

ANTIFUNGÁLNÍ EFEKT A POLOPROVOZNÍ APLIKACE AKTIVNÍHO PŘÍPRAVKU NA BÁZI FERMENTOVANÉ SYROVÁTKY V TOUSTOVÝCH CHLEBECH

Miloslava Kavková, Vladimír Dráb, Jan Drbohlav,
Dita Havelková*

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

* Zeelandia spol. s r.o.

Antifungal effect and pilot application of whey ferment in toast bread

Abstrakt:

Kvalita a trvanlivost pekárenských výrobků s využitím bioprezervativ je jedním z hlavních požadavků současného potravinového trhu. Bioprezervační produkt s antifungálním účinkem, vhodný do pekařských produktů, lze získat za stanovených podmínek fermentací syrovátky s *Propionibacterium freudenreichii*. Testování přípravku s antifungálními vlastnostmi na bázi fermentované syrovátky obohacené o propionát vůči pěti vybraným potravinářským plísním *in vitro* ukázalo, že zpožďuje klíčení spór plísní a také inhibuje jejich vývoj během sedmidenní kultivace. Účinek aktivního přípravku závisí také na pH a obsahu ostatních nižších mastných kyselin. Trvanlivost toustových chlebů, do jejichž receptury byl tento aktivní přípravek přidán, byla vyšší, než při aplikaci komerčních prostředků či propionátu samotného. První kolonie plísní se objevily v průměru po 15 a 16 dnech, jestliže byla k přípravku přidána ještě kyselina mléčná a sníženo pH, první kolonie se objevily po více než 21 dnech. Antifungální účinek syrovátkových fermentů s obsahem propionátu závisí na technologii jejich výroby, obsahu účinných látek, pH a prostředí a podmínkách, v nichž je aplikován.

Klíčová slova: bioprezervativa, propionát, syrovátkový ferment, antifungální, toustový chléb

Abstract:

Nowadays, the increasing demands for quality and shelf life of bakery products leads to the application of biopreservatives with antifungal effect. Such active biopreservative agents can be obtained during fermentation of whey inoculated with *Propionibacterium freudenreichii* under specified conditions. The experimental application of whey ferment proved antifungal properties against five moulds *in vitro*. Whey ferment in culture media inhibited the spore germination and moulds development during 7days-experiments *in vitro* significantly. The antifungal effect of whey ferment is related with pH and content and relations of

short fatty acids. The shelf life of toast bread increased significantly when whey ferment with propionate was incorporate into dough. First fungal colonies occurred on 15th-16th days. The moulds occurred up to 21 days when whey ferment was acidified with lactic acid. The antifungal effect of whey ferments with propionate in bakery depends on technology of production, presence of the effective compounds, pH and the conditions of application.

Key words: biopreservatives, whey ferment, propionate, antifungal effect

Úvod:

Plesnivění pekárenských produktů v průběhu skladování představuje vážný ekonomický problém z hlediska trvanlivosti a kvality pekařských výrobků. Plísně samotné představují zdravotní rizika pro pracovníky v pekárství i konzumenty. Houbové organismy, které způsobují plesnivění pekařských výrobků, patří do dvou hlavních taxonomických skupin v rámci říše hub, Ascomycota a Zygomycotina. Většina těchto plísní produkuje obrovské množství prášných spór, odolných vůči vyšším teplotám, UV záření i chemickým konzervantům v povoleném množství pro potravinářské účely. Ochrana před kontaminací produktů je založena na eradikaci plísní v prostředí různými druhy záření, jenž ale může negativně ovlivňovat zdraví lidí. Také balení produktů do ochranných atmosfér nebo použití chemických konzervantů může částečně omezit výskyt plísní v pekárenských produktech. Mezi chemické konzervanty používané v potravinářství patří například i kyselina propionová a její soli. Regulační nařízení EU (EU directive/95/2CE) limituje obsah kyseliny propionové v pekařských výrobcích na 0,2-0,3% (wt/wt). Principem účinku kyseliny propionové na mikroorganismy je destabilizace membránového transportu přes membránu u bakterií nebo buněčnou stěnu u plísní a kvasinek (Erkmen a Bozoglu, 2016). Současné trendy potravinového trhu zahrnují, mimo jiné, také zvýšenou poptávku po biokonzervantech. Biokonzervanty zahrnují obecně široké spektrum přírodních aktivních látek s antifungálním a antibakteriálním účinkem včetně vhodných mikroorganismů a jejich produktů. Propionáty, jenž jsou produkovány bakteriemi rodu *Propionibacterium* sp. během fermentačního procesu syrovátky nebo jiných organických substrátů a jejich synergický antimikrobiální efekt s jinými organickými kyselinami (octová, fenylactová, mléčná, fenylmléčná etc.) jsou pokládány za významné biokonzervanty s antifungálním účinkem. Potvrzují to nejen výsledky vědeckých studií (Dagnas a kol., 2015; Lavermicocca a kol., 2003, Gamba a kol., 2015), ale rovněž poloprovozní a provozní aplikace v praxi, např. v pekárství. Bylo již patentováno několik výrobních procesů, jejichž podstatou je fermentace různých substrátů (glukóza, laktóza, glycerol, melasa, syrovátka etc.) na kyselinu propionovou. Limitujícím faktorem stále ale zůstává populační dynamika *Propionibacterium freudenreichii* a koncentrace propionátu ve výsledném produktu, jenž dosahuje v různých studiích od 1-4%. Eradikace

plísni v pekárenských výrobcích nezávisí jen na principu působení samotného bioprotektivního agens ale také na vodní aktivitě, teplotě a pH prostředí (Dagnas a koll, 2015).

Cílem naší studie bylo vyhodnotit antifungální vliv fermentů s obsahem propionátu do 4,5% na pět druhů plísní izolovaných z toustových chlebů pomocí in vitro testů. Následně, byly fermenty zapracovány do receptury na toustový chléb a sledován jejich vliv na trvanlivost toustového chleba s ohledem na výskyt plísní.

Metody:

Příprava antifungálně aktivního přípravku na bázi fermentované syrovátky

Pro účely fermentace byla používána kyselá syrovátka zahuštěná reverzní osmózou (sušina cca 15-17 %, 10-12 % laktózy, 1,8-2,5 % k. mléčná, pH 4,3-4,4). Před sterilací mikrofiltrací pomocí keramické membrány o velikosti pórů 0,8 μm (Tami Industries, Francie) byly částice sýrového prachu ze zahuštěné syrovátky odstraněny čerpáním skrz vinutou filtrační svíčku s velikostí pórů 1 nebo 5 μm (Watek, Ledec nad Sázavou, ČR) a pH bylo upraveno na cca 5,5 pomocí 40 % NaOH (m/v). Sterilní permeát z mikrofiltrace byl jímán do sterilních fermentorů o obsahu 25 l vybavených míchadlem, regulací pH a porty pro odběr vzorků a odvod plynů. Teplota byla udržována na konstantní hodnotě pomocí temperované vodní lázně. Pomocí řídicího systému (Gryf, Havlíčkův Brod, ČR) byla monitorovány a regulovány různé parametry jako teplota, pH, otáčky míchadel a dávkování neutralizačních činidel. Po dosažení požadovaného pH na začátku fermentace byla syrovátka zaočkována 10 % objemovými kultury *Propionibacterium freudenreichii* MAD- 8AP ($1 \cdot 10^8$ KTJ.ml⁻¹). Po 24 - 48 h fermentace byla přidána laktobacilová kultura *Lactobacillus rhamnosus* VT1 $1 \cdot 10^8$ KTJ.ml⁻¹) v dávce 0,01 % objemového. Během fermentace byl sledován obsah antifungálně účinných látek pomocí stanovení organických kyselin metodou kapilární isotachoforézy a obsah zbytkových sacharidů pomocí metody kapilární elektroforézy. Fermentace byla ukončena při dosažení cca 3 % koncentrace kyseliny propionové. Technologie přípravy fermentu je chráněna užitným vzorem CZ29778 (Dráb a kol., 2016).

Laboratorní testování antifungálního účinku fermentu

Antifungální efekt syrovátkového fermentu s propionátem byl testován na pěti vybraných potravinářských plísních, izolovaných z plesnivějících toustových chlebů: *Penicillium commune*, *Aspergillus niger*, *Eurotium repens*, *Alternaria alternata* jako zástupci oddělení *Ascomycota* a *Rhizopus oryzae* jako zástupce pododdělení *Zygomycotina*. Plísně byly identifikovány na základě mikroskopických znaku a kultivačních charakteristik (Samson et al, 2010) a na základě osekvenovaného úseku 16S ITS rRNA. Plísně jsou udržovány ve VÚM s.r.o. (pracoviště Tábor) na maltózovém agaru za účelem experimentálního testování.

Pro účely testování byly použity desetidenní plně sporující kultury. Spóry byly smyty sterilním roztokem vody a Tweenu (0,05%) a ředěny na koncentraci 1×10^5 pomocí kontrolního přepočtu v Neubauerově komůrce. Pro testování klíčivosti konidií byla sestavena z Petriho misek, hodinového sklíčka a podložního sklíčka sterilní vlhká komůrka. Na podložní sklíčko byla sterilně nalita tenká vrstva 2 % agaru a po zatuhnutí na ní bylo naneseno 5 kapek (5 μL) fermentů, samotného propionátu a sterilní vody. Po vsáknutí a zaschnutí na stejné místo byla kápnuta suspenze spór plísní. Klíčivost konidií (%) byla odečítána pod světelným mikroskopem po 24 a 48 hodinách (modifikovaná metoda Krug J., 2010). Od každé kombinace včetně kontrol byla vyhodnocena 3 opakování. Získaná data byla hodnocena pomocí analýzy kovariance, kde experimentální čas byl brán jako kovariát (ANCOVA, Statistica Software v. 12. 1.). Vývoj plísní s ohledem na přidání ferment s obsahem propionátu byl sledován na malt extrakt agaru (MEA, Oxoid, UK) během 14 denní kultivace při 25 °C. Do média jsme vždy přidali přes sterilní filtr takové množství fermentu nebo propionátu, aby byl splněn požadavek 0,3 % propionátu v médiu. Vývoj plísní jsme hodnotili pomocí uměle vytvořené stupnice, která zahrnuje klíčové fáze pro růst a šíření plísní: 1 - spóra, 2 - mycelium, 3 - aktivně rostoucí mycelium, 4 - počátek sporulace, 5 - sporuluje polovina kultury, 6 - sporuluje celá kultura. V rámci jednoho opakování bylo sledováno 5 misek a celkem byla provedena tři opakování. Data byla hodnocena po logaritmické transformaci analýzou variance s faktoriálním uspořádáním (ANOVA, Statistica Software v. 12. 1.).

Poloprovozní pečná zkouška

Největší uplatnění na trhu by fermentovaná syrovátka našla při ošetření baleného krájeného toastového chleba, proto jsme při sestavování kontrolní pečné zkoušky vycházeli z receptur používaných právě na tento výrobek. Receptura kontrolní pečné zkoušky: 1500 g mouka pšeničná hladká, 22 g pekařský zlepšující přípravek, 30 g olej řepkový, 27 g sůl, 41 g droždí čerstvé, 810 g voda. Nejprve bylo třeba vypočítat konkrétní dávku fermentované syrovátky na přípravu těsta tak, aby všechny chleby dosahovaly zvolené dávky kyseliny propionové, a to 3000 mg/kg hotového výrobku, což je zároveň maximální legislativou daná hodnota pro tuto kategorii pekařských produktů. Po vypočítání dávky fermentované syrovátky bylo třeba vždy upravit množství vody tak, aby mělo těsto ideální konzistenci. Všechny suroviny byly promísány v hnětacím stroji Diosna SP12: 4 minuty na pomalý chod a 6 minut na rychlý chod. Vymíchané těsto zrál 10 minut v kuse v pokojové teplotě a poté bylo rozděleno na klonky o váze 560 g, které po stočení zrály přikryté plachetkou dalších 10 minut. Poté byly stočeny na rohlíkovacím stroji a vloženy do pečicích forem. Kynutí probíhalo za teploty 33 °C a 80 % vlhkosti, cca 60 minut. Optimální stav nakynutí byl pravidelně kontrolován. Pro dosažení správné pórovitosti a objemu chleba je třeba kynutí včas zastavit a formy s těstem vsadit do pece. Míra nakynutí byla hod-

nocena jednak dosaženým objemem těsta ve formě a také ručně, kdy je sledován stav nakypření, na který lze usuzovat podle odporu těsta, které klade při jemném dotyku. Protože kynutí ovlivňuje celá řada faktorů, nelze dopředu přesně stavit čas pro správné nakypření těsta. Po vykynutí byly formy uzavřeny víkem a vloženy do elektrické etážové pece (Miwe Condo CO 30608), po dobu 35 minut, kdy teplota zapékání byla 250 °C (s párou) a dopékačí teplota 220 °C.

Na každý vzorek fermentované syrovátky byly upečeny 4 toastové chleby. Jakmile teplota v jádru chleba klesla na 30 °C, byly chleby zabaleny a uloženy do přepravních boxů na testování v pokojové teplotě 21 °C. V pravidelných intervalech byly chleby kontrolovány na přítomnost prvních kolonií plísní po dobu 21 dní. Po skladování delším 3-4 týdnů se už plíseň obvykle neobjevila, protože aktivita vody je pak již velmi nízká. Skladováním též dochází k postupnému stárnutí střídy, které se projevuje postupným vysycháním a tvrdnutím. Po 3-4 týdnech je již chléb bez speciálních přísad v takovém stavu, že již není vhodný ke konzumaci.

Testování konkurenčních sušených přípravků určených k prodloužení trvanlivosti pečiva

Na trhu existuje v současnosti více přírodních produktů určených ke konzervaci pekařských a gastronomických produktů. Pro porovnání antifungálního účinku fermentované syrovátky jsme použili níže uvedené přípravky: Upgrade W2 je sprejově sušená fermentovaná mouka. Je určený pro prodloužení trvanlivosti pekařských produktů. Obvyklé dávkování 0,5-1,2 % na mouku. Biogard ND Concentrate je sprejově sušený, fermentovaný přípravek, béžové barvy, určený pro prodloužení trvanlivosti a zlepšení chuti pekařských produktů, ale i sýrů, dresingů a masných výrobků. Doporučené dávkování do pekařských produktů je 0,6-0,9 % na mouku.

Výsledky a diskuze:

Složení antifungálně aktivního přípravku na bázi fermentované

V Tab. 1 jsou uvedeny kvalitativní parametry jednotlivých fermentů použitých pro testování potencionálního využití pro prodloužení trvanlivosti toastového chleba. Jednotlivé fermenty se lišily hodnotou pH a obsahem organických kyselin, protože cílem této práce bylo rovněž zjistit vliv těchto faktorů na kynutí, sensorické vlastnosti a trvanlivost testovaných výrobků.

Laboratorní testování antifungálního účinku fermentu

Klíčivost konidií vybraných pěti plísní byla významně ovlivněna přidavkem fermentu a propionátu sodného do živného média ve srovnání s kontrolní variantou, jenž byla

Tab. 1 Kvalitativní charakteristiky fermentů

Označení fermentu	Nižší mastné kyseliny (mg.100 ml ⁻¹)						laktóza
	pH	mravenčí	jantarová	mléčná	octová	propionová	
MF2	5,54	34,7	870,7	2572,5	1880,6	3616,2	0
MF4	6,63	59,2	1452,4	1309,7	1834,0	3998,5	3001
MF2L*	5	34,4	729,5	3612,5	1850,8	3554,9	0
MF4L*	5	54,5	1069,0	3497,1	1658,8	3632,9	2102
MFx **	4,36	45,0	494,8	5001,0	1587,4	2802,0	0
MF32	6,24	15,6	1231,1	1675,4	1912,5	4411,9	0

* fermenty s přidavkem kyseliny mléčné, ** směsný ferment

reprezentována přidavkem sterilní destilované vody. Vliv 3 % podílu fermentu s obsahem kyseliny propionové na klíčivost konidií během 48 hodin je patrný zejména u plísní *Eurotium repens*, *Alternaria alternata* a *Rhizopus stolonifer* u nichž byla klíčivost během sledované doby nulová. Porovnání účinku fermentů a samotné vody ukázalo, že konidie *P. commune* a *A. niger*, jsou vůči přítomnosti fermentů s obsahem propionátu nejodolnější oproti ostatním druhům, i když *A. niger* klíčí přirozeně pomaleji než *P. commune* zhruba o 24h. Nicméně, kontrola ukázala, že po 48 hodinách *A. niger* dosahuje již 80% klíčivosti obdobně jako *P. commune*. Vliv jednotlivých faktorů, času, fermentů a druhu plísně, na klíčení spór *in vitro* je zaznamenán v tabulce 2.

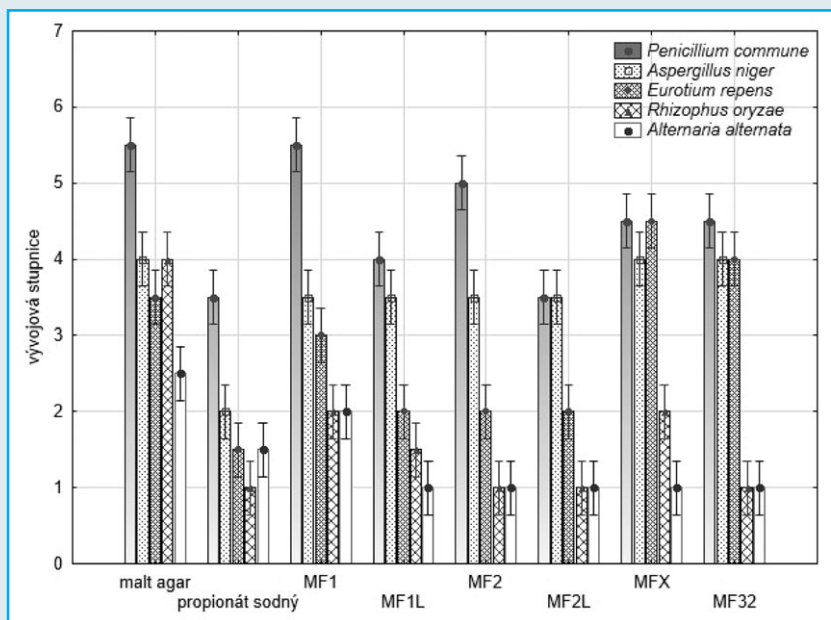
Vývoj plísní na živném médiu obohaceném o ferment s obsahem propionátu tak, aby obsah v živném médiu dosahoval 0,3 objemových %, byl sledován po dobu sedmi dní (Obr. 1). Sledované faktory, ferment a druh plísně, včetně jejich kombinace významně ovlivňovaly vývoj plísní *in vitro* (Tab. 3). Na maltózovém médiu sporulovaly všechny plísně do sedmi dnů vyjma druhu *A. alternata* a byly tak schopné diseminace. Přídavek propionátu do živného média inhiboval vývoj plísní nejvýrazněji, takže během sedmi denní kultivace se vyvinulo pouze mycelium nebo spóry nevyklíčily. Fermenty z mikrofiltrací MF1 a MF4 obohacené kyselinou mléčnou, redukovaly sporulaci u *E. repens*, *R. oryzae* a *A. alternata*. Úprava pH kyselinou mléčnou v syrovátkovém fermentu s obsahem propionátu

Tab. 2 Vliv sledovaných faktorů na klíčivost spór potravinářských plísní na 5% sladivém agaru s přidavkem fermentů. (Analýza kovariance, Statistica Software, verze 12.1., $p < 0,05$, $N = 24$).

faktory	Stupně volnosti	F	p
čas	1	8,77	0,004*
ferment	7	22,44	0,001*
plíseň	4	2,37	0,004*

Tab. 3 Vliv sledovaných faktorů na vývoj plísní během 7 dnů na maltózovém agaru s přidavkem fermentu. (ANOVA, Statistica Software, verze 12.1., $p < 0,05$, $N = 24$).

faktory	Stupně volnosti	F	p
ferment	7	14,96	0,001*
plíseň	4	103,76	0,001*
ferment x plíseň	28	4,2	0,006*



Obr. 1 Vliv propionátu vápenatého a antifungálně aktivního přípravku s obsahem propionátu na vývoj plísní na 5 % maltózovém agaru během sedmi-denní kultivace. Osa Y - vývojová stupnice plísní *in vitro*: 1 - spora, 2 - mycelium, 3 - aktivní rostoucí mycelium, 4 - počátek sporulace, 5 - sporuluje polovina kolonie, 6 - plná sporulace celé kultury

či acetátu významně redukovala nejenom růst a vývoj u druhu *Aspergillus parasiticus*, ale také snižovala produkci aflatoxinu, jenž je touto plísní produkován (Gamba a kol., 2015). Plísně, jako je *P. commune*, *A. niger* a *E. repens* reagovaly na přítomnost fermentu s propionátem pouze zpožděním vývoje, nicméně po sedmi dnech dosáhly již částečné sporulace. Z obdobných experimentů (Lay a kol., 2016) je patrné, že potravinářské plísně rodu *Penicillium* sp., *Eurotium* sp. a *Aspergillus* sp. jsou nejodolnější vůči chemickým konzervantům, ale i vůči bioprezervativním prostředkům (Lay a kol., 2016, Kwasniewska - Karolak a kol., 2014). I když experimenty *in vitro* poskytují základní informace o chování plísní v supresivním prostředí, realita v poloprovozních a provozních podmínkách je ovlivněna mnoha dalšími faktory. V našich testech *in vitro* byla vybrána optimální živná půda v kombinaci s optimálními kultivačními podmínkami pro dané plísně. Přídavek propionátu či aktivního fermentovaného přípravku s obsahem propionátu inhibuje klíčivost

spór plísní dočasně u řádu Eurotiales a významně inhibuje klíčivost, růst a vývoj u *Rhizopus oryzae* a *Alternaria alternata*. Ferment MFX s obsahem propionátu 2800 mg.100 mL⁻¹ a pH 4,26 však nepotlačil vývoj *E. repens* tak, jako ostatní fermenty a tato, jinak méně progresivní plíseň, se vyvíjela v daných podmínkách stejně rychle jako *P. commune*. Příčinou může být nepoměr mezi organickými kyselinami ve fermentu MFX (Tabulka 1). Synchronizovaný antifungální efekt krátkořetězcových mastných kyselin samotných nebo v kombinaci s laktobacily v kvasech a pekárenských produktech je deklarován v řadě studií (Pohl a kol., 2011; Black a kol., 2013). Výrazný antifungální vliv na zástupce potravinářských plísní řádu *Eurotiales* (*Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Eurotium* sp.) mají také nenasycené mastné kyseliny s vyšším počtem uhlíků (C8, C10 a C12) (Pohl a kol., 2011; Era a kol., 2015).

Poloprovozní testování syrovátkového fermentu v receptuře toustového chleba

Použití fermentované syrovátky do těsta prodlužuje trvanlivost toustových chlebů s ohledem na výskyt plísní. Ne všechny syrovátkové fermenty dokázaly prodloužit trvanlivost na požadovaných 21 dní (Tabulka. 3). Rozdíly mohou být způsobené nepatrně odlišným složením a též i rychle se měnícími hygienickými podmínkami na pekárně. Při porovnání s běžně používaným propionátem vápenatým dosahuje syrovátkový ferment s propionátem lepších výsledků. Též má silnější antifungální účinky nežli další dva testované konkurenční přípravky (Tabulka 4). Fermentovaná syrovátka by měla být v budoucnu podrobená zkoušce s větším počtem vzorků, nejlépe v průmyslové pekárně a dále i na jiném typu výrobků, které prověří jeho antifungální vlastnosti. Fermenty z jiných substrátů, než je syrovátka, mohou také vykazovat antifungální aktivitu a prodloužit životnost toustového chleba o 10-14 dní (Samapundo a kol., 2017; Belz a kol., 2013). Samotný

Tab. 4 Testování vybraných vzorků fermentované syrovátky v receptuře na toustový chléb

Název fermentu	pH	TTA	Obsah kyseliny propionové ve fermentu (%)	Navážka (g)	pH těsta	Kynutí (min.)	Dny do výskytu první kolonie plísně				Průměrný počet dní do výskytu první kolonie plísně
Malt agar - kontrola	-	-	-	-	5,47	55	6	6	6	7	6,3
Propionát vápenatý	-	-	-	6,28	5,52	60	9	9	10	10	9,5
MF 1	5,68	9,0	3,61	174	5,26	50	12	14	14	>21	15,25
MF 4	3,05	12,9	4,00	157	5,44	50	11	12	>21	>21	16,25
MF 1L*	5,13	24,4	3,56	177	5,09	60	>21	>21	>21	>21	21
MF 4L*	4,69	40,6	3,63	173	5,05	60	>21	>21	>21	>21	21
MFX	5,02	27,5	2,80	224	5,13	87	14	14	15	x	14,3
MF 32	6,07	7,5	4,4	142	5,47	60	10	11	11	11	10,8

*Fermenty okyselené kyselinou mléčnou

Tab. 5 Testování konkurenčních přípravků v receptuře na toustový chléb

Název přípravku	m* (g)	pH těsta	Kynutí (min.)	Dny do výskytu plísně				Průměrný počet dní do výskytu první kolonie plísně
kontrola	0	5,67	65	5	6	6	7	6
Biogard ND Concentrate	9	5,88	65	8	10	15	>21	13,5
Upgrade W2	12	5,80	60	7	7	13	13	10

obsah propionátu není jediným faktorem, jenž se podílí na antifungálních vlastnostech. Úprava pH fermentu kyselinou mléčnou a stejně tak nižší hodnota pH těsta samotného prodlužuje trvanlivost toustového chleba na 21 dní. Z provedených testů a výsledků můžeme potvrdit, že konzervační efekt přípravku je závislý na konečném pH výrobku. Čím nižší pH, tím lepší je antimikrobiální bariéra hotového výrobku. Proto je pro pekařské účely a maximální účinnost výhodné nízké pH fermentu i samotného těsta. Použití nové suroviny do receptury s sebou obvykle nese vícero změn, které se mohou projevit jednak v nutnosti změny procesu výroby, ale mohou se též odrazit i na dalších užitečných vlastnostech. Během testů byl potvrzen inhibiční účinek vůči plísním, ale též vůči kvasinkám obsaženým v droždí. Tímto byla mírně prodloužena doba kynutí, v průměru o 10-15 minut. Řešením bylo recepturně droždí navýšit. Další zpracování těsta pak již bylo obdobné jako u kontrolního vzorku.

Senzorické hodnocení upečeného chleba bylo provedeno za pomoci smíšeného senzorkého panelu složeného z certifikovaných hodnotitelů a běžných konzumentů na základě upravené metodiky Jarošová a kol., 2004. Byly hodnoceny následující deskriptory: Barva, chuť, vůně, pórovitost a drobivost. Pro hodnocení byla použita číselná stupnice od 1 do 5 bodů (čím více bodů, tím intenzivnější deskriptor). Balené a krájené chleby byly chutnány cca po 5 dnech po upečení. Jako kontrolní vzorek byl použit chléb s obsahem propionátu vápenatého. Během hodnocení nebyly zaznamenány statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými fermenty a kontrolním vzorkem. Byla potvrzena lepší senzorká přijatelnost syrovátkových fermentu upravených mikrofiltrací, nežli dřívější testy, kdy byla syrovátka upravována dvojitou pasterací a docházelo ke vzniku nežádoucích chutí a vůní. Dále byla hodnotiteli zaznamenána menší drobivost chlebů připravených za použití syrovátkových fermentů.

Závěr:

Antifungální přípravek na bázi fermentované syrovátky s obsahem propionátu zpomaloval klíčivost a růst potravinářsky významných plísní v *in vitro* podmínkách. Je třeba zmínit, že v těchto testech byly pro klíčení a vývoj plísní vytvořeny optimální podmínky. Při testování antifungální aktivity syrovátkového fermentu v poloprovozních podmínkách, při odpékání toustových chlebů se ukázalo, že antifungální efekt zvyšuje úprava pH fermentu kyselinou mléčnou. Toustové chleby s obsahem tohoto přípravku vykazovaly vyšší trvanlivost oproti kontrole bez jakéhokoliv konzervantu i oproti přidaným komerčním konzervantům.

Poděkování:

Příspěvek byl zpracován za podpory Ministerstva zemědělství ČR NAZV KUSmem, QJ1510341.

Literatura:

- BELZ M. C. E., MAIRINGER R., ZANNINI E. (2012): The effect of sourdough and calcium propionate on the microbial shelf-life of salt reduced bread. *Appl Microbiol Biotechnol.*, s. 493.
- BLACK B. A., ZANNINI E., CURTIS J. C., GANZLE M. G. (2013): Antifungal hydroxy fatty acids produced during sourdough fermentation: Microbial and enzymatic pathways, and antifungal activity in bread. *Applied and environmental microbiology*, 79, s. 1866-1873.
- DAGNAS S., GAUVRY E., ONNO B., MEMBRÉ J.-M. (2015): Quantifying effect of lactic, acetic and propionic acid on growth of molds isolated from spoiled bakery products. *Journal of food protection*, 78, s. 1689-1698.
- DEVLIEGHIERE F., VROMAN A., AECKHOUT M. (2017): Antifungal activity of fermentates and their potential to replace propionate in bread. *LWT - Food Science and Technology*, 76, s. 101-107.
- DRÁB V., DRBOHLAV J., KAVKOVÁ M. Antifungálně aktivní přípravek na bázi fermentované syrovátky, PUV 29778 ze dne 13. 9. 2016, MPT: A 23 C 21/08, A 23 C 21/02, A 21 D 2/08, A 23 L 3/3463
- ERA M., SAKAI S., TANAKA A., KAWAHARA T., KANYAMA T., MORITA H. (2015): Antifungal activity of fatty acid salts against *Penicillium pinophilum*. *Japan Journal of Food Engineering*, 16, s. 99-108.
- GAMBA R. R., NICOLA C., CORREA M., ASTORECA A., ALCONADA T., DE ANTONI G., PELÁEZ A. L. (2015): Antifungal activity against *Aspergillus parasiticus* of supernatants from whey permeates fermented with kefir grains. *Advances in microbiology*, 5, s. 479-492.
- GEREZ C. I., Torino M. I., ROLLAN G., FONT DE VALDEZ G. (2009): Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control*, 20, s. 144-148.
- JAROŠOVÁ A., KINCOVÁ V., TREMLOVÁ B. (2004) Senzorické analýza potravin. *Veterinářství* č.6 s. 364-366.
- KWASNIEWASKA-KAROLAK I., ROSICKA-KACZMAREK J., KRALA L. (2014): Factors influencing quality and shelf life of baking products. *Journal of Processing and Energy in Agriculture*, 18, s. 1-7.
- KOSMIDER A., DROZDZYNSKA A., BLAŽSKA K., LEJA K., CZACZYK K. (2010): Propionic acid production by *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* using crude glycerol and whey lactose industrial waste. *Polish journal of environmental studies*, 19, s. 1249-1253.
- KRUG J. (2004): Moist chambre for the development of fungi. In: Biodiversity of Fungi: Inventory and Monitoring Methods, (Foster M. S., Bills G. F., eds.) p. XX-XX, New York, Academic Press, s. 569-574.
- LE LAY C., MOUNIER J., VASSEUR V., WEILL A., LE BLAY G., BARBIER G., COTON E. (2016): *In vitro* and *in situ* screening lactic acid bacteria and propionibacteria antifungal activities against bakery product spoilage molds. *Food Control*, 60, s. 247-255.
- LAVERMICOCCA P., VALERIO F., VISCONTI A. (2003): Antifungal activity of phenyllactic acid against molds isolated from bakery products, *Applied and Environmental Microbiology*, s. 634-640.
- POHL CH., KOCK J. L. F., THIBANE V. S. (2011): Antifungal free fatty acids: a review. In: Méndez-Villas A., eds. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. Formatec Research Center, Badajoz, Spain.
- SUHR K. I., NIELSEN P. V. (2004): Effect of weak acid preservatives on growth of bakery product spoilage fungi at different water activities and pH. *International Journal of Food*, 95, s. 67-78.

Korespondenční autor:

Ing. Miloslava Kavková, Ph.D.,
Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.
Soběslavská 831, 380 02
email: m.kavkova@vum-tabor.cz

Přijato do tisku: 11. 6. 2017

Lektorováno: 25. 7. 2017