti, využívají pro svůj růst a pomnožování (Gibson G. R., Roberfroid M. B., 2010). Prebiotika mají schopnost nejen chránit střevní sliznici (Cruz-Guerrero A. a kol., 2013), ale jsou schopny vázat vitaminy a eliminovat toxiny. Prebiotika se též podílí na zpomalení vstřebávání jednoduchých sacharidů. Dalším pozitivem prebiotik je jejich vliv na objem stolice, stimulují pohyb střev a tím pomáhají zabraňovat vzniku zácpy (Roberfroid M. B., 2000). Tuhá stolice a větší namáhání střevní stěny mohou v pokročilejším věku vést k propuknutí zánětlivého onemocnění střev zvané divertikulóza (Floch M.H., 2014). Podporují též imunitní systém a brání růstu choroboplodných bakterií. Prebiotická vláknina je schopná vázat i cholesterol. Prebiotika jsou nejvýznamnějším preventivním faktorem, který brání vzniku rakoviny tlustého střeva (Shida K., Nomoto K., 2013).

Inovovaný systém robotické minimlékárny s obsluhou Milkbar bude zákazníkům nabízet celý sortiment mléčných výrobků jednak klasických, ale i mléčných výrobků s přidanou hodnotou. Přidaná hodnota bude naplněna významně vysokými počty probiotických mikroorganismů a i fortifikací oligosacharidickou složkou.

Uvažuje se, že kontejnerová robotická mlékárna bude vyrábět pasterované mléko, pasterované mléko ochucené, jogurtové mléko v bílé variantě a ochucených variantách, probiotický kysaný výrobek a zmrzlinu s celou škálou příchutí. Tento příspěvek představuje výsledky optimalizace parametrů ve výrobě jogurtového nápoje. Optimalizace byla nasměrována na ideální využití technologických možností, které umožňuje symbiotická kultivace bakterií *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus* a tím přispět k nastavení pružného a ekonomického technologického procesu v robotické minimlékárně. Dalším vyvíjeným a testovaným výrobkem pro účely robotické minimlékárny byl kysaný mléčný výrobek s obsahem probiotik a prebiotika.

## Optimalizace teplotních a časových parametrů při výrobě výrobku jogurtového typu

Z důvodu možnosti optimalizace nastavení výrobního procesu v robotické minimlékárně v závislosti na době fermentačního procesu s cílem maximálního využití kapacity výrobních zařízení, byly ověřovány vlivy kultivačních podmínek na časovou náročnost fermentace v podmínkách robotické mlékárny.

### Materiál a metody

Směsná kultura CCDM 1076 obsahující kmeny *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*. Kultura byla v lyofilizované formě.

Mléko 3,5% tuku

Měření aktivní kyselosti na kontinuálním zařízení Magic, Gryff

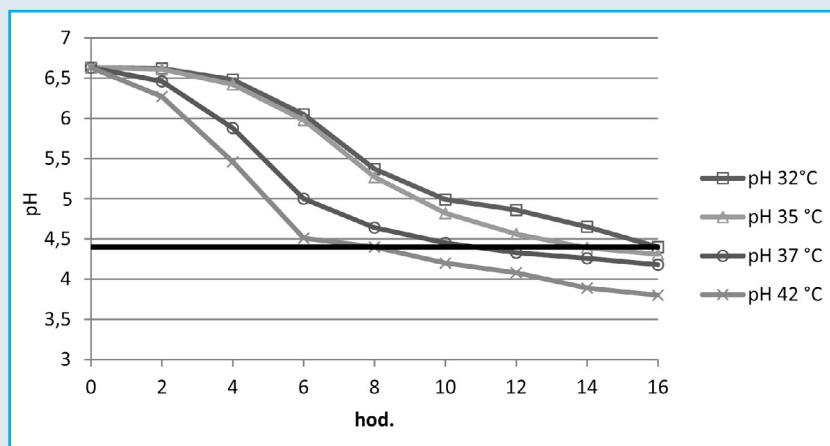
### Výsledky a diskuze

Testy byly zaměřeny na sledování vlivu kultivační teploty 32, 35, 37 a 42 °C na délku kultivace jogurtového nápoje. Průběh kysání byl sledován ve sterilním mléce 3,5% tuku.

**Tab. 1** Sledování vlivu teploty na průběh fermentace jogurtové kultury CCDM 1076

čas / hod.	0	2	4	6	8	10	12	14	16
pH při 32 °C	6,63	6,62	6,48	6,05	5,37	4,99	4,86	4,65	4,4
pH při 35 °C	6,63	6,61	6,42	5,98	5,27	4,82	4,56	4,39	4,31
pH při 37 °C	6,63	6,46	5,88	5	4,64	4,45	4,33	4,26	4,18
pH při 42 °C	6,63	6,27	5,46	4,51	4,4	4,2	4,08	3,89	3,8

Pro ukončení kultivace výrobku jogurtového typu je optimální hodnota aktivní kyselosti výrobku pH 4,4. Mléčná bílkovina je zkoagulovaná a výrobek je senzorycky z hlediska nároků současných spotřebitelů nejvíce přijatelný. Mléka byla kultivována při teplotách 32, 35, 37 a 42 °C. Předtím byla zaočkována dávkou inokula 1%. Hodnoty aktivní kyselosti byly měřeny po celou dobu fermentačního procesu (Tab. č. 1).



**Graf 1** Sledování vlivu teploty na průběh fermentace jogurtové kultury CCDM 1076

Z výsledků měření vyplývá, že délku výrobního procesu lze ovlivňovat teplotou fermentace. Optimální hodnota aktivní kyselosti výrobku jogurtového typu byla dosažena při kultivační teplotě 32 °C za dobu 16 hodin. Při teplotě 35 °C byla doba kultivace k dosažení optimální kyselosti méně než 14 hodin, při teplotě 37 °C 11 hodin a 42 °C 8 hodin. Jogurty byly následně zchlazeny a uchovány při teplotě 4 °C (Graf č.1).

Inokulace mléka a kultivace při různých teplotách byla opakována a fermentace byla zastavena při hodnotě optimální kyselosti pH 4,4. Výrobky byly následně zchlazeny a byl stanoven počet KTJ/ml. Počet KTJ/ml *Streptococcus thermophilus* byl stanoven na agarové půdě M17 pH 6,8, Petriho misky byly kultivovány při teplotě 37 °C po dobu 48 hodin. Počet KTJ/ml *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* byl stanoven na živné agarové půdě MRS pH 5,4, kultivace probíhala při 37 °C po dobu 72 hodin anaerobně (Tab. č. 2).

**Tab. 2** Počet KTJ/ml *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* mléčného výrobku jogurtového typu

Mléčný výrobek jogurtového typu kultivovaný při různých teplotách	Počet KTJ/ml M17 pH 6,8	Počet KTJ/ml MRS pH 5,4
Teplota 32 °C, očkovací dávka 1%	3,4.10 <sup>8</sup>	8,0.10 <sup>7</sup>
Teplota 35 °C, očkovací dávka 1%	1,7.10 <sup>8</sup>	5,4.10 <sup>7</sup>
Teplota 37 °C, očkovací dávka 1%	4,5.10 <sup>8</sup>	7,3.10 <sup>7</sup>
Teplota 42 °C, očkovací dávka 1%	2,0.10 <sup>8</sup>	6,2.10 <sup>7</sup>

Počet KTJ/ml směsi *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve vyrobených jogurtových nápojích splňuje požadavky vyhlášky č.77/2003 Sb.

### Závěr

Sledování různých kultivačních podmínek pro výrobu jogurtového výrobku umožní v technologii robotické minimlékárny optimalizaci využití výrobních zařízení a to z důvodu umožnění nepřerušování kontinuity výrobního a následně sanitačního, skladovacího a prodejního procesu.

### Nutriční fortifikace kysaného mléčného výrobku s probiotiky o prebiotika

Z důvodu významného navýšení nutričních benefitů kysaného výrobku s probiotiky byl otestován přidavek prebiotika do mléčného substrátu.

### Materiál

*Streptococcus thermophilus* CCDM 144  
*Lactobacillus acidophilus* CCDM 151  
*Bifidobacterium* sp. 94  
 Orafit GR (Azelis)  
 Vivastar Dietary Fibre (JRS)

## Výsledky

Byly testovány dva prebiotické preparáty Orafiti GR a Vivastar Dietary Fibre s obsahem vlákniny z cereálií a psyllia.

### 1. Kysaný mléčný výrobek s Orafiti GR

Mléko 3,5 % tuku s přidavkem 2 % Orafiti GR bylo vysoce pasterováno (85 °C/ 10 minut) a zaočkováno směsnou mlékařskou kulturou o složení CCDM 144 v dávce 1 %, CCDM 151 v dávce 0,1 % a CCDM 94 v dávce 0,1 %. Zaočkované mléko bylo kultivováno při teplotě 37 °C po dobu 15 hodin. Poté zchlazeno na teplotu 4 °C.

Po kultivaci byla stanovena aktivní kyselost a sensorické vlastnosti kysaného výrobku panelem 3 hodnotitelů (Tab. č. 3).

**Tab. 3** Stanovení aktivní kyselosti a zhodnocení sensorických vlastností kysaného nápoje s 2 % Orafiti GR

Aktivní kyselost (pH)	Vzhled a konzistence	Chuť a vůně
4,2	Hustá až viskózní konzistence bez uvolňování syrovátky	Lahodná, mléčná

### 2. Kysaný mléčný výrobek s Vivastar Dietary Fibre

Mléko 3,5 % tuku bylo vysoce pasterováno (85 °C/10 minut) a zaočkováno směsnou mlékařskou kulturou o složení CCDM 144 v dávce 1 %, CCDM 151 v dávce 0,1 % a CCDM 94 v dávce 0,1 %. Mléko bylo kultivováno při teplotě 37 °C po dobu 15 hodin. Poté zchlazeno na teplotu 4 °C a byla přidána vláknina Vivastar Dietary Fibre s ochucením vanilka v dávce 80 g na 1 l mléka.

Po kultivaci byla stanovena aktivní kyselost a sensorické vlastnosti kysaného výrobku panelem 3 hodnotitelů (Tab. č. 4).

**Tab. 4** Stanovení aktivní kyselosti a zhodnocení sensorických vlastností kysaného nápoje s 8 % Vivastar Dietary Fibre

Aktivní kyselost (pH)	Vzhled a konzistence	Chuť a vůně
4,2	Hustá až viskózní konzistence bez uvolňování syrovátky	Lahodná, po ochucení - vanilka

## Závěr

Pokusy bylo zjištěno, že kysaný mléčný výrobek s probiotickými mikroorganismy lze obohatit o prebiotickou vlákninu bez negativního vlivu na konzistenci a chuť výrobku. Mléčný výrobek s Orafiti GR je vhodný produkt pro výdej v Milkbaru i pro skladování. Kysaný mléčný výrobek s probiotiky a vlákninou Vivastar Dietary Fibre je možno připravovat pouze jako nápoj pro okamžitou konzumaci pro přímý výdej v Milkbaru.

Uvedené výsledky vznikly za podpory TA02011293, RO0513.

### Literatura:

- COLLINS M.D., GIBSON G.R. (1999): Probiotics, prebiotics, nad synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* Vol. 69, no.5, 1052-1057.
- CRUZ-GUERRERO A. a kol. (2013): Commercial probiotic bacteria and prebiotic carbohydrates: a fundamental study on prebiotics uptake, antimicrobials production and inhibition of pathogens. *J.Sci.Food Agric.*, doi: 10.1002/jsa.6549. (Epub akad of print)

- FLOCH M.H. (2014): Is there really anything new on dietary fiber in colonic diverticular disease? *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 1542-3565 (14).
- GIBSON G.R., ROBERFROID (2010): Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *JN The Journal of nutrition*. Downloaded from jn.nutrition.org at International Livestock Research Institute.
- RAJASEKARAN A., KALAIVANI M. (2013): Designer foods nad their benefits: A review. *J. Food Sci. Technol.* 50(1):1-16.
- ROBERFROID M. B.(2000): Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am. J. Nutr.* Vol. 71, no. 6, 1682-1687.
- SHIDA K., NOMOTO K. (2013): Probiotics as efficient immunopotentiators: Translational role in cancer prevention. *Indian. J. Med. Res.*, 138 (5): 808-14.
- VIEIRA AT, TEIXEIRA MM., MARTINS FS. (2013): The role of probiotics and prebiotics in inducing gut immunity. *Front. Immunol.*, 4, 445.

Přijato do tisku: 13. 1. 2014

Lektorováno: 4. 2. 2014

## JEDNODUCHÝ POSTUP IZOLACE DNA Z BUNĚK BAKTERIÍ RODU LACTOBACILLUS

**Fričová, M., Čuta, R., Španová, A., Rittich, B.**  
Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická,  
Purkyňova 464/118,612 00 Brno

### Simply method of DNA isolation from bacterial cells of genus *Lactobacillus*

## Souhrn

Identifikace bakteriální DNA se skládá z několika kroků: příprava DNA ve vhodné kvalitě, která zahrnuje lyzi buněk, extrakci a purifikaci DNA. Poté následuje vlastní identifikace bakterií pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) a jiných molekulárně diagnostických metod. Pomocí roztoku pracího prášku (obsahujících enzymy pro degradaci bakteriálních buněk) byly připraveny hrubé lyzáty buněk *Lactobacillus plantarum* CCM 7039, *Lactobacillus fermentum* CCM 7192, *Lactobacillus rhamnosus* CCM 1825 a *Lactobacillus casei* subsp. *casei* CCM 7088. Z hrubých lyzátů buněk byla izolována DNA za použití metody vysolování roztokem NaCl. Kvalita DNA a přítomnost cílové DNA byla ověřena PCR, ve které byly použity primery specifické pro rod *Lactobacillus*.

**Klíčová slova:** buněčné lyzáty, *Lactobacillus*, DNA, polymerázová řetězová reakce (PCR), NaCl

## Abstract

Identification of bacterial DNA consists of several steps: preparation of DNA in a suitable quality. The process includes cell lysis, extraction and purification of DNA followed by identification of the bacterial species using polymerase chain reaction (PCR) and other molecular diagnostic methods. Cell lysates of *Lactobacillus plantarum*