



PROFIL ORGANICKÝCH KYSELIN V JOGURTECH

Pavína Navrátilová, Ivana Borkovcová, Zora Št'ástková, Lenka Vorlová

Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Veterinární univerzita Brno

PROFILE OF ORGANIC ACIDS IN YOGHURTS

Souhrn

Organické kyseliny mají v mléčných výrobcích, zejména v jogurtech, nezastupitelnou funkci při tvorbě specifického aroma, textury nebo chuti, ovlivňují trvanlivost výrobků, některé mají nutriční význam. Studie byla zaměřena na stanovení koncentrací vybraných organických kyselin (mléčné, octové, orotové, mravenčí, pyrohroznové, jantarové, štavelové, močové a citronové) v bílých jogurtech ($n=27$). Analyzovány byly jogurty obsahující základní jogurtovou kulturu ($n=15$) a jogurty obsahující i další kultury, případně probiotické kmeny bakterií ($n=12$). Koncentrace organických kyselin byly stanoveny metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s UV detekcí. Nejvíce zastoupenou organickou kyselinou v obou skupinách výrobků byla kyselina mléčná. Jedinou organickou kyselinou, u které byl potvrzen statisticky významný rozdíl ($p<0,05$) v koncentracích mezi skupinami výrobků, byla kyselina octová.

Klíčová slova: fermentace, jogurtová kultura, organické kyseliny

Abstract

Organic acids have an irreplaceable function in dairy products, especially yoghurts, in the creation of a specific aroma, texture or taste, they affect the shelf life of the products, some have nutritional value. The study was focused on determining the concentrations of selected organic acids (lactic, acetic, orotic, formic, pyruvic, succinic, oxalic, uric and citric) in plain yoghurts ($n=27$). Two groups of yoghurts were analysed – yoghurts containing

a basic yoghurt culture ($n=15$) and yoghurts containing other cultures or probiotic strains of bacteria ($n=12$). Concentrations of organic acids were determined by high-performance liquid chromatography with UV detection. Lactic acid was the most abundant organic acid in both product groups. Acetic acid was the only organic acid for which a statistically significant difference ($p<0.05$) in concentrations between product groups was confirmed.

Key words: fermentation process, yoghurt culture, organic acids

Úvod

Z historického hlediska je jogurt jednou z nejstarších a nejvíce konzumovaných potravin ve světě. V současnosti patří jogurty k neznámějším a nejrozšířenějším výrobkům ze skupiny fermentovaných mléčných výrobků (Kopáček, 2018). Jogurt je definován Vyhláškou č. 397/2016 Sb. o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje v platném znění, v §2 písmenu d) následujícím způsobem: „*jogurtem je kysaný mléčný výrobek získaný kysáním mléka, smetany, podmáslí nebo jejich směsí pomocí mikroorganismů uvedených v příloze č. 1 k této vyhlášce, u kterého lze zvýšit obsah sušiny pouze přidáním mléčné bílkoviny, sušeného nebo zahuštěného mléka, nebo odebráním syrovátky, tepelně neošetřený po kysacím procesu*“. V souladu s uvedenými požadavky se jogurtem rozumí fermentovaný mléčný výrobek získaný fermentací mléka jogurtovou kulturou. Jako jogurt může být označen pouze výrobek obsahující živou jogurtovou kulturu, tj. symbiotickou směs kmenů *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* v minimálním počtu do data spotřeby 10^7 KTJ.g⁻¹. Optimální poměr obou mikroorganismů, laktobacilů a streptokoků se uvádí 1:1, 1:2, nebo 2:1 (Görner a Valík, 2004; Štípková, 2007; Vyhláška č. 397/2016 Sb. v platném znění). Při výrobě jogurtů se osvědčují kultury, které jsou sestavovány cíleně z kmenů vhodných vlastností (odolnost vůči vlivům vnějšího prostředí, odolnost vůči fágům, tvorba specifických reologických vlastností). Mohou být použity kombinace jogurtových kultur s dalšími kmeny laktobacilů (*Lb. acidophilus*) nebo bifidobakterií,

musí však být zachován optimální poměr kmenů jogurtové kultury. V současné době se při výrobě jogurtů používají i probiotické kmeny, u kterých byl testován jejich zdravotně prospěšný účinek (Laktoflora, 1998; Görner a Valík, 2004). Kmeny bakterií tvořící jogurtovou kulturu vykazují symbiotický vztah, který je klíčový pro správný průběh fermentace a vytvoření specifických organoleptických vlastností jogurtu. Základní biochemická aktivita jogurtové kultury je založena na schopnosti štěpit laktózu na kyselinu mléčnou (za tvorby dalších kyselin – mravenčí, octové, jantarové). Při fermentaci rostou rychle jako první streptokoky, které produkují kyselinu mléčnou, spotřebovávají částečně kyslík a vytvářejí podmínky příznivé pro růst laktobacilů. Laktobacily disponují proteolytickou aktivitou a uvolňují do prostředí aminokyseliny valin, histidin a glycin, které pro růst potřebují streptokoky. Streptokoky produkují kyselinu mléčnou, která snižuje pH na optimální hodnotu pro růst laktobacilů. Současně s kyselinou mléčnou je produkováno i malé množství kyseliny mravenčí, která stimuluje růst laktobacilů. Růst streptokoků je inhibován při hodnotách pH 4,2–4,4, zatímco laktobacily tolerují hodnoty pH v rozmezí 3,5–3,8. Acetaldehyd, klíčová aromatická látka, je tvořena oběma kmeny bakterií, majoritní podíl na její tvorbě mají laktobacily (Görner a Valík, 2004; Kopáček, 2018). Organické kyseliny mají ve fermentovaných mléčných výrobcích nezastupitelný význam. V závislosti na koncentraci a zastoupení ovlivňují cestou cenoanabiózy hygienickou stabilitu výrobků, potlačují růst mikroorganismů působících kažení a výrazně ovlivňují senzorické vlastnosti. Původ organických kyselin může být různý. Některé organické kyseliny se přirozeně vyskytují v syrovém mléce (kyseliny citronová, ořechová a močová). Organické kyseliny rovněž vznikají metabolickou činností bakterií mléčného kvašení během fermentace (kyseliny mléčná, octová, pyrohroznová, propionová a mravenčí), nebo mohou být produktem hydrolýzy mléčného tuku (kyselina máselná). Do vybraných mléčných výrobků mohou být organické kyseliny záměrně přidávány například za účelem zvýšení kyselosti (kyselina citronová). Složení organických kyselin je z velké části ovlivněno použitou bakteriální kulturou (Tormo a Izco, 2004; Akbaridoust a kol., 2015).

Cílem studie bylo stanovení obsahu vybraných organických kyselin – mléčné, pyrohroznové, citronové, octové, ořechové, šťavelové, mravenčí, močové a jantarové v bílých jogurtech obsahujících pouze jogurtovou kulturu a v bílých jogurtech obohacených o další kultury, případně o probiotické kmeny bakterií.

Materiál a metodika

Vzorky

Pro analýzu bylo v tržní síti vybráno celkem 27 vzorků bílých jogurtů. Vzorky byly rozděleny do dvou skupin. Skupinu A tvořilo 15 jogurtů obsahujících pouze základní

Tab. 1 Složení kultur vzorků jogurtů skupiny B (dle údajů výrobce)

| Složení kultur jogurtů skupiny B | Počet vzorků |
|--|--------------|
| jogurtová kultura, kultury <i>Bifidobacterium</i> a <i>Lactobacillus acidophilus</i> (10^6 KTJ.g ⁻¹) | 5 |
| jogurtová kultura a kultura <i>Bifidus ActiRegularis</i> CNCM I-2494 v počtu minimálně 4×10^9 KTJ.100 g ⁻¹ | 2 |
| jogurtová kultura a kultura <i>Bifidobacterium</i> BB-12 | 2 |
| jogurtová kultura a kultura <i>Lactobacillus rhamnosus</i> | 1 |
| jogurtová kultura, kultury <i>Bifidobacterium</i> BB-12 a <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA5 | 1 |
| jogurtová kultura a kultura <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12 | 1 |

jogurtovou kulturu. Do skupiny B bylo zařazeno 12 vzorků, obsahující kromě jogurtové kultury i další kultury, případně probiotické kmeny bakterií (tabulka 1). Vzorky byly přepravovány a skladovány při teplotě 4–6 °C.

Příprava standardů

Pro přípravu standardních roztoků byly standardy organických kyselin rozpuštěny v HPLC (vysokoučinná kapalinová chromatografie) vodě. Ke standardům kyseliny ořechové a kyseliny močové bylo přidáno 5 ml hydroxidu sodného ($0,1 \text{ mol.l}^{-1}$) s následnou inkubací ve vodní lázni při 50 °C po dobu 20 min. Pokud nedošlo k rozpuštění kyseliny, roztoky se vložily na 15 min do ultrazvukové lázně, po ochlazení byla do rozpuštěné směsi doplněna HPLC voda.

Příprava pufru

Navážka 0,69 g monohydrátu dihydrogenfosforečnanu sodného byla rozpuštěna ve vodě pro HPLC analýzu (cca 230 ml), pH bylo upraveno na 2,8 pomocí 10x naředěné kyseliny fosforečné a roztok se ponechal do druhého dne odstát. Hodnota pH byla upravena na 2,7. Roztok se kvantitativně převedl do 250 ml odměrné baňky, doplnil po rysku HPLC vodou a byl filtrován přes 0,22 µm membránový filtr.

Příprava vzorku a analýza metodou HPLC

Do 50 ml odměrné baňky bylo naváženo 5 g jogurtu. Ke vzorku bylo přidáno 1 ml Carrezova činidla I (roztok ferrokyanidu draselného, $c=150 \text{ g.l}^{-1}$) a 1 ml Carrezova činidla II (roztok síranu zinečnatého, $c=300 \text{ g.l}^{-1}$), vzorek byl promíchán. Objem baňky byl doplněn HPLC vodou, vzorek se promíchal a nechal 20 min. stát při laboratorní teplotě. Připravený vzorek byl filtrován přes membránový stříkačkový filtr (0,22 µm) do vialky. Vzorek byl analyzován vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s UV detekcí na přístroji Alliance 2695 (Waters, MA, USA). Mobilní fází byl 100% 20mM fosfátový pufr o pH = 2,7; byla použita kolona Atlantis T3 Column, 5 µm, 3,0 x 150 mm (Waters, Irsko), teplota kolony byla 35 °C, průtok mobilní fáze 0,4 ml/min., UV detekce na PAD 2996 (Waters, MA, USA) při 210 nm, nástřík 10 µl. Vyhodnocení a sběr dat byl proveden s pomocí softwaru Empower 2 (Waters, MA, USA).

Statistické hodnocení

K vyhodnocení základních statistických dat a posouzení významnosti rozdílů byl použit počítačový program Unistat 5.1. (Unistat Ltd., Anglie).

Výsledky a diskuse

Výsledky analýz jsou uvedeny v tabulkách 2 a 3. Statistická analýza prokázala statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$) mezi hodnotami kyseliny octové u analyzovaných skupin výrobků (tabulka 2). U ostatních organických kyselin nebyly prokázány statisticky významné rozdíly v koncentracích mezi skupinami výrobků A a B ($p > 0,05$).

Hlavní organickou kyselinou v jogurtech byla **kyselina mléčná**. Dle studie autorů Vénica a kol. (2014) kyselina mléčná tvořila až 75,7 % z obsahu organických kyselin a její koncentrace na konci výroby jogurtů byla $750 \pm 74 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Fernandez – Garcia a McGregor (1994) zjistili v přírodním jogurtu kyselinu mléčnou v koncentraci $965 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Mnohem nižší koncentrace ($589 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) zaznamenali autoři Adhikari a kol. (2002). Během skladování jogurtů zjistili, že se koncentrace zvyšovala a po 30 dnech dosáhla hodnoty $672,9 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Průměrné koncentrace kyseliny mléčné v prezentované studii (tabulka 2) byly vyšší než ve výše citovaných studiích. Koncentrace kyseliny mléčné vykazovala značnou variabilitu. U jogurtů se základní kulturou byla maximální hodnota $2323,50 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, minimální hodnota $764,46 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. Obsah kyseliny mléčné může být ovlivněn celkovým obsahem sušiny v jogurtu a typem jogurtové kultury. **Kyselina octová** je popisována jako těkavá látka nacházející se v jogurtu, jejíž vysoká koncentrace přispívá ke kyselé chuti a může být příčinou „octové, štiplavé, kyselé“ chuti výrobků (Panagiotidis a Tzia, 2001). Vyšší koncentrace kyseliny octové jsou obecně spojovány s heterofermentativní cestou fermentace laktózy. V prezentované studii byla zaznamenána přítomnost kyseliny octové v obou skupinách výrobků (tabulka 2). Výsledky statistické analýzy naměřených hodnot byly v souladu se závěry studie autorů La Torre a kol. (2003), kteří potvrdili signifikantní zvýšení koncentrace kyseliny octové v jogurtech s obsahem probiotických kmenů bakterií mléčného kvašení. Ve fermentovaných mléčných výrobcích s kmeny bifidobakterií a *Lb. acidophilus* byly koncentrace kyseliny octové $76\text{--}3105 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. V jogurtech s obsahem tradiční jogurtové kultury byla kyselina octová pouze v koncentraci $59 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. Ke změnám koncentrace dochází během výroby jogurtů i v průběhu skladování. Studie autorů

Vénica a kol. (2014) prokázala, že během fermentace se koncentrace zvyšuje a ke zvýšení dochází i u jogurtů obsahujících pouze homofermentativní bakterie mléčného kvašení (základní kulturu). Autoři zaznamenali zvýšení obsahu kyseliny octové z koncentrace $3,30 \pm 0,14 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ před fermentací na hodnotu $7,87 \pm 1,00 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ na konci výroby jogurtu. Koncentrace kyseliny octové se zvyšovala během skladování a po 28 dnech dosáhla hodnoty $8,28 \pm 0,40 \text{ g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. V prezentované studii byly naměřeny vyšší koncentrace kyseliny octové u jogurtů skupiny B (tabulka 2). Nejvyšší koncentrace kyseliny octové ($38,23 \pm 1,29$ a $38,65 \pm 1,40 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) byla ve výrobcích obsahujících kromě jogurtové kultury současně kulturu *Bifidus ActiRegularis* CNCM I-2494 a ve výrobku obohaceném kulturou *Bifidobacterium* BB-12 ($29,30 \pm 1,24 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). U ostatních výrobků skupiny B se koncentrace kyseliny octové pohybovaly v rozmezí $9,97\text{--}12,69 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$. **Kyselina citronová** byla druhou nejvíce zastoupenou organickou kyselinou. Koncentrace vykazovala velkou variabilitu, nižší průměrná hodnota byla zaznamenána u výrobků skupiny B (tabulka 2). Podle literárních údajů by koncentrace kyseliny citronové v jogurtu neměla být ovlivněna metabolickou činností jogurtové kultury. Citráty jsou přirozenou složkou mléka, vznikají v mléčné žláze. Kyselinu citronovou mají schopnost metabolizovat některé kmeny rodů *Lactococcus*, *Leuconostoc* a probiotických bakterií, výsledkem je vznik aromatických látek ve fermentovaných výrobcích – diacetylu a acetoinu (Walstra a kol., 1999). Autoři Vénica a kol. (2014) dospěli k závěru, že koncentrace kyseliny citronové se podstatně nemění během výroby a skladování jogurtů. Naopak Adhikari a kol. (2002) zaznamenali snížení kyseliny citronové v jogurtech ve srovnání s koncentrací v mléce před fermentací, u jogurtů s obsahem bifidobakterií byl pokles významnější. U jogurtů analyzovaných v prezentované studii nebylo možné posoudit změny kyseliny citronové ani v průběhu fermentace, ani v průběhu skladování. Naměřené koncentrace (tabulka 2) přibližně odpovídaly hodnotám, které zjistili Vénica a kol. (2014) v jogurtech po 14 dnech skladování. Statistické hodnocení koncentrací **kyseliny pyrohroznové** není v tabulkách uvedeno. Přítomnost kyseliny se neprokázala ani v jednom jogurtu ze skupiny výrobků A (kyselina nebyla přítomna a/nebo byly její koncentrace pod detekčním limitem metody). U výrobků skupiny B byly nízké koncentrace zaznamenány pouze u 3 výrobků ($17,55 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, $3,55 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, $0,42 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$). U většiny analyzovaných jogurtů došlo v důsledku metabolických reakcí pravděpodobně k přeměně kyseliny pyrohroznové. **Kyselina orotová** je meziproductem v biosyntéze pyrimidinových nukleotidů a je důležitým růstovým faktorem pro jogurtové kultury. Její koncentrace během výroby a skladování jogurtů podléhá změnám. Je metabolizována jogurtovou kulturou, především kmenem *L. delbrueckii* subsp.

Tab. 2 Obsah organických kyselin v bílých jogurtech

| Skupina jogurtů | Organické kyseliny [$\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$] | | | |
|-----------------|---|------------------------|----------------------|-------------------|
| | mléčná | octová | citronová | orotová |
| A | $1369,44 \pm 93,08^*$ | $11,49 \pm 4,80^{**}$ | $161,93 \pm 35,68^*$ | $3,41 \pm 0,65^*$ |
| B | $1206,81 \pm 173,64^*$ | $17,07 \pm 11,31^{**}$ | $154,33 \pm 24,02^*$ | $3,47 \pm 0,52^*$ |

A-bílé jogurty s klasickou jogurtovou kulturou; B-bílé jogurty s přidavkem dalších kultur; * $p > 0,05$; ** $p < 0,05$

Tab. 3 Obsah organických kyselin v bílých jogurtech

| Skupina jogurtů | Organické kyseliny [mg.100 g ⁻¹] | | | |
|-----------------|--|---------------|---------------|--------------|
| | močová | mravenčí | šťavelová | jantarová |
| A | 1,17 ± 0,95* | 17,23 ± 4,69* | 10,20 ± 3,57* | 8,84 ± 3,53* |
| B | 0,80 ± 0,14* | 14,95 ± 2,07* | 9,21 ± 3,40* | 7,24 ± 3,72* |

A-bílé jogurty s klasickou jogurtovou kulturou; B-bílé jogurty s přidavkem dalších kultur;
*p>0,05; **p<0,05

bulgaricus a její obsah se během fermentace snižuje o více než 30 % (Tormo a Izco, 2004). Vyšší koncentrace kyseliny orotové v jogurtech zaznamenali ve srovnání s prezentovanými výsledky (tabulka 2) autoři Fernandez-Garcia a McGregor (1994), kteří zjistili, že koncentrace kyseliny orotové během fermentace a skladování klesá až o 30 %, po 4 týdnech skladování při 4 °C byla její koncentrace v jogurtu 89,2 μg.g⁻¹. Tormo a Izco (2004) srovnávali koncentraci kyseliny orotové v syrovém mléce (87 ± 2,0 mg.100 g⁻¹) a v komerčně vyráběných jogurtech týden před (76,1 ± 1,1 mg.100 g⁻¹) a týden po (82,0 ± 1,1 mg.100 g⁻¹) skončení doby údržnosti. Kyselina močová byla druhou nejméně zastoupenou kyselinou (po kyselině pyrohroznové) (tabulka 3). Údaje o koncentracích kyseliny močové v jogurtech jsou v literatuře rozdílné. Podle studie Fernandez-Garcia a McGregor (1994) vykazovala koncentrace kyseliny močové během fermentace mírný a nevýznamný pokles (z 34,7 μg.g⁻¹ v mléce na 32,7 μg.g⁻¹ v jogurtu). Naopak Adhikari a kol. (2002) na základě výsledků studie konstatovali, že během fermentace se koncentrace kyseliny zvýšila 2,5–3x nezávisle na typu jogurtu nebo obsahu bifidobakterií, během skladování se koncentrace neměnila. Dle jejich názoru je vznik kyseliny močové výsledkem aktivity jogurtové kultury. V jogurtech naměřili koncentrace 3,2 mg.100 g⁻¹ (jogurty s nerozmíchaným koagulátem) a 3,0 mg.100 g⁻¹ (jogurty s rozmíchaným koagulátem). Hodnoty kyseliny močové v analyzovaných vzorcích v naší studii (tabulka 3) byly nižší, než uvádějí Adhikari a kol. (2002).

Kyseliny šťavelová, jantarová a kyselina pyrohroznová jsou netěkavé kyseliny a společně s těkavými kyselinami (**mravenčí**, acetoctová, propionová) a dalšími složkami (acetaldehyd, aceton, acetoin, diacetyl) vytvářejí aroma jogurtů (Dellaglio, 1988). K metabolitům, které jsou důležité pro symbiotický vztah obou kmenů jogurtové kultury, patří i kyselina fumarová vznikající metabolickou činností *S. thermophilus*. *Lb. bulgaricus* metabolizuje kyselinu fumarovou za vzniku kyseliny jantarové. Kyselina jantarová má kromě kyselé chuti i silnou sláněhořkou chuť a v závislosti na koncentraci ovlivňuje senzorické vlastnosti kvašených nápojů (víno, saké, cider aj.). Vyskytuje se i ve fermentovaných mléčných výrobcích (Yamamoto a kol., 2021). V literatuře nejsou dostupné informace o koncentraci kyseliny jantarové v jogurtech. Autoři Tormo a Izco (2004) v komerčně vyráběných jogurtech týden před koncem doby údržnosti naměřili koncentraci kyseliny šťavelové 73,0 ± 22,7 mg.100 g⁻¹, týden po skončení doby údržnosti 78,6 ± 1,9 mg.100 g⁻¹.

V prezentované studii byly koncentrace kyseliny šťavelové v jogurtech významně nižší (tabulka 3).

Závěr

Nejvíce zastoupenou organickou kyselinou v obou skupinách výrobků byla kyselina mléčná, nejméně zastoupenou kyselinou byla kyselina pyrohroznová. Přidavek dalších kultur při výrobě jogurtů neměl významný vliv na koncentrace organických kyselin v jogurtech s výjimkou kyseliny octové. Kyselina octová byla jedinou organickou kyselinou, u které byl potvrzen statisticky významný rozdíl (p<0,05) v koncentracích mezi skupinami výrobků. Vyšší obsahy kyseliny octové jsou obecně spojovány s heterofermentativním rozkladem laktózy probiotickými kmeny bifidobakterií, které jsou přidávány k jogurtové kultuře.

Poděkování

Práce vznikla za finanční podpory projektu ITA VFU Brno (FVHE/Vorlova/ITA2020).

Seznam literatury

- ADHIKARI K., GRUN I.U., MUSTAPHA A., FERNANDO L.N. (2002): Changes in the profile of organic acids in plain set and stirred yogurts during manufacture and refrigerated storage. *Journal of Food Quality*, 25, s. 435–451.
- AKBARIDOUST G., PLOZZA T., TRENERRY V.C., WALES W.J., AULDIST M.J., AJLOUNI S. (2015): Influence of pasture-based feeding systems on fatty acids, organic acids and volatile organic flavour compounds in yoghurt. *Journal of Dairy Research*, 82, s. 279–286.
- DELLAGLIO F., 1988. Starters for fermented milks. *Bulletin of the International Dairy Federation (IDF)*, 22, s. 27–34.
- FERNANDEZ-GARCIA E., MCGREGOR J.U. (1994): Determination of organic acids during the fermentation and cold storage of yogurt. *Journal of Dairy Science*, 77, s. 2934–2939.
- GÖRNER F., VALÍK L. (2004): *Aplikovaná mikrobiologie požívatin*. Brno: Malé Centrum. 528 s.
- GONZÁLEZ de LLANO D., RODRIGUEZ A., CUESTA P. (1996): Effect of lactic starter cultures on the organic acid composition of milk and cheese during ripening—analysis by HPLC. *Journal of Applied Bacteriology*, 80, s. 570–276.
- KOPÁČEK J. (2018): Fermentované mléčné výrobky a vývoj jejich spotřeby v Evropě, v ČR a ve světě. *Mlékařské listy – Zpravodaj*, 29, s. 8–14.
- LAKTOFLORA (1998): *Sbírka mlékařských mikroorganismů*, 1998. Praha: Milcom a.s., 3. vyd.
- LA TORRE L., TAMIME A.Y., MUIR D.D. (2003): Rheology and sensory profiling of set-type fermented milks made with different commercial probiotic and yoghurt starter cultures. *International Journal of Dairy Technology*, 56, s. 163–170.
- PANAGIOTIDIS P., TZIA C. (2001): Effect of milk composition and heating on flavor and aroma of yogurt. In: *Food Flavors and Chemistry: Advances of the New Millennium*. s. 160–167. SPANIER A.M., SHAHIDI F., PARLIMENT T.H., HO C.T., (Eds.), Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- ŠTÍPKOVÁ M. (2007): Historie průmyslové výroby kysaných výrobků-jogurtů – od nového produktu z 30. let 20. století k dnešku. *Potravinářská Revue*, 3, s. 19–23.
- TORMO M., IZCO J.M. (2004): Alternative reversed-phase high-performance liquid chromatography method to analyse organic acids in dairy products. *Journal of Chromatography*, 1033, s. 305–310.
- VÉNICA C., PEROTTI M.C., BERGAMINI C.V. (2014): Organic acids profiles in lactose hydrolyzed yogurt with different matrix composition. *Dairy Science & Technology*, 94, s. 561–580.

Vyhláška č. 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje, Sbírka zákonů České republiky, Částka 162, s. 6261–6285.

WALSTRA P., GEURTS T.J., NOOMEN A., JELLEMA A., van BOEKEL M.A.J.S. (1999): *Dairy technology*. New York: Marcel Dekker, 727 s.

YAMAMOTO E., WATANABE R., TOOYAMA E., KIMURA K. (2021): Effect of fumaric acid on the growth of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* during yogurt fermentation. *Journal of Dairy Science*, 104, s. 9617–9626.

Korespondující autor:

MVDr. Navrátilová Pavlína, Ph.D.

Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Veterinární univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, e-mail: navratilovap@vfu.cz

Přijato do tisku: 27. 7. 2023

Lektorováno: 14. 8. 2023

VLIV KVASINEK A PROTOTÉK NA CHEMICKÉ SLOŽENÍ A TECHNOLOGICKÉ VLASTNOSTI MLÉKA

Hana Nejeschlebová, Oto Hanuš, Petr Roubal,

Jaroslav Kopecký, Ludmila Nejeschlebová

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Praha

The influence of yeasts and *Prototheca* algae on chemical composition of milk and its technological properties

Abstrakt

Kvasinky a prototéky jsou organismy s ubikvitárním výskytem, ale také původci mykotických mastitid, které jsou v posledních letech na vzestupu. Cílem této práce bylo posoudit vliv přítomnosti kvasinek a prototék na změny ve složení syrového kravského mléka (obsah tuku, bílkovin, laktosu, tukuprosté sušiny, močoviny) a vliv na jeho technologické vlastnosti (pH, titrační kyselost, kysací schopnost a syřitelnost) po inokulaci kulturami těchto mikroorganismů a následné úchově mléka 48 hodin při 6 °C. Přestože izoláty kvasinek a prototék použité k testování disponovaly lipolytickou nebo proteolytickou aktivitou, případně oběma typy lytické aktivity, nebyla zaznamenána výrazná změna mezi složením mléka a technologickými vlastnostmi u původního vzorku mléka a jeho alikvoty inokulovanými různými izoláty kvasinek (n=7) nebo prototék (n=7). Taktéž další testování složení a technologických vlastností neukázalo významný rozdíl (P > 0,05) mezi různými vzorky mléka v původním stavu (n=6) a totožnými vzorky po inokulaci izolátem *Yarrowia lipolytica* (*Y. lipolytica*) nebo *Candida famata* (*C. famata*). Rovněž nebyly zjištěny významné rozdíly (P > 0,05) při inokulaci *Prototheca bovis* (*P. bo-*

vis). Skladování mléka inokulovaného rozdílnými izoláty kvasinek a prototék nevedlo ani po 48 hodinách úchovy při 6 °C k významné změně jejich počtu (P > 0,05), stejně tak nedošlo k navýšení (P > 0,05) počtu kvasinek ani prototék po zaočkování *Y. lipolytica*, *C. famata* nebo *P. bovis* do různých vzorků mléka. Lze předpokládat, že poškození mléka se spíše než pouhou přítomností těchto mikroorganismů v mléce projeví vlivem kvasinkové či prototékové mastitidy, případně až u mléčného výrobku v průběhu jeho delšího skladování nebo nedodržení chladiřenského režimu úchovy.

Klíčová slova: kvasinky, prototéky, mastitida, proteolýza, lipolýza, chemické složení, technologické vlastnosti.

Abstract

Yeasts and *Prototheca* are ubiquitous organisms, but also the causative agents of mycotic mastitis, which has been on the rise in recent years. The aim of this work was to assess the influence of the presence of yeasts and *Prototheca* on the composition of raw cow's milk (fat, protein, lactose, solids-not-fat and urea content) and its technological properties (pH, titratable acidity, yoghurt test and cheeseability) after inoculation by cultures of these microorganisms and subsequent storage of milk for 48 hours at 6 °C. Yeast and *Prototheca* isolates used for the testing showed lipolytic or proteolytic activity, or both types of the lytic activity. Nevertheless, no distinct change was noted between milk composition and technological properties in the original milk sample and its aliquots inoculated with different yeast (n=7) or *Prototheca* isolates (n=7). Also, further composition and technological properties testing did not show a significant difference (P > 0.05) between different milk samples in their original state (n=6) and these samples after inoculation with *Yarrowia lipolytica* (*Y. lipolytica*) or *Candida famata* (*C. famata*). Non-significant differences (P > 0.05) were also found with *Prototheca bovis* (*P. bovis*) inoculation. Storage of milk inoculated with different yeast and *Prototheca* isolates did not lead to a significant change in colony count for either organism after 48 hours at 6 °C (P > 0.05). Likewise, there was no increase (P > 0.05) in the yeast or *Prototheca* count after inoculation with *Y. lipolytica*, *C. famata* or *P. bovis* into different milk samples. It can be assumed, that the deterioration of milk may be caused by mycotic mastitis rather than by the mere presence of yeasts or *Prototheca*, or will occur in dairy product during its longer storage or non-compliance with the refrigeration storage regime.

Key words: yeasts, *Prototheca*, mastitis, proteolysis, lipolysis, chemical composition, technological properties.

Úvod

Kvasinky a řasy jsou organismy s ubikvitárním výskytem. Vyskytují se mezi nimi i oportunní patogeny lidí a zvířat, přičemž u kvasinek se jedná zejména o zástupce