

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

TECHNOLOGIE A ANALÝZA
FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

Kateřina Podmolíková

Bakalářská práce
2012

**University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology**

**TECHNOLOGY AND ANALYSIS OF FERMENTED
DAIRY PRODUCTS**

Kateřina Podmolíková

**Bachelor thesis
2012**

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladu, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 19. června 2012

Kateřina Podmolíková

Ráda bych poděkovala mému vedoucímu práce doc. Ing. Martinu Adamovi, Ph.D. za cenné rady a pomoc při vypracovávání bakalářské práce.

Také bych chtěla velmi poděkovat mé rodině za psychickou a finanční podporu v průběhu dosavadního studia.

SOUHRN

Tato bakalářská práce je zaměřena na fermentované mléčné výrobky. Popisuje jejich charakteristiku, požadavky a rozdělení dle použitých kultur. Dále je uvedena technologie výroby fermentovaných mléčných výrobků, která je popsána v jednotlivých krocích. Tato práce rovněž prezentuje možnosti analýzy nejdůležitějších složek těchto výrobků. Diskutovány jsou i zdravotní aspekty spojené s konzumací výše uvedených výrobků.

Klíčová slova:

fermentované mléčné výrobky

bakterie mléčného kvašení

analýza potravin

probiotika

SUMMARY

This Bachelor thesis is focused on ferment dairy products. Its characteristics and classification based on the microbial culture used are described herein. Furthermore, the technology of its production is introduced and described in particular steps. This thesis includes also the analysis of the most important components of these products. Health aspects on human organism are discussed in this thesis as well.

Keywords:

Fermented milk products

Lactic acid bacteria

Analysis of food

Probiotics

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

°SH	stupně dle Soxhlet-Henkela (spotřeba 0,25 M NaOH na neutralizaci 100 ml mléka)
BMK	bakterie mléčného kvašení
CLA	konjugovaná kyselina linolová
ČSN	Česká státní norma
FMV	fermentované mléčné výrobky
ISO	mezinárodní organizace zabývající se tvorbou norem (International Standard Organisation)
KTJ	kolonie tvořící jednotku
UHT	tepelné ošetření za vysoké teploty v krátkém čase (Ultra-high temperature)

OBSAH

1. ÚVOD	12
2. TEORETICKÁ ČÁST.....	13
2.1. Definice fermentovaných mléčných výrobků.....	13
2.2. Rozdělení fermentovaných mléčných výrobků	14
2.2.1. Fermentované výrobky s mezofilními bakteriemi.....	14
2.2.2. Fermentované výrobky s termofilními bakteriemi	15
2.2.3. Fermentované mléčné výrobky s bakteriemi a kvasinkami	16
2.2.4. Probiotika	17
2.3. Technologie výroby	18
2.3.1. Úprava mléka	18
2.3.2. Příprava startovacích kultur	21
2.3.2.1. Mezofilní bakteriální kultura	23
2.3.2.2. Termofilní bakteriální kultura.....	23
2.3.2.3. Speciální bakteriální kultura	25
2.3.3. Zakysání a fermentace	26
2.3.4. Přídavné látky, ochucovadla	27
2.3.5. Chlazení, plnění a balení.....	28
2.3.6. Distribuce.....	28
2.4. Analýza fermentovaných mléčných výrobků	29
2.4.1. Senzorická analýza.....	29

2.4.2.	Stanovení titrační kyselosti	30
2.4.3.	Stanovení aktivní kyselosti.....	30
2.4.4.	Stanovení obsahu tuku	30
2.4.5.	Stanovení bílkovin.....	31
2.4.6.	Stanovení laktózy a redukujících cukrů	32
2.4.7.	Polarimetrické stanovení mléčného cukru	32
2.5.	Vliv fermentovaných mléčných výrobků na lidský organismus.....	32
2.5.1.	Kyselina listová.....	32
2.5.2.	Konjugovaná kyselina linolová.....	33
2.5.3.	Bioaktivní peptidy ve fermentovaných mléčných výrobcích.....	33
2.5.4.	Protirakovinotvorné účinky.....	34
2.5.5.	Vliv na imunitní systém u podvyživených jedinců.....	34
2.5.6.	Vliv probiotik.....	34
2.6.	Průzkum konzumace fermentovaných mléčných výrobků v ČR.....	35
3.	ZÁVĚR.....	41
4.	Seznam použité literatury	42

1. ÚVOD

Mléko je považováno za přírodní a velmi důležitý zdroj nutričních látek. Tento substrát společně s přidanými probiotickými bakteriemi zajistí požadované organoleptické vlastnosti a výživovou hodnotu fermentovaných mléčných výrobků. Spotřeba těchto funkčních potravin na území ČR rok od roku stoupá. Konzumace fermentovaných mléčných výrobků v České Republice ovšem zdaleka nedosahuje hodnot některých zemí Evropské Unie, kde roční spotřeba těchto výrobků činí víc než 20 kg na osobu.

Cílem této práce je charakterizovat zakysané mléčné výrobky, popsat jednotlivé kroky při výrobě, analýzu nejvýznamnějších složek a jejich vliv na lidské zdraví.

V rámci bakalářské práce bude provedeno dotazníkové šetření zaměřené na spotřebu fermentovaných mléčných výrobků v České Republice.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Definice fermentovaných mléčných výrobků

Fermentované mléčné výrobky (FMV) jsou podle mezinárodní mlékárenské federace definovány jako produkty vyrobené z mléka, které obsahují specifické kultury, a to kvasinky nebo bakterie mléčného kvašení (BMK). Tyto potraviny mají příznivý vliv na lidské zdraví. Mikroflóra těchto výrobků je udržována při životě až do prodeje, přičemž nesmí obsahovat žádné patogenní mikroorganismy. Mikrobiální kultury produkují různé metabolity, jež zajišťují konzervační účinek. Mezi nejdůležitější konzervanty patří kyselina mléčná, která koaguluje kasein. Startovací kultury zajistí potřebnou konzistenci, chuťové vlastnosti a také dietetické účinky těchto výrobků [1]. Tyto účinky se předpokládají hlavně u výrobků obsahujících BMK, které se původně nacházely v trávicím traktu teplokrevných zvířat. Tyto BMK by měly regulovat složení střevní mikroflóry, potlačovat růst choroboplodných a proteolytických mikroorganismů. Jsou to především bakterie *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum* a *Bifidobacterium longum* [2]. Fermentací se zvyšuje stabilita a bezpečnost výrobků a udržují se sensorické standardy. Proces fermentace se neustále vyvíjí v důsledku poptávky spotřebitelů po kvalitních a bezpečných výrobcích.

Fermentace se pro úpravu potravin používá už po tisíce let a její využívání neustává ani přes vyvinutí mnoha dalších technologií [3]. Původně se kysané mléčné výrobky vytvářely samovolně z kvašením nadojeného mléka, ať už to bylo mléko kravské, kozí, ovčí nebo buvolí. Tato mléka se lišily druhem bakterií mléčného kvašení. Kromě kefiru, který se vytvářel díky bakteriím a kvasinkám, také kysané mléko vznikalo samovolně v mírném pásu vlivem mezofilních BMK. Jogurt vznikal v subtropických oblastech vlivem termofilních BMK [2]. V dřívější době se na farmách fermentovaná mléka vyráběla kvůli delší trvanlivosti oproti syrovému mléku, což zajistilo nízké pH, ve kterém se většina mikroorganismů nemnoží [1]. Průmyslově se kefir začal vyrábět v letech 1880-1885 a výroba jogurtu se odhaduje v letech 1900-1910 [2].

Fermentovaná mléka, zvaná také kultivovaná mléka, se nyní vyrábí a konzumují po celém světě [1]. Poptávka po těchto funkčních potravin neustále stoupá také díky fyziologickým složkám, které jsou v nich obsažené [4]. Všechny tyto výrobky, které jsou spotřebitelům nabízeny ke koupi, musí splňovat určité právní požadavky. Je to chemické

složení výrobku, datum minimální trvanlivosti nebo datum spotřeby a někdy také počet životaschopných buněk [1].

2.2. Rozdělení fermentovaných mléčných výrobků

2.2.1. Fermentované výrobky s mezofilními bakteriemi

Mezi výrobky obsahující mezofilní bakterie mléčného kvašení patří kysaná mléka, kysané smetany a kysané podmásli. Podrobnější informace o těchto výrobcích jsou popsány v následujících podkapitolách.

2.2.1.1. Kysaná mléka

Kysané mléko vzniká samovolně tak, že se v čerstvě nadojeném samovolně ochlazeném mléce začnou množit laktokoky a další bakterie mléčného kvašení. Takto vzniklé kysané mléko ale nesplňuje jakostní požadavky a není zdravotně nezávadné. Proto se při výrobě kysaných mlék musí zaočkovávat pasterizované a homogenizované mléko. Fermentace se provádí smetanovým zákysem v množství asi 0,5-1,5 %, probíhá po dobu 16-20 hod při 21-23 °C do konečné kyselosti 38-42 °SH. Podobně se vyrábí také kysané mléko se zvýšeným obsahem tuku (4-6 %). Oba druhy kysaného mléka musí obsahovat mléčné laktokoky (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*) a leukonostoky (*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* a *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*), které dotváří aroma [2]. Koagulát kysaných mlék má porcelánovitý vzhled a vysokou viskozitu [5].

2.2.1.2. Kysané smetany

Tyto výrobky, obvykle používané jako surovina při přípravě jídel, mají vyšší viskozitu a jemně kyselou chuť [5]. Kysané smetany dříve vznikaly tím způsobem, že z mléka samovolně vystupoval tuk na povrch a přitom zkysnul. Kysaná smetana může mít různý obsah tuku, od 12 do 40 % [2]. Vysoce pasterizovaná smetana se očkuje aromatickou mezofilní kulturou [5]. Při fermentaci se musí používat vyšší dávka startovacích kultur, asi 2-4 %, protože kvůli vyššímu obsahu tuku kvasí pomaleji.

Fermentace probíhá při 18-21 °C 18-20 hod a někdy může probíhat až v obalech za účelem neporušení koagulátu [5]. Kyselost kysaných smetan je 28-30 °SH [2].

2.2.1.3. Kysané podmáslí

Podmáslí je vedlejší produkt výroby másla. Může se využívat jako nápoj nebo se sušené dále používá k pečení. Obsahuje až 91 % vody a 9 % sušiny, kterou tvoří laktóza, mléčné bílkoviny, dusíkaté látky, tuk (asi 0,4 - 0,5 %), minerály, fosfolipidy a další látky. Podmáslí je lehce stravitelné a jeho složení zajišťuje přijatelnou výživovou hodnotu této potraviny. Díky oxidační fosforylaci se ale rychle zhoršují jeho organoleptické vlastnosti.

Pomocí fermentace se zajistí delší trvanlivost a potlačí se nepříjemná chuť této suroviny. Podmáslí podléhá tepelnému záhřevu 90-95 °C po dobu 5 min a zaočkuje se příslušnou mezofilní kulturou (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* a *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*) [5-7].

2.2.2. Fermentované výrobky s termofilními bakteriemi

Nejrozšířenějším výrobkem této skupiny fermentovaných mléčných výrobků jsou jogurtové výrobky. Jejich výroba se rozšířila na Balkánu, kde se začal vyrábět jogurt z ovčího mléka. Sortiment těchto výrobků je široký i díky velkému množství aditivních látek. Mezi jogurtové výrobky patří přírodní jogurty (bez přídavných látek) a ochucené jogurty. Ochucené jogurty mohou obsahovat aditivní látky (barviva, aromata a látky upravující konzistenci) a různé nemléčné suroviny (ovoce, cereálie, čokoládu, kakao apod.) [5].

K výrobě jogurtu se používá termofilní jogurtová kultura *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*. Jogurty se podle výroby dělí na:

- *Jogurty s pevnou konzistencí* – jogurty, které nemají rozmíchaný koagulát. Směs mléka se zaočkovanou kyslou kulturou a přidanými přísadami se po úpravě plní do malých spotřebitelských obalů. Takto připravené jogurty se ukládají do zracích boxů, kde probíhá fermentace po dobu 3-4 hod při 42-45 °C.
- *Míchané jogurty* – jogurtové výrobky, které mají rozmíchaný koagulát. Ten vzniká ve fermentačním tanku a je rozrušen při chlazení a balení. Fermentace probíhá po dobu 16-18 hod při 30 °C.

- *Jogurtové nápoje* – jogurtové výrobky s nízkou viskozitou. Po fermentaci ve fermentačním tanku je tepelnou úpravou a homogenizací rozrušen vzniklý koagulát. Fermentované výrobky, které po fermentaci podléhají tepelné úpravě (pasterace, UHT), neobsahují žádné živé mikroorganismy a po aseptickém zabalení se mohou skladovat při běžné pokojové teplotě [5].

K výrobě jogurtu se používá mléko s vyšším obsahem sušiny (asi 21%), mléko se buď zahustí na odparkách, nebo se přidá sušené odstředěné mléko. Takto zahuštěné mléko podléhá vysoké pasterizaci (teplota 95 °C, 20 s). Tím se denaturují bílkoviny, které jsou pak schopné lépe vázat vodu. Následuje zaočkování jogurtovou kulturou v množství 1-2 %. Směs se nechá zrát do požadované kyselosti (pH 4,3-4,4). Do vychlazené směsi se mohou přidávat aroma a ovocné podíly. Do jednoho balení jogurtu se přidává 30 – 50 g ovocné směsi [6] [8], která musí být předem tepelně upravená z důvodu možné kontaminace kvasinkami. Konečná kyselost hotového jogurtu by neměla být vyšší než 75 °SH [2].

2.2.3. Fermentované mléčné výrobky s bakteriemi a kvasinkami

Do této skupiny výrobků patří kefir, kefirové mléko a kumys, který je asijského původu. Kefír má kyselou mléčnou chuť a díky CO₂, který je vytvářen kvasinkami, je šumivý. Typické kefirové aroma je dáno kyselinou mléčnou, biacetylem, acetaldehydem, ethanolem a acetonem. Kefírové mléko se vyrábí kultivací kefirové kultury v mléce. Ta se získává z kefirových zrn a nemá konstantní složení, obsahuje jak bakterie, tak i kvasinky [8]. Kefírová zrna jsou hrudky mléčné barvy vznikající akumulací bakterií a kvasinek a jejich metabolických produktů [2]. Z bakterií jsou to *Lactobacillus lactis* var. *caucasicus*, *Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis* a *Streptococcus lactis*. Z kvasinek je to *Candida kefir*, *Kluyveromyces lactis* a *Kluyveromyces fragilis*.

Při výrobě těchto zakysaných mléčných výrobků se nejprve se mléko při teplotě 70 °C a tlaku 20 MPa homogenizuje. Poté probíhá pasterace při teplotě 95 °C po dobu 20 s, následuje ochlazení a naplnění do zracích tanků. Provede se očkování kefirovou kulturou a takto zaočkováná směs zraje v klidu 16 hod do pH 4,55 [8]. Zrací teplota se volí v rozmezí 18-22 °C, jako kompromis mezi optimální teplotou pro bakterie i kvasinky. Při fermentaci kefirová zrna stoupají na hladinu, díky vzniku CO₂. Přítomný kasein

se koaguluje a přichytí se k povrchu keřírových zrn. V této vrstvě se mikroorganismy dále množí [2]. Poté se keřír zchladí na deskovém výměníku, plní se do spotřebitelských obalů a hotové výrobky se zchladí pod 10 °C. Keřír průměrně obsahuje 3,5 % tuku, 8 % sušiny a pH je 4,55 (kyselost 35-50 °SH) [8].

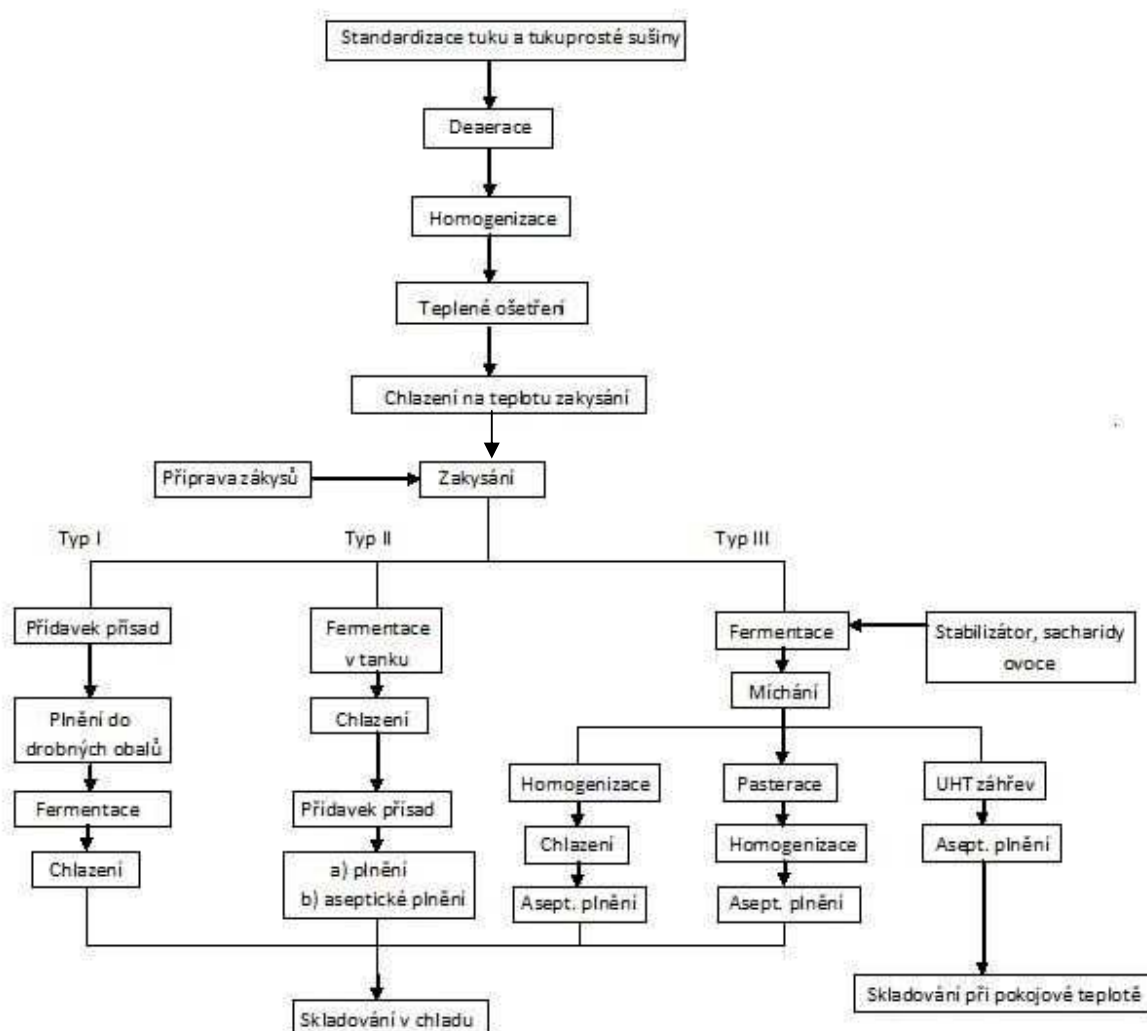
2.2.4. Probiotika

Probiotika jsou živé mikrobiální složky potravin, které při požití v přiměřeném množství mají blahodárné účinky na zdraví hostitele [9]. Toto přiměřené množství není definováno, ale orientačně je to asi 10^9 KTJ (kolonií tvořících jednotku) v jedné dávce. To ale závisí na mnoha dalších faktorech [10]. Probiotické bakterie se v mléce nemnoží dostatečně rychle, a proto byla provedena studie za účelem obohatit mléko tak, aby se probiotická kultura množila rychleji. Probiotické bakterie mají omezenou schopnost asimilovat laktózu, proto by byl vhodný přídavek lépe využitelných sacharidů [11]. Zakysané mléčné výrobky s laktobacily a bifidobakteriemi se vyrábí v mnoha obměnách. Často se kombinují bakteriální kmeny s výraznými dietetickými účinky, které mají významný vliv na organoleptické vlastnosti. Je možný také přídavek vitaminů, sacharózy, růstových faktorů, ovoce aj. [12].

Acidofilní mléko má dobré organoleptické vlastnosti a dietetické a léčebné účinky. Plnotučné acidofilní mléko průměrně obsahuje 3,6 % tuku, 8 % sušiny, titrační kyselost 90-120 °SH. K výrobě se používají kultury rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Acidofilní mléko se vyrábí oddělenou kultivací dvou kultur v mléce a jejich následným smícháním. První je kultivace acidofilní kultury (*Lactobacillus acidophilus*) a druhá kultivace smetanové kultury (*Pediococcus acidilactici* a *Bifidobacterium bifidum*). Vzniklé sraženiny se smíchají v poměru 1:9 (jeden díl směsi s acidofilní kulturou a 9 dílů směsi se smetanovou kulturou) [5], provede se mírná homogenizace a po ochlazení pod 10 °C se plní do obalů [2].

2.3. Technologie výroby

Výroba fermentovaných mléčných výrobků se skládá z několika základních operací [1]. Tyto operace jsou znázorněny v následujícím schématu (viz obrázek 1).



Obrázek 1 Schéma technologie fermentovaných mléčných výrobků [5]

2.3.1. Úprava mléka

Kvalita fermentovaných mléčných výrobků a růst a metabolismus startovacích kultur závisí na kvalitě syrového mléka [13]. Mléko určené k výrobě by mělo mít určité požadavky na kvalitu. Nesmí obsahovat žádné patogenní mikroorganismy, musí mít nízký obsah běžné mikroflóry a žádné nebo velmi nízký počet inhibičních látek [1], které by mohly mít negativní vliv na růst startovacích kultur [14]. Vysoký počet psychrotrofních látek je také nežádoucí z důvodu produkce metabolitů majících inhibiční účinky na BMK nebo zhoršení organoleptických vlastností [12]. Na růst bakterií mléčného kvašení v mléce

působí pozitivně volné aminokyseliny, kyselina listová, *p*-aminobenzoová kyselina a stopové prvky [2]. Hlavními složkami mléka jsou tuk, bílkoviny, laktóza, minerály a enzymy [15]. Mezi hlavní složky mléka patří bílkoviny, tuk, laktóza a vitaminy. Jejich charakteristika a změny při fermentaci jsou popsány níže.

➤ **Bílkoviny**

Mléčné bílkoviny tvoří kaseiny, tvořící asi 80 %, a syrovátkové proteiny, které zaujímají zbylých 20 % mléčných bílkovin [16]. Bílkovinné složení mléka a fermentovaného mléka je téměř stejné [12]. Kaseiny se tepelným zahřevem nemění, pouze dochází k enzymatickému odstranění fosfátové skupiny. Naopak syrovátkové proteiny teplem denaturují a to až z 50-90 %. Nejvíce jsou denaturovány imunoglobuliny, poté sérový albumin, β -laktoglobulin a α -laktalbumin. Při výrobě jogurtů dochází k částečné koagulaci kaseinů, čímž se zajišťuje gelovitá struktura výrobku [16]. Proteolytické působení zajišťují rody bakterií *Lactobacillus* a *Streptococcus*. Mikrobiální degradace kaseinu závisí hlavně na teplotě, pH a podmínkách skladování. Konzistence koagulátu závisí na obsahu bílkovin, čím větší je jejich obsah, tím je koagulát tužší [12].

➤ **Mléčný tuk**

V mléce se nachází asi 3,8 % tuku. Mléčný tuk se většinou vyskytuje ve formě triacylglycerolů. Snaha snižovat denní příjem tuků se odrazila také v mlékárenské výrobě. U nově vyšlechtěných plemen dojnic se snížil obsah tuku v mléce asi na 3,5-3,6 % [16]. Obsah volných mastných kyselin v mléce se fermentací mění působením zákysových kultur s lipolytickou aktivitou. Nepatrné množství volných mastných kyselin vzniká také při enzymatických změnách laktózy. Jejich obsah ale především závisí na druhu mléka, typu použitých mikroorganismů a technologickém zpracování [12].

➤ **Laktóza**

Hlavním cukrem v mléce a mléčných výrobcích je disacharid laktóza, kterou tvoří dva monosacharidy, glukóza a galaktóza. Ostatní oligosacharidy a disacharidy jsou zastoupeny v nevýznamném množství. Laktóza je štěpena na kyselinu mléčnou, tudíž FMV mohou konzumovat i lidé trpící laktózovou intolerancí [16]. Tvorba klíčové aromatické složky FMV je zajištěna mimo jiné reakcí laktózy, kaseinu a tuku a enzymatickou degradací proteinů [17].

➤ **Vitaminy**

Ke ztrátám vitamínu A a B₆ dochází při pasteraci, na světle a za přítomnosti kyslíku, a to asi z 5-6 %. Přítomnost vitamínu D v mléce je závislá hlavně na ročním období. Jeho obsah v letním období je asi čtyřikrát větší, než v období zimním, což zajišťuje hlavně sluneční záření, díky kterému se vitamin D vytváří. Také obsah vitamínu E se mění podle ročního období. Tento lipofilní antioxidant se v mléce vyskytuje v množství asi 0,2-1,2 mg/kg. Při pasteraci se jeho obsah snižuje asi o 5 %. Mléčné výrobky jsou také bohatým zdrojem vitamínu B₁, který se především vyskytuje z části vázaný na bílkoviny. FMV obsahují větší množství vitamínu B₂ a B₃, než mléko, protože tyto vitaminy jsou syntetizovány BMK. Rovněž obsah vitamínu B₁₂ stoupá při fermentaci, a to až třicetinásobně [16][18].

➤ **Minerální látky**

Z minerálních látek jsou v mléce nejvíce zastoupeny draslík, fosfor, vápník, síra a hořčík. V menší míře je to pak zinek, měď, selen a jod. Fermentace má na tyto prvky obsažené v mléce a mléčných výrobcích jen nepatrný vliv [16][18].

První operací při výrobě FMV je odstranění nečistot a somatických buněk, což probíhá v odstředivých nádržích (separátorech) [11]. Následuje standardizace tuku, nejčastěji na hodnotu 0,5-3,5 %, a poté standardizace proteinů. Se zvýšením obsahu tukuprosté sušiny se zvyšuje tuhost koagulátu a snižuje se možnost oddělení syrovátky. Úprava obsahu sušiny se provádí na odparkách, případně přidáním sušeného mléka nebo mléčných koncentrátů [5]. Její dostatečný obsah v mléce, který by měl být asi 8,5 % a víc, je nezbytný jako zdroj dusíku pro růst BMK [12]. Poté se mléko odvzdušňuje, což vede ke zlepšení soudržnosti výrobků, odstranění těkavých látek a podporuje homogenizaci. Homogenizace je další operací, jejímž cílem je snížit průměr tukových kuliček [15]. Také zajišťuje lepší stabilitu fermentovaných mlék a zlepšuje rheologické vlastnosti. Homogenizace probíhá při tlaku 10-20 MPa a při teplotě 50-60 °C [1], což je vysoká homogenizace, a jsou jí zasaženy i bílkoviny [12]. Poté mléko vždy musí podléhat záhřevu. Tím je vysoká pasterace při teplotě 90-95 °C po dobu 3-5 min, kdy se inaktivuje nežádoucí mikroflóra [1], eliminují se termolabilní inhibiční látky, nativní enzymy a bakteriofágy [12]. Vysoká pasterace rovněž zajišťuje hustší a trvanlivější sraženinu důsledkem adice albuminu na molekuly kaseinu, čímž se zajistí lepší vazba vody [2]. Platí, že s rostoucím

obsahem sušiny a tuku by měla růst teplota záhřevu [12]. Výměníky tepla, ve kterých se provádí pasteurace, se pak používají i pro zchlazení mléka [1]. Teplota závisí na druhu použité mikroflóry pro zakysání. Takto upravené mléko je připraveno k dalšímu zpracování [15].

2.3.2. Příprava startovacích kultur

Startovací kultury neboli čisté mikrobiální kultury mají v potravinářství velké využití. Používají se v mlékárenství při výrobě FMV a sýrů, v pivovarnictví, pekárenství nebo v masném průmyslu při výrobě fermentovaných a suchých salámů. Tyto kultury mohou být monokultury nebo směsné (obsahující více druhů mikroorganismů). Nejčastěji se kultury skládají z více mikroorganismů, které jsou navzájem v symbióze. Dále se dělí podle výroby a formy produkce do potravinářských závodů na:

- **Tekuté kultury** – Tekutá kultura se vyrábí kultivací při 20-22 °C po dobu 16-18 hod do dosažení koncentrace 10^8 - 10^9 KTJ/ml. V této době (log fáze) by se měla kultura naočkovávat do substrátu. Z tekuté kultury se před vlastním zaočkováním musí připravit laboratorní zákys, poté mezioperační zákys a nakonec provozní zákys. Tekuté kultury se ale ve výrobě už tolik nepoužívají a jsou nahrazovány jinými. Hlavním důvodem je jejich nestálost. Mohou být oslabené a poměr jednotlivých druhů mikroorganismů může být jiný. Také rychlost růstu nebývá stejná, tudíž se buňky rychleji dostávají do poslední růstové fáze, tedy fáze odumírání. Ani trvanlivost těchto kultur není vysoká. Musí se skladovat při teplotě pod 5 °C. Poté už je třeba je oživovat, protože jsou oslabené.
- **Sušené kultury** – Pro snadnější skladování, přepravu a menší objem a hmotnost byly vyvinuty sušené kultury. Vyrábí se sušením buněk, které jsou v aktivním stadiu růstu. Sušení se provádí lyofilizací. Buňky se nejprve zmrazí na teplotu -40 °C za nízkého tlaku. Vzniklé krystalky ledu vysublimují a vodní pára se odsaje. Takto vysušená kultura by měla obsahovat 10^9 - 10^{10} KTJ/g. Hotové sušené kultury se ve výrobě používají stejně jako kultury tekuté. Trvanlivost je při 4-8 °C 3 měsíce a při -20 °C až 6 měsíců.

- **Hluboce zmražené kultury** – Tato kultura je nejkvalitnější, její nevýhodou je pouze to, že se neustále musí udržovat teplota pod $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$, což ale vede k vysokým výrobním nákladům. Bakterie se pěstují v substrátu obsahující odstředěné mléko, aminokyseliny a růstové faktory. Když je logaritmická fáze u konce, buňky se odstředí ultrafiltrací a v aseptickém prostředí se naplní do hliníkových obalů. Následuje zmražení pomocí tekutého dusíku na teplotu $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Při této teplotě nemá omezenou trvanlivost. Při teplotě $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$ má trvanlivost asi 3 měsíce a při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ jeden měsíc. Před naočkováním substrátu se kultura rozpustí v sterilní vodě a může se ihned použít.

Výroba čistých bakteriálních kultur se provádí ve specializovaných laboratořích. Tyto výroby musí zaručovat, že příslušné mikroorganismy budou mít požadované fyziologické vlastnosti, standardní růst a metabolismus. Zároveň nesmí obsahovat žádné cizí mikroorganismy a musí být odolné proti působením bakteriofágů [2]. Pěstování startovacích kultur by mělo být možné ve velkém měřítku. Kmen musí být stabilní jak v koncentrované fázi před zaočkováním, tak i jako doplněk fermentovaného mléčného výrobku. Mikroorganismy zlepšují kvalitu výrobku tím, že přispívají k požadované chuti, textuře, výživové hodnotě a zdravotnímu přínosu [10]. Na zákysové kultury jsou kladeny určité požadavky. Každá kultura musí v přiměřené míře produkovat kyselinu mléčnou, slizovité látky a látky dotvářející aroma [2].

Bakteriální zákysové kultury používané při výrobě FMV způsobují řadu procesů, které mění vlastnosti výrobku. Je to fermentace sacharidů, kdy vzniká kyselina mléčná a tím se sníží pH výrobku. Dále hydrolyza bílkovin, tvorba organoleptických vlastností, syntéza látek ovlivňujících biologické funkce a látek s antimikrobiálním účinkem [14].

Tato biomasa se vyrábí velmi koncentrovaná. Z postupů se používá odstředování nebo membránová filtrace, čímž se získá koncentrovaná kultura. Stabilizovaný materiál je možné zmrazit lyofilizačním procesem. Při lyofilizaci je ovšem nutné hlídat velikost vznikajících krystalů ledu, aby nedošlo k poškození buněčné stěny. Voda je poté odstraněna sublimací ve vakuu. Zbytková vlhkost má velký vliv na trvanlivost biomasy. Obalový materiál se volí takový, aby zajistil přístupu kyslíku a zabránil nabírání vlhkosti [10].

Mikroorganismy produkující kyselinu mléčnou jsou mezofilní nebo termofilní a homofermentativní nebo heterofermentativní [1].

2.3.2.1. Mezofilní bakteriální kultura

Mezofilní bakteriální kultury se v mlékárenství používají nejčastěji a to k výrobě kysaných mlék, kysaných smetan, tvarohů a na výrobu sýrů. Kultura se skládá z homofermentativních a heterofermentativních BMK a složení závisí na požadovaných vlastnostech. Vybrané mikroorganismy musí být navzájem v symbióze. Mezofilní bakteriální kultura se skládá z některých nebo všech těchto mikroorganismů:

➤ kyselinotvorné:

- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*
- *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*

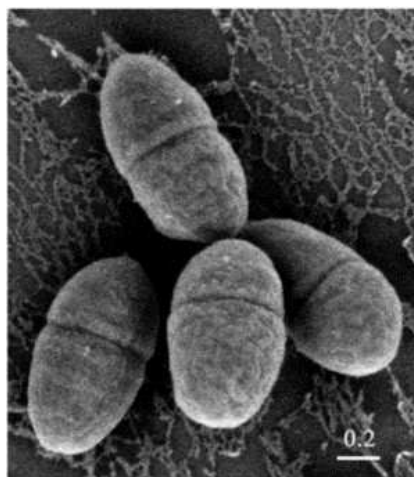
➤ aromatické:

- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*
- *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*

Mezofilní BMK jsou poměrně náročné na obsah růstových faktorů v substrátu, a to hlavně na volné aminokyseliny. Z tohoto důvodu se může přidávat např. kvasničný autolyzát jako další zdroj volných aminokyselin. Kvalita mléka musí být co nejlepší, protože *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* je velmi citlivý na jeho špatné vlastnosti [2][19].



Obrázek 2 *Lactococcus lactis* [20]



Obrázek 3 *Leuconostoc mesenteroides* [21]

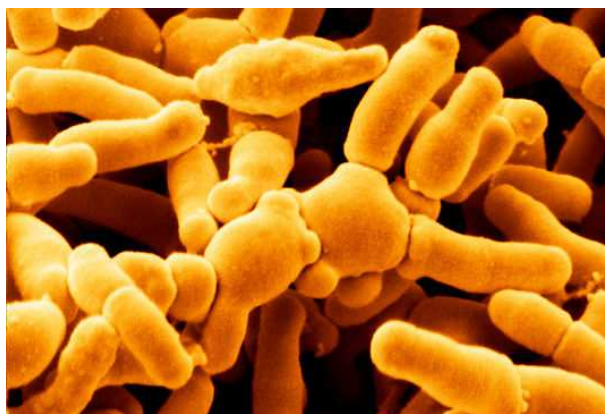
2.3.2.2. Termofilní bakteriální kultura

Mezi termofilní bakteriální kultury patří probatická neboli bifidogenní kultura a jogurtová kultura. Tyto kultury jsou charakterizovány v následujících podkapitolách.

➤ Probiotická kultura

Probiotická kultura, která se používá k výrobě acidofilních mlék a jogurtů, se skládá z bakterií izolovaných z lidské střevní mikroflóry. Musí být neškodná pro lidský organismus. Obsahuje obvykle tyto bakteriální kmeny:

- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus rhamnosus*
- *Lactobacillus reuteri*
- *Lactobacillus lactis*
- *Bifidobacterium longum*
- *Bifidobacterium breve*
- *Enterococcus faecium* [2]



Obrázek 4 *Bifidobacterium breve* [22]



Obrázek 5 *Lactobacillus casei* [23]

Rod *Lactobacillus* je zde v aktivní formě, vytváří chuť a aroma a zabraňuje kažení výrobku [24]. Rod *Bifidobacterium* se přirozeně vyskytuje v trávicím traktu novorozeňat, kojenců a je součástí lidské střevní mikroflóry. Aby se tyto probiotické kultury mohly používat při výrobě, je nutné, aby byly geneticky stabilní, bezpečné, životaschopné i v produktu, aby podporovaly organoleptické vlastnosti a přežily cestu trávicím ústrojím [5][10]. Musí tedy překonávat snížené pH, prostředí HCl, přítomnost proteolytických enzymů a lysozymu, žlučové kyseliny, přítomnost imunitních složek a také peristaltiku střev [2]. Studie ale ukázaly, že probiotické kmeny mohou mít příznivý vliv na zdraví hostitele, i když už nebudou životaschopné. Proto stačí, aby dobře rostly při výrobě

a skladování [10]. Bifidobakterie a *Lactobacillus acidophilus* jsou navzájem v symbióze, takže se množí lépe ve směsné kultuře, než kdyby rostly odděleně. Tyto bakterie pocházejí původně ze střevního traktu, tudíž se v mléce množí mnohem pomaleji, než v jejich původním prostředí. Tento problém se řeší přidáním jiných BMK k této směsi. Další možností, jak urychlit růst laktobacilů v mléce je přídavek růstových faktorů, např. ve formě rajčatového protlaku nebo mrkvové šťávy. Výrobky s touto kulturou (kombinovaná acidofilní mléka) jsou prodávány pod označením „probio“, což volně přeloženo z řečtiny znamená „pro život“. V době, kdy u výrobku končí datum trvanlivosti, měl by tento výrobek obsahovat minimálně 10^6 KTJ/ml. Toho lze dosáhnout tak, že se probiotické bakterie do procesu výroby zařadí před nebo během zrání, a to v požadované výsledné koncentraci, kdy už není potřeba, aby se mikroorganismus pomnožil [2].

➤ **Jogurtová kultura**

Jak už z názvu vyplývá, tato mikrobiální kultura se používá k výrobě jogurtů a jogurtových mlék. Skládá se ze dvou mikroorganismů a to *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* [2]. Tyto dva mikroorganismy jsou navzájem v symbióze: *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* produkuje CO_2 a díky *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* se z mléčných bílkovin uvolňují aminokyseliny [5]. Jejich specifickou vlastností je rychlá tvorba kyseliny mléčné a produkce aromatické látky aldehydu v množství 20-30 mg/l. V 1 ml jogurtové kultury by mělo být minimálně 10^7 bakteriálních jednotek.

Kultivace při snížené teplotě, tj. při 30 °C, se využívá při výrobě jogurtových mlék z nezahuštěného mléka. Tím se zajistí tvorba slizu, který udržuje konzistenci koagulátu a zabraňuje oddělování syrovátky [2].

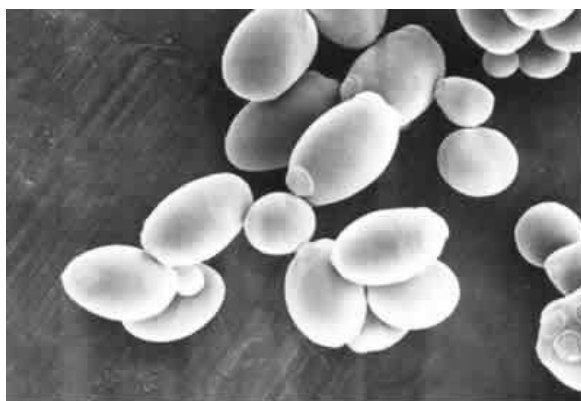
2.3.2.3. Speciální bakteriální kultura

Mezi speciální bakteriální kulturu patří keřirová kultura, používající se k výrobě keříru. Kvasinky obsažené v mikrobiální kultuře určené k mléčné fermentaci se od běžných kvasinek určitými vlastnostmi liší. Tyto mléčné kvasinky fermentují laktózu, pokud produkují alkohol, tak pouze v minimálním množství, jako dusíkatý zdroj využívají štěpné produkty bílkovin, zajišťují pomalou fermentaci a jsou odolné vůči

vysokým koncentracím kyseliny mléčné. Kvasinková keřírová kultura se skládá z těchto druhů kvasinek:

- *Candida keřyr*
- *Kluyveromyces lactis*
- *Kluyveromyces fragilis*
- *Torulopsis lactis* var. *condensi* [2].

Keřírové kulturey jsou navíc obohaceny o bakterie mléčného kvašení (leukonostoky a laktobacily) a octového kvašení, které vytváří aroma [8].



Obrázek 6 *Kluyveromyces lactis* [25]

2.3.3. Zakysání a fermentace

Fermentací neboli kvašením, se rozumí rozkladné procesy, které jsou realizovány pomocí enzymů fermentujících mikroorganismů. Ty mohou být anaerobní nebo fakultativně anaerobní, v přítomnosti kyslíku už dochází ke změně rozkladu na dýchání. Nejčastější substráty jsou sacharidy a jejich deriváty, které se rozkládají na karboxylové kyseliny, alkoholy, ketony, oxid uhličitý a další látky. Každý mikroorganismus má rozdílnou schopnost rozkládat různé substráty na produkty. To vše ale závisí na podmínkách, jako je např. zdroj energie, pH a přítomnosti dalších složek.

Principem mléčné fermentace je přeměna pyruvátu na kyselinu mléčnou (laktát) pomocí laktátdehydrogenázy [26]. Fermentací se také vyrábí víno, chléb a další výrobky [3].

Upravené mléko se přečerpává do kvasných tanků. Tam se provede zaočkování startovacími kulturami. Doba kvašení závisí na druhu výrobku a koncentraci startovací kultury [15]. Většinou se využívá optimální teplota růstu dané startovací kultury, někdy se může ke konci fermentace snižovat za účelem vzniku většího množství aromatických látek⁴. Je třeba důkladného míchání, aby se mikroorganismy rozptýlily do celého objemu

mléka [14]. Fermentace tedy může probíhat buď ve výrobní nádrži nebo až ve spotřebitelských obalech [1]. Cílem fermentace je vlastně vznik dvou produktů. Tím je buď gelovitý produkt bez odlučování syrovátky, nebo krémový polotekutý produkt s krupičkovitou konzistencí a také bez oddělování syrovátky.

Při fermentaci vzniká kyselina mléčná, která zajišťuje pokles pH na hodnotu 4,5 a níž. Toto nízké pH zajistí bakteriocidní až bakteriostatické účinky na nežádoucí mikroflóru. FMV tedy nebývají příčinou alimentárních nákaz [2].

2.3.4. Přídavné látky, ochucovadla

Do fermentovaných mléčných výrobků se často přidávají různé ochucující a ovocné složky. Je to hlavně ovocné pyré, dřevň nebo dužina, které obsahují asi 60 % sacharidů [1]. Tyto látky mohou významně ovlivnit trvanlivost a jakost výrobku [12]. V ovoci se přirozeně vykytují také nenasycené mastné kyseliny, aminokyseliny a sacharidy. Důležité chuťové látky jsou aldehydy, ketony, silice, sacharidy a disociované a nedisociované kyseliny [17][18]. Dále se mohou přidávat látky určené ke stabilizaci produktu, a to želatina, gumy rostlinného původu, výtažky z mořských řas a různé makromolekulární sloučeniny. Tyto látky a aroma se přidávají před nebo během kvašení. Ovocné složky se přidávají až po zchlazení nebo při plnění do spotřebitelských obalů [1].

Se zlepšováním kvality výrobků souvisí také doba trvanlivosti nesterilních mléčných výrobků. Chlazením se pouze zpomaluje rychlost růstu mikroorganismů.

Oxid uhličitý může mít účinek na růst startovací kultury, zkrácení doby výroby a zlepšení bezpečnosti výrobků. Výhodou také je, že přídavek oxidu uhličitého nemění sensorické vlastnosti, na rozdíl od tepelných procesů, jako je UHT záhřev nebo pasterace, které mění organoleptické vlastnosti některých produktů. Obohacení oxidem uhličitým zlepšuje trvanlivost o 200 – 400 % [13].

Prebiotika (vláknina) jsou nestravitelné aditivní látky, které pozitivně působí na zažívací ústrojí. Poskytují zdroj uhlíku a energie a díky tomu podporují růst, množení a aktivitu probiotické mikroflóry v tlustém střevě, čímž se zlepšuje trávení. Nejrozšířenějšími prebiotiky jsou oligosacharidy, inulin, laktulóza, laktikol a polydextróza. Prebiotika jsou zdrojem sacharidů pro *Bifidobacterium*, který využívá sacharidy jako zdroj energie [10][14][27]. Tyto látky se mohou, současně s použitím bifidobakterií, přidávat do mléka na výrobu fermentovaných mléčných výrobků, a to v množství 1-3 % hm. Jejich

přídavek je možný také do krmných směsí hospodářských zvířat, u kterých rovněž příznivě ovlivňují rovnováhu střevní mikroflóry [14].

2.3.5. Chlazení, plnění a balení

Aby byly výrobky mikrobiologicky nezávadné a prodloužila se doba trvanlivosti, je třeba dodržovat správnou hygienickou praxi v celém procesu výroby [15]. Fermentace se ukončuje co nejrychlejším zchlazením pod 10 °C. V některých případech se výrobky zchladí pod 20 °C a poté se přidají ochucovací složky a další přísady. Následné chlazení na skladovací teplotu potom je už pomalejší. Toto chlazení ve dvou fázích může zlepšovat rheologické vlastnosti výrobků [1]. Aby nedošlo ke kontaminaci při balení, výrobky se plní do obalů pod mikrobiologicky filtrovanou atmosférou. Růstu plísní na povrchu se zabrání balením v inertní atmosféře nebo přidavkem mikrobiologicky čistých ovocných složek na povrch výrobku [2]. Fermentované mléčné výrobky se balí do obalů, které musí být odolné, nesmí pohlcovat cizí pachy a neměly by propouštět světlo. Skleněné obaly, které byly původně nejčastější, jsou nyní nahrazovány obaly syntetickými. Nejčastěji je to papírový karton s povrchovou úpravou obdélníkového tvaru a plastové pohárky různého tvaru. Některé obaly mohou mít víčko se schopností úniku nadbytečného CO₂. K povrchové úpravě papírového kartonu se používá různých polymerů, hliníku a pryskyřic [1]. Hotové výrobky se uchovávají v chladících kontejnerech s teplotou pod 10 °C po dobu 2-5 dní. V této době se stabilizuje koagulum a probíhá kontrola kvality [15].

2.3.6. Distribuce

Dopravu výrobku k zákazníkovi zajišťují oddělení ve firmě zabývající se logistikou. Vozidla, ve kterých se výrobky převáží, musí splňovat určitá nařízení. Nesprávné chlazení nebo velké otřesy mohou mít vliv na snížení viskozity, odloučení syrovátky a tím zhoršovat kvalitu výrobku [15]. Proto je důležité, aby teplota skladování, tedy 2-5 °C byla udržována po celou dobu distribuce od výrobce až ke spotřebiteli [12].

2.4. Analýza fermentovaných mléčných výrobků

2.4.1. Senzorická analýza

Senzorická analýza obecně představuje smyslové hodnocení výrobků, při kterém se stanovují vjemy (zrakové, chuťové, sluchové, čichové, taktilní, kinestetické, teplotní a vjemy bolesti). Tyto vjemy jsou vnímány všemi smysly a získané informace jsou zpracovávány centrální nervovou soustavou. Výsledky sensorické analýzy se nemohou srovnávat s výsledky chemické nebo fyzikální analýzy.

Senzorickou analýzu provádí vyškolený pracovník – hodnotitel, podávající přesné, objektivní a reprodukovatelné výsledky. Hodnocení má dvě části. Nejprve je potravina vnímána komplexně jako celek, až poté přijde na řadu hodnocení hédonické a intenzitní, kdy se vnímají detaily. Toto hodnocení je už obtížnější a vyžaduje větší soustředění, tudíž následuje i rychlejší únava a to jak psychická, tak i únava smyslových receptorů. V obou případech je potřeba udělat přestávku mezi hodnoceními. Laboratoř sensorické analýzy musí být uzpůsobena tak, aby na hodnotitele působilo co nejméně rušivých vlivů. Uspořádání sensorického pracoviště popisuje ČSN ISO 8589 [28]. V této normě je zmíněna např. hladina zvuku, teplota, vlhkost, pohyb vzduchu, barva stěn, nábytek a uspořádání jednotlivých hodnotitelských kójí [29]. Příprava vzorku musí odpovídat normě ČSN 56 0100 [30].

Senzorické vady fermentovaných mléčných výrobků se odvíjí od kvality používaného mléka. Proto je důležité, aby tato surovina byla co nejkvalitnější. Mléko se hodnotí syrové, kdy se posuzuje jeho vzhled a vůně a poté i pasterované, kdy se posuzuje i chuť. Typická chuť a vůně mléka je mléčná a nasládlá. Barva odpovídá slabě nažloutlé až bílé a hustota mléka by měla být o něco větší než hustota vody. Dalším parametrem je konzistence, která by se neměla projevovat slizovitostí, zvýšenou viskozitou nebo lepivostí. Organoleptické vlastnosti výrobku závisí také na technologickém zpracování surovin [31]. Vady výrobku mohou způsobit některé acidotolerantní mikroorganismy. Například kvasinky a plísně mohou vyvolat kvasničnou a zatuchlou chuť výrobku. Původně obsažené bakterie mohou při delším působení způsobovat příliš kyselou nebo kovovou příchut'. Kontaminaci výrobků mohou také způsobovat kvasinky a plísně, a to především u výrobků ochucených ovocnou složkou (džem, sirup). Ty pak způsobují

chuťové změny, vydutí hermeticky uzavřených obalů a bubliny v koagulátu. Mezi sensorické hodnocení patří také hodnocení zabaleného výrobku. Laktokoky se zvýšenou tvorbou CO₂ mohou způsobovat deformaci obalů, např. vydutí víčka.

Těmto sensorickým vadám se dá zabránit správným výběrem nekontaminovaného mléka, dodržováním hygieny a sanitace při technologickém zpracování, vhodným výběrem nekontaminovaných kultur, včasným zastavením fermentace a skladováním ve vhodných podmínkách [2].

2.4.2. Stanovení titrační kyselosti

Produkce kyseliny mléčné se stanovuje měřením titrační kyselosti podle Soxhlet-Henkela. Tato kyselost je přímo úměrná obsahu sušiny v mléce [2]. Výsledek se vyjadřuje ve °SH, což udává objem odměrného roztoku NaOH o koncentraci 0,25 mol/l, který je potřebný k neutralizaci 100 ml mléčného výrobku. Jako indikátor se používá fenolftalein indikující barevný přechod do světle růžového zbarvení.

50 ml vzorku se odpipetuje do titrační baňky a přidá se pár kapek fenolftaleinu. Směs se po promíchání a případném zředění destilovanou vodou titruje 0,25 M NaOH. V bodě ekvivalence přechází mléčné zbarvení do světle růžové, které vydrží minimálně 30 s. Titrační kyselost je dvojnásobek spotřebovaného odměrného roztoku 0,25 M NaOH (v ml) [32].

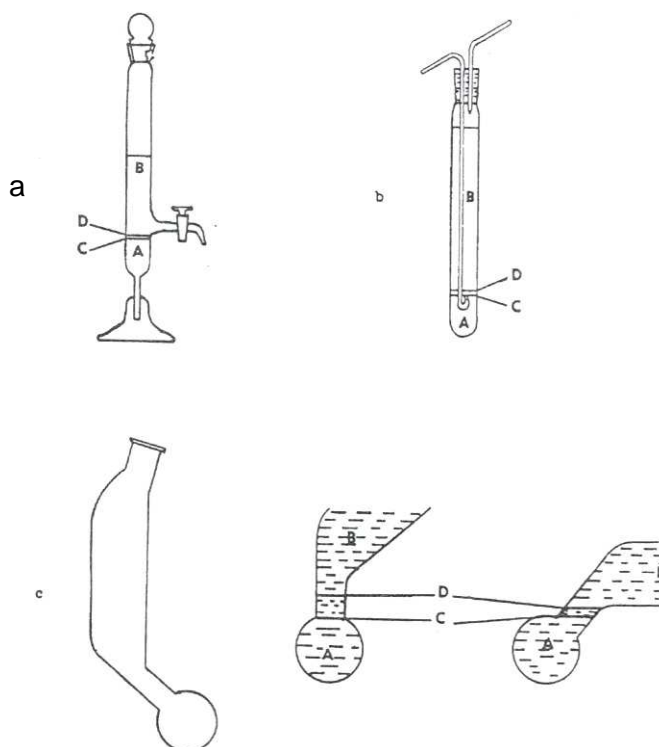
2.4.3. Stanovení aktivní kyselosti

Toto stanovení je výhodnější oproti stanovení titrační kyselosti, protože aktivní kyselost není závislá na obsahu sušiny v mléce [2]. Aktivní kyselostí se rozumí koncentrace H⁺ iontů ve vzorku. Ve vzorku se po vytemperování na 20 °C změří pH pomocí pH metru s měrnou skleněnou a referentní kalomelovou elektrodou [32].

2.4.4. Stanovení obsahu tuku

Obsah tuku je důležitý znak při výběru mléka a při hodnocení jakosti výrobku [32]. Tuk se gravimetricky a extrakčně stanovuje metodou podle Röse-Gotlieba. Principem této metody je rozrušení netukových částic pomocí HCl nebo NH₃, opakovaná extrakce tuku pomocí diethyletheru nebo petroletheru a následné odpaření těchto rozpouštědel. Po odpaření a vysušení do konstantní hmotnosti se stanoví hmotnost vyextrahovaného tuku. Výsledek se udává v % tuku. Ke stanovení se používá Mojonnierův baňkový

extraktor, extraktor dle Röse-Gottlieba nebo extrakční trubice s promývacím zařízením. Jednotlivé extraktory ukazuje obrázek 7 [33].



Obrázek 7 Příklady extrakčních přístrojů [33].

- a) extraktor dle Röse-Gottlieba, b) extrakční trubice s promývacím zařízením,
c) Mojonnierova baňka. A - vodná fáze, B - organická fáze, C a D - fázová rozhraní

2.4.5. Stanovení bílkovin

Klasickou metodou stanovení bílkovin je Kjeldhalova metoda. Principem stanovení „hrubých“ bílkovin (tedy i dusíkatých látek nebílkovinné povahy) je mokrá mineralizace pomocí koncentrované kyseliny sírové a selenového katalyzátoru, převedení dusíkatých látek na síran amonný a následné uvolnění amoniaku, jehož množství se po destilaci stanoví alkalimetrickou titrací. Stanovení „čistých“ bílkovin předchází jejich vysrážení pomocí kyseliny trichloroctové nebo síranem měďnatým v prostředí NaOH. Poté následuje odfiltrování a promytí. Sraženina se poté mineralizuje stejně jako hrubé bílkoviny a i další postup je stejný. Obsah dusíkatých látek se v obou případech přepočítá pomocí empirického faktoru na obsah bílkovin v potravine [33].

2.4.6. Stanovení laktózy a redukcí cukrů

Metoda, která se používá hlavně pro ochucené a slazené výrobky, se nazývá Luff-Schoorlova metoda. Tuk a bílkoviny se vysráží pomocí Carrezových činidel a vzniklá sraženina se přefiltruje. Laktóza obsažená ve filtrátu redukuje měďnatou sůl z Fehlingových činidel. Po varu, ochlazení a přidavku KI a H_2SO_4 se vyloučený jod stanoví jodometricky do smetanového zbarvení na škrobový maz. Výsledek se přepočítá na monohydrát nebo bezvodou laktózu ve 100 g výrobku. Při stanovení se rovněž provádí slepý pokus. V případě stanovení glukózy nebo maltózy se výsledek přepočítá pomocí hodnot popisujících obsah příslušného cukru na objem spotřebovaného titračního činidla $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ [33].

2.4.7. Polarimetrické stanovení mléčného cukru

Protože laktóza má schopnost stáčet rovinu polarizovaného světla, lze ji stanovit polarimetricky. Vzorek se pomocí Carrezových činidel vyčeří a zfiltruje. Po filtraci a vytemperování na 20 °C se čirým filtrátem naplní polarimetrická trubice. Na stupnici polarimetru se odečte příslušná hodnota a přepočítá se na % monohydrátu laktózy. Specifická otáčivost laktózy je asi + 55,3. Obsah laktózy je přímo úměrný její optické otáčivosti [33].

2.5. Vliv fermentovaných mléčných výrobků na lidský organismus

Odhaduje se, že v lidském trávicím traktu je až 1500 druhů mikroorganismů. Tato mikroflóra značně ovlivňuje zdravotní stav hostitele [10]. Příznivý vliv na lidský organismus mají i mnohé další látky, některé z nich jsou popsány v následujících podkapitolách.

2.5.1. Kyselina listová

Kyselina listová (vitamin B₉, folát) je rozpustná ve vodě. V organismu se mimo jiné účastní krvetvorby, kde při tvorbě hemu funguje jako nosič uhlíku. Nedostatek kyseliny

listové má tedy za následek chudokrevnost. Protože ale syntetické zdroje tohoto vitamínu mohou vyvolat zdravotní potíže, hledaly se nové, přirozeně se vyskytující v potravinách.

Mléko a mléčné výrobky zajistí asi 10 – 15 % doporučené denní dávky kyseliny listové. Kysané mléčné výrobky obsahují ještě větší množství díky bakteriím mléčného kvašení. Největším producentem folátu je *Streptococcus thermophilus*.

U studie s mladými samci bílých myší bylo prokázáno, že denní příjem kysaného mléka s vysokým obsahem folátu zvýšil hladiny hemoglobinu v krvi bez jakýchkoli vedlejších účinků. Proto správný výběr bakteriálních kultur produkujících kyselinu listovou vede ke zlepšení nutričních vlastností výrobku, aniž by se zvýšily náklady na jeho výrobu [34].

2.5.2. Konjugovaná kyselina linolová

Konjugovaná kyselina linolová (CLA) je esenciální mastná kyselina, která se běžně vyskytuje v rostlinných olejích. Nedostatek této kyseliny způsobuje kožní problémy, špatné hojení ran a oslabení imunitního systému.

Mléčné výrobky obsahující CLA mají pozitivní zdravotní vliv. Zlepšují mikrobiologickou rovnováhu v trávicím traktu, toleranci laktózy a snižují hladinu cholesterolu. Tyto účinky byly prokázány studiemi na zvířatech i in vitro. Probiotické bakterie (*Lactobacillus rhamnosus*, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* a *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *freudenreichii*) prokázaly schopnost produkce konjugované kyseliny linolové z kyseliny linolové i v modelových systémech. Doba skladování nemá na obsah CLA žádný významný vliv [4].

2.5.3. Bioaktivní peptidy ve fermentovaných mléčných výrobcích

Bioaktivní peptidy vznikají hydrolýzou některých proteolytických enzymů, kdy se uvolněné peptidy stávají peptidy bioaktivními [35]. Jsou to specifické peptidové fragmenty, které mají pozitivní dopad na lidský organismus, a to z hlediska kardiovaskulárního, trávicího, nervového a imunitního systému. Tato činnost je zajištěna jejich složením, počtem a pořadím aminokyselin [17]. Hlavní syrovátkové bílkoviny jsou laktoglobulin, laktalbumin a imunoglobuliny [3]. Vyskytují se hlavně v mléčných hydrolyzátech a kysaných mlécích [35].

2.5.4. Protirakovinotvorné účinky

Rakovina jakožto celosvětově rozšířené nádorové onemocnění je jedním z nejčastějších příčin úmrtí. Neustále jsou prováděny nové studie, kdy jsou hledány látky, které zabraňují riziku vzniku tohoto onemocnění.

Jedním z nich je vliv probiotických bakterií, pomocí nichž se snižuje riziko a výskyt nádorů tlustého střeva, močového měchýře a jater, a to tak, že potlačují růst karcinogenních buněk, posilují imunitní systém hostitele a zvyšují aktivitu antioxidantních enzymů (např. glutathionperoxidáza, superoxidodismutáza, kataláza).

Příjem kysaného mléka, obsahující *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium bifidum*, ovlivňuje střevní mikroflóru enzymy jako β -glukuronidáza, β -glukosidázou a nitro-reduktázou, z nichž např. β -glukosidáza uvolňuje flavonoidy, mající antimutagenní a antioxidantní účinky [9].

2.5.5. Vliv na imunitní systém u podvyživených jedinců

Při podvýživě klesají imunitní obranné mechanismy hostitele, a ten je pak náchylnější k onemocnění. Příjem probiotik pomáhá regenerovat střevní sliznici a podporovat lokální a celkovou imunitu. Zvyšuje obranyschopnost proti *Salmonella typhimurium* a zabraňuje šíření nežádoucích mikroorganismů do jater a sleziny [36].

2.5.6. Vliv probiotik

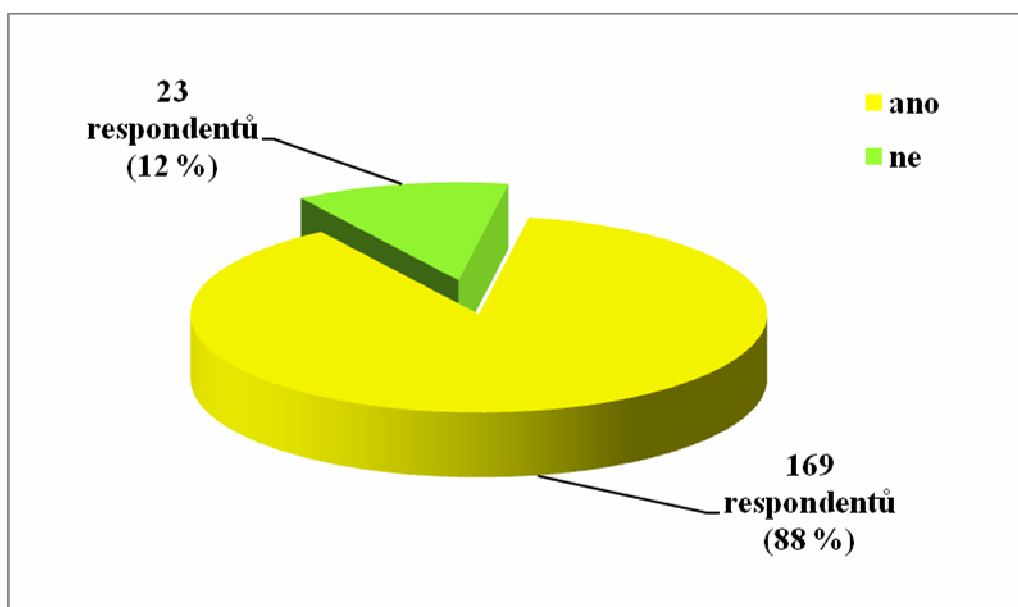
Na studii, v níž se pozorovaly účinky probiotik na myších s nasazeným modelem lidské střevní mikroflóry, bylo prokázáno, že příjem jogurtů obohacených kmenem *Bifidobacterium animalis* neměl žádný výrazný vliv na složení střevní mikroflóry hostitele, ale vyvolal transkripční a metabolické změny zejména u využívání sacharidů. Složení lidské mikroflóry také výrazně ovlivňuje příjem potravin a zdravotní stav.

Tyto studie ukazují, že bakterie *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrückii* subsp. *bulgaricus* nejsou schopny přežít průchod střevem, takže jejich probiotické účinky jsou minimální. Přesto tyto výrobky mají dobrý vliv na zažívací ústrojí. Vedou ke změnám konzistence stolice, zlepšení peristaltiky střev a hydratace trávicího traktu. Tyto účinky jsou spojeny se všemi složkami výrobku a ne jen s přítomností jednoho bakteriálního kmene [37].

2.6. Průzkum konzumace fermentovaných mléčných výrobků v ČR

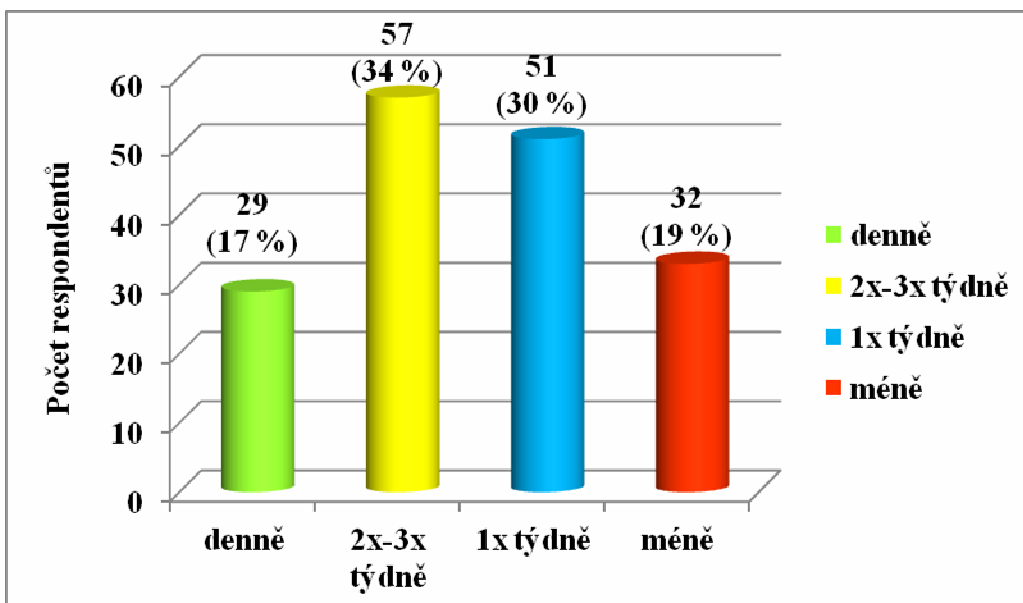
V rámci bakalářské práce byl proveden průzkum konzumace fermentovaných mléčných výrobků v České Republice. Respondenti byli vybráni nahodile ve všech věkových kategoriích. Dotazník byl anonymní a podáván jak v elektronické, tak v tištěné podobě. Cílem bylo zjistit, zda dotazovaní konzumují FMV, v jaké míře, jaký druh a značku. Dále jestli dotazovaní konzumují raději výrobky se sníženým obsahem tuku, bio výrobky a také jak jsou spokojeni s výrobky, které se pohybují na českém trhu.

Průzkum byl prováděn od 7. 5. 2012 do 13. 5. 2012. Celkový počet dotazovaných byl 192 ze všech oblastí České Republiky. Dotazník měl 11 otázek a je uveden v příloze.



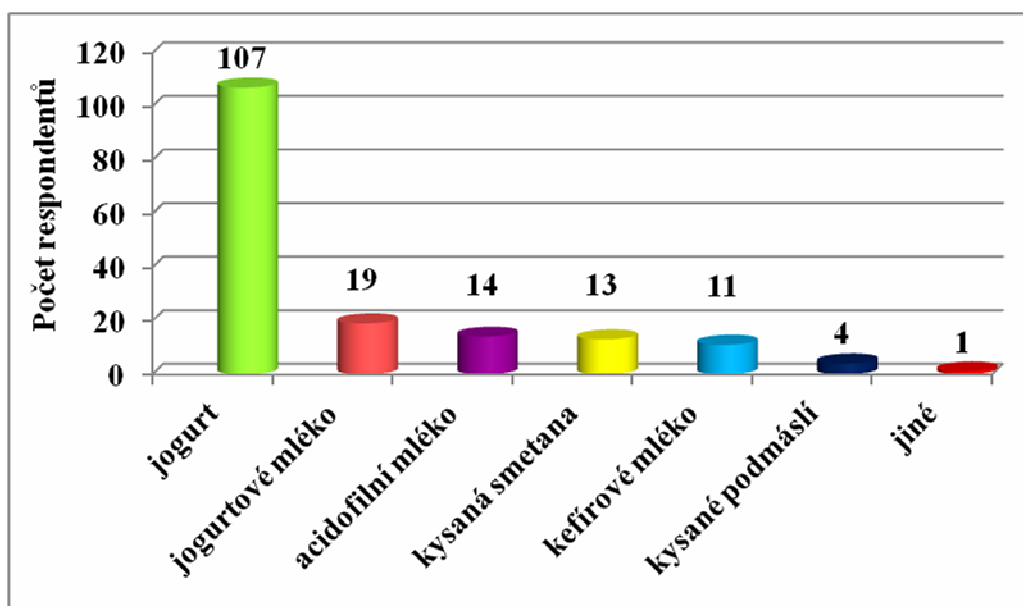
Obrázek 8 Konzumace fermentovaných mléčných výrobků

Obrázek č. 8 ukazuje, že většina dotazovaných, a to 88 % FMV konzumuje. Jen 23 dotazovaných tyto výrobky nekonzumuje vůbec. První otázka byla rozdělovací. Ti, kteří odpověděli, že FMV nekonzumují, dále pokračovali až k otázce č.9 (viz příloha).



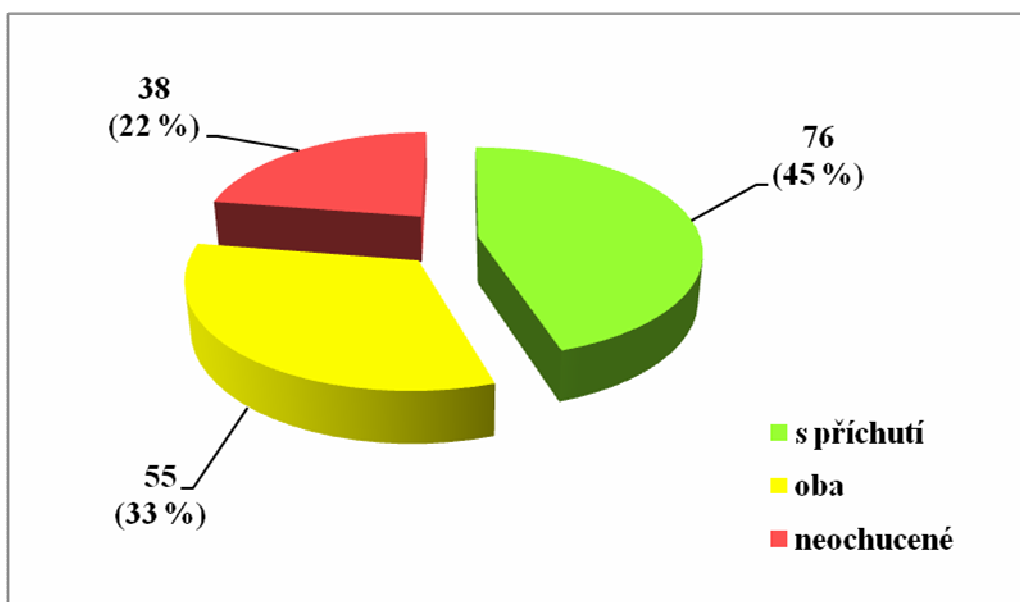
Obrázek 9 Konzumace fermentovaných mléčných výrobků

Největší počet dotazovaných odpovědělo, že FMV konzumují 2x-3x týdně (viz obr. 9). Následovala konzumace 1x týdně a 32 dotazovaných odpovědělo, že FMV konzumují méně než 1x týdně.



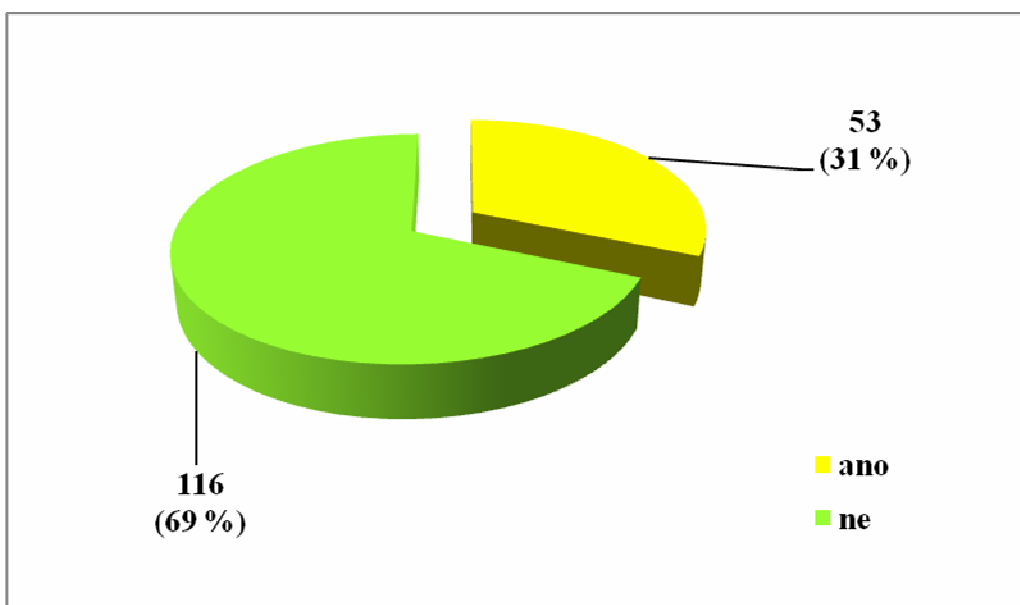
Obrázek 10 Druhy fermentovaných mléčných výrobků

Z obrázku 10 jednoznačně vyplývá, že dotazovaní nejvíce konzumují jogurt. Na dalším místě bylo jogurtové mléko. Acidofilní mléko a kysaná smetana mají přibližně stejný počet. Následovalo kefirové mléko a nejméně lidé konzumují kysané podmáslí. Jeden dotazovaný nejčastěji konzumuje jiný druh výrobku.



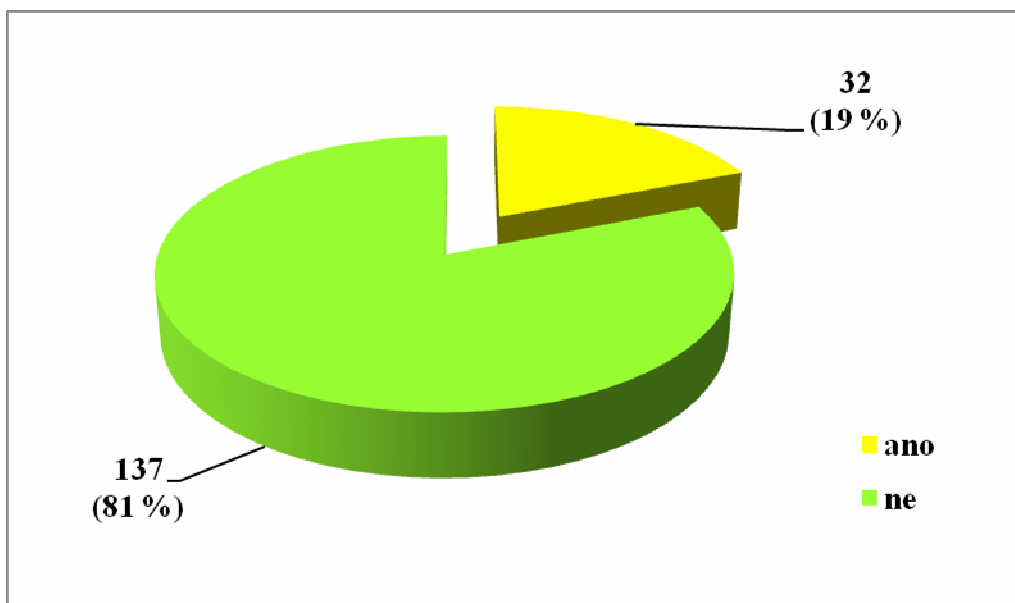
Obrázek 11 Druhy fermentovaných mléčných výrobků

Obrázek 11 popisuje spotřebu neochucených a ochucených FMV. 45 % dotazovaných konzumuje častěji FMV s příchutí. 22 % má raději neochucené FMV a 33 % je nerozlišuje.



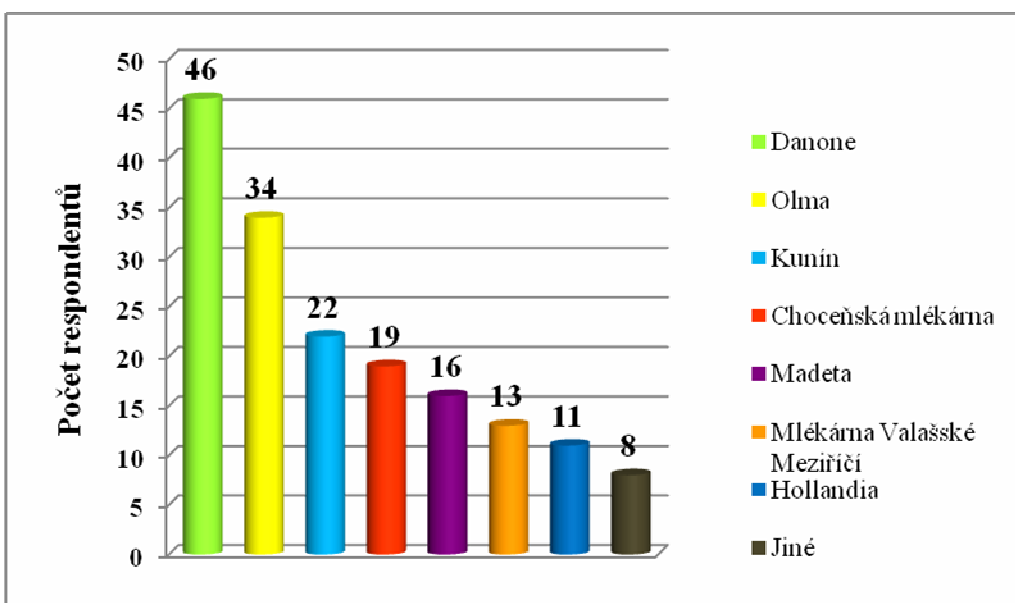
Obrázek 12 Konzumace výrobků se sníženým obsahem tuku

Celých 69 % dotazovaných neupřednostňuje výrobky se sníženým obsahem tuku. 31 % respondentů si pak raději koupí výrobek se sníženým obsahem tuku (viz obr. 12).



Obrázek 13 Konzumace bio výrobků

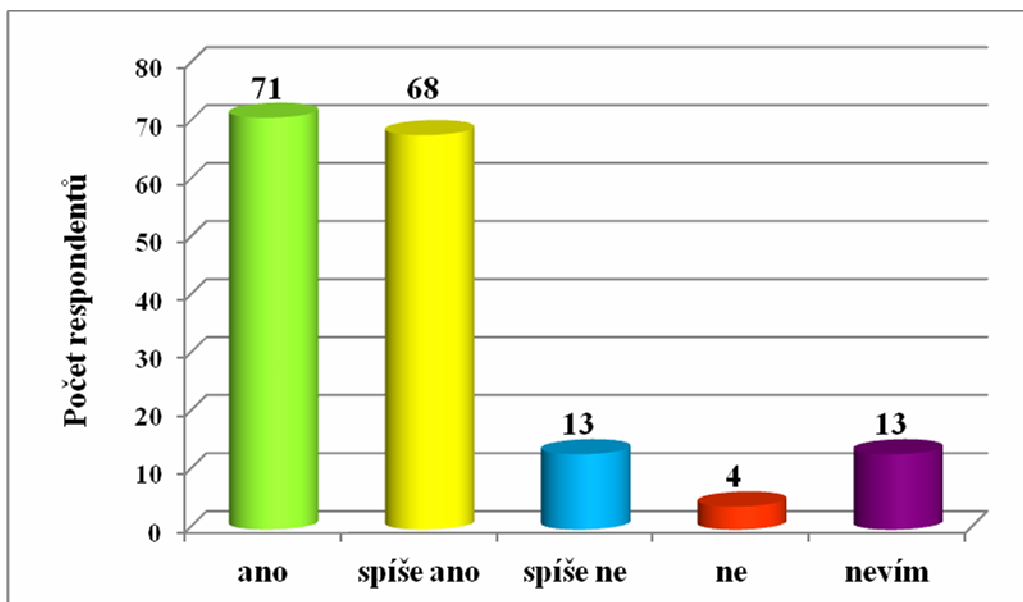
Z obrázku č. 13 vyplývá, že pouze 19 % dotazovaných upřednostňuje bio výrobky. Zbýlých 81 % bio výrobkům přednost nedává.



Obrázek 14 Značky fermentovaných mléčných výrobků

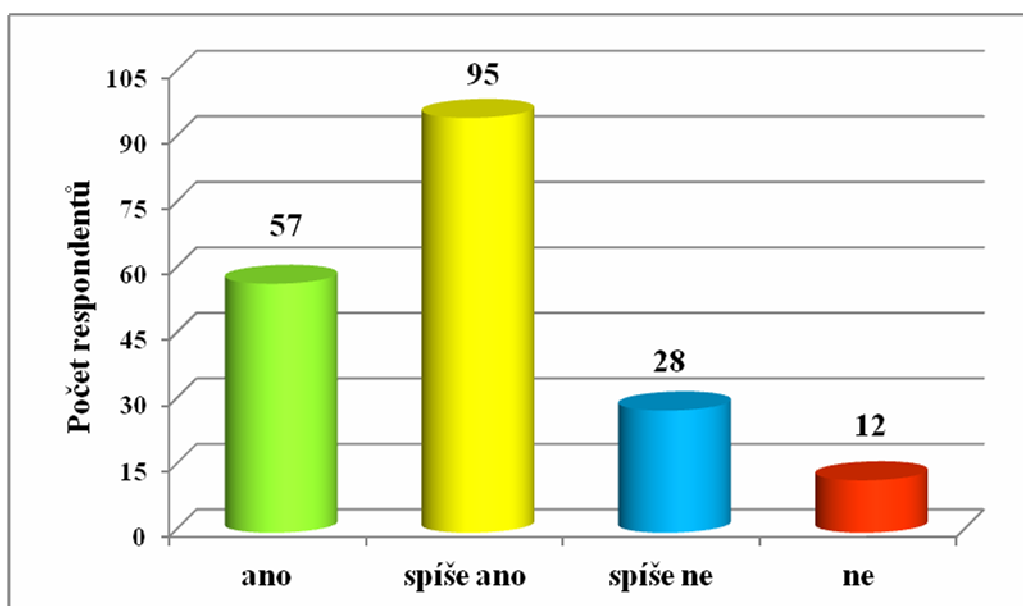
V grafu na obrázku č. 14 jsou shrnuty výsledky týkající se značky FMV nejčastěji kupované respondenty. Na výběr bylo 6 značek a 7. možnost byla otevřená, kdy mohli respondenti sami dopsat svou odpověď. Jednoznačně nejčastějším konzumovaným FMV jsou výrobky značky Danone, kterou zvolilo 46 dotazovaných. Následovala značka Olma, tu nejčastěji konzumuje 34 respondentů. Poté byly značky Kunín, Choceňská mlékárna,

Madeta, Mlékárna Valašské Meziříčí a Hollandia, kterou vybralo 11 dotazovaných z celkového počtu 169. Zbýlých 8 respondentů si kupuje výrobky jiné značky, nebo nakupuje podle aktuální ceny.



Obrázek 15 Zdravotní přínos

Obrázek 15 ukazuje, že většina respondentů (42 % „ano“ a 40 % „spíše ano“) se domnívá, že FMV mají nějaký pozitivní vliv na zdraví. 8 % nedokázalo na tuto otázku odpovědět a jen 2 % si myslí, že FMV nemají žádný zdravotní přínos.



Obrázek 16 Spokojenost s kvalitou fermentovaných mléčných výrobků

Tak jako předchozí i obrázek č. 16 ukazuje, že většina („ano“ 30 % a 49 % „spíše ano“) respondentů je spokojeno s kvalitou FMV, které jsou nabízeny na českém trhu.

Poslední dvě otázky byly pouze informační a sloužily k charakteristice respondentů. Z celkového počtu dotazovaných bylo 62 % žen a 38 % mužů. Věkové kategorie a počet dotazovaných je uveden v následující tabulce 1.

Tabulka 1 Rozdělení respondentů podle věku

	Počet dotazovaných	Procentické zastoupení
do 18 let	12	6 %
19-30 let	130	68 %
31-50 let	34	18 %
nad 51 let	16	8 %

3. ZÁVĚR

Cílem této práce bylo shrnout poznatky o fermentovaných mléčných výrobcích. Tyto funkční potraviny jsou prospěšné pro lidské zdraví. Obsahují mikroflóru, která příznivě ovlivňuje složení střevní mikroflóry a potlačuje růst nežádoucích mikroorganismů. Dále obsahují látky, které například zlepšují trávení, posilují imunitní systém, mají antioxidační a protirakovinotvorné účinky. Jejich konzumace je prospěšná hlavně po užívání antibiotik, kdy je střevní mikroflóra oslabená. Konzumace FMV opět zajistí optimální osídlení mikroorganismů v trávicím traktu. Výhodou těchto výrobků je také jejich možná konzumace u spotřebitelů s intolerancí laktózy.

Tak jako ve všech potravinářských provozech, i při výrobě FMV je nezbytné dodržovat správnou výrobní praxi a hygienu. Jen tak se zabrání nežádoucí kontaminaci výrobku a tím jeho znehodnocení. Důležitým krokem při výrobě je také vstupní, výstupní a mezioperační kontrola surovin a produktů a jejich významných složek. Použitím kvalitních a zdravotně nezávadných surovin se získá produkt požadované kvality a jakosti, který správným skladováním a distribucí zajistí spotřebitelům bezpečnou potravinu.

V dotazníkovém šetření bylo zjištěno, že většina respondentů FMV konzumuje, a to buď kvůli organoleptickým vlastnostem výrobku, nebo jak si myslí většina dotazovaných, kvůli jejich příznivému vlivu na zdraví. Nejčastěji konzumovaným výrobkem je jogurt. Biovýrobky, které se staly novým trendem v potravinářství, se však netěší u spotřebitelů velké oblibě. Může to být způsobeno neochotou zkusit nové výrobky nebo jejich vyšší cenou. Většina respondentů byla spokojena s kvalitou FMV, což se odráží na stále rostoucí spotřebě těchto funkčních a zdravích prospěšných potravin.

4. Seznam použité literatury

- [1] CABALERO, B.; TURGO, L. C.; FINGLAS, P. M. *Encyclopedia of Food Science and Nutrition*, Academic Press, 2003.
- [2] GÖRNER, F.; VALÍK, Ľ. *Aplikovaná mikrobiológia potravín*, Bratislava, Malé centrum, 2004.
- [3] PLESSAS, S.; ALEXOPOULOS, A.; VOIDAROU, C.; STAVROPOLOU, E.; BEZIRTZOGLU, E. Microbial ecology and quality assurance in food fermentation systems. The case of kefir grains application, *Anaerobe*, 17, 2011, s. 483-485.
- [4] XU, S.; BOYLSTON, T. D.; GLATZ, B. A. Conjugated Linoleic Acid Content and Organoleptic Attributes of Fermented Milk Products Produced with Probiotic Bacteria, *J. Arg. Food Chem.*, 53, 2005, s. 9064-9072.
- [5] KADLEC, P. a kol. *Technologie potravin II*. VŠCHT Praha, 2002.
- [6] *Kirk-Othmer Food and feed technology 2*, Hoboken, Willey, 2007, ISBN: 978-0-470-17448-7.
- [7] SODINI, I.; MORIN, P.; OLABI, A.; JIMENÉZ-FLORES, R. Compositional and Functional Properties of Buttermilk: A Comparison Between Sweet, Sour and Whey Buttermilk, *J. Dairy Sci.*, 86, 2006, s. 525-536.
- [8] DRDÁK, M.; STUDNICKÝ, J.; MÓROVÁ, E.; KAROVIČOVÁ, J. *Základy potravinářských technologií*, Bratislava, Malé centrum, 1996.
- [9] KUMAR, M.; KUMAR, A.; NAGPAL, R.; MOHANIA, D.; BEHARE, P.; VERMA, V. Cancer-preventing attributes of probiotics: an update. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 61, 2010, s. 473-496.
- [10] FORSSTEN, S. D.; SINDELAR, C. W.; OUWEHAND, A. C. Probiotics from an industrial perspective. *Anaerobe*. 17, 2011, s. 410-413.

- [11] ZARE, F; CHAMPAGNE, C. P.; SIMPSON, B. K.; ORSAT, V.; BOYLE, J. I. Effect of the addition of pulse ingredients to milk on acid production by probiotic and yoghurt starter cultures LWT . *Food Sci. Technol.* 45, 2012, s. 155-160.
- [12] FORMAN L. a kol. *Mlékárenská technologie II*, VŠCHT Praha, 1994.
- [13] HOTCHKISS, J. H.; WERNER, B. G. Addition of Carbon Dioxide to Dairy Products to Improve Quality: A Comprehensive Review. *Compr. Rev. Food Sci. F.* 5, 2006, s. 158-168.
- [14] KADLEC, P.; MELZOCH, K.; VOLDŘICH, M. *Co byste měli vědět o výrobě potravin? Technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2009.
- [15] KOPANOS, G. M.; PUIGJANER, L.; GEORGIAS, M. C. Optimal production Scheduling and Lot-Sizing in Dairy Plants: The Yogurt Production Line, *Ind. Eng. Chem. Res.* 49, 2010, s. 701-718.
- [16] VELÍŠEK, J.; HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin I.*, OSSIS Tábor, 2009.
- [17] YILDIZ, F. *Advances in food biochemistry*. CRC Press, 2010.
- [18] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin II.*, OSSIS Tábor, 1999.
- [19] ZIARNO, M. Role of bacteria of the genus *Leuconostoc* for the dairy industry, *Medycyna Weterynaryjna*, 63, 2007, s. 403-407.
- [20] <http://www.science.uva.nl/sils/mmp/object.cfm/92C81026-5CE2-4A38-871CAA6FAC0CAB55> (18.6.2012)
- [21] KALCHAYANAND, N.; FRETHERM, C.; DUNNE, P.; SIKES, A.; RAY, B. Hydrostatic pressure and bacteriocin-triggered cell wall lysis of *Leuconostoc mesenteroides*, *Innov. Food Sci. Emerg.*, 3, 2002, s. 33-40.
- [22] FONT DE VALDEZ, G.; MÉDCI, M.; PÍA TARANTO, M. Alimentos funcionales probióticos, *Química Viva*, 4, 2005, s. 26.
- [23] <http://www.sciencephoto.com/media/12028/enlarge> (18.6.2012)
- [24] JAFAREI, P. ; EBRAHIMI, M. T. *Lactobacillus acidophilus* cell structure and application (Review). *Afr. J. Microbiol. Res.*, 5, 2011, s. 4033-4042.

- [25] <http://ebooks.unibuc.ro/biologie/drojdi/3.htm> (18.6.2012)
- [26] VODRÁŽKA, Z. *Biochemie*. Academia: Praha, 1996.
- [27] DE SOUZA OLIVIERA, R. P.; PEREGO, P.; DE OLIVIERA M. N.; CONVERTI, A. Effect of inulin on the growth and metabolism of a probiotic strain of *Lactobacillus rhamnosus* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*, *LWT - Food Sci. Technol.*, 47, 2012, s. 358-363.
- [28] ČSN ISO 8589, Praha: Český normalizační institut, 2008.
- [29] POKORNÝ, J.; VALENTOVÁ, H.; PANOVSKÁ, Z. *Senzorická analýza potravin*, Praha: VŠCHT 1998.
- [30] ČSN 56 0100, Praha: Český normalizační institut, 1994.
- [31] INGR, I.; POKORNÝ, J.; VALENTOVÁ, H. *Senzorická analýza potravin*, Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita 1997.
- [32] HÁLKOVÁ, J.; RUMŠÍKOVÁ, M.; RIEGLOVÁ, J. *Analýza potravin: laboratorní cvičení*, Újezd u Brna 2000.
- [33] LUKÁŠOVÁ, J. a kol. *Praktická cvičení z hygieny a technologie mléka*, Brno 2000.
- [34] RAMYA, I.; SUDHIR, K. T. Dietary effect of folate-rich fermented milk produced by *Streptococcus thermophilus* strains on hemoglobin level. *Nutrition*, 27, 2011, s. 994-997.
- [35] MICHAELIDOU, A. M. Factors influencing nutritional and health profile of milk and milk products. *Small Ruminant Res.* 79, 2008, s. 42-50.
- [36] MALDONADO, G. C.; NOVOTNY, N. I.; DE MORENO, L. A.; CARMUERA, E.; WEILL, R.; PERDIGÓN, G. Impact of a probiotic fermented milk in the gut ecosystem and in the systemic immunity using a non-severe protein-energy-malnutrition model in mice. *BMC gastroenterol.* 11, 2011, s. 64-77.
- [37] BISANZ, J.E.; REID, G. Unraveling how probiotic yogurt works. *Sci. Transl. Med.* 2011, vol. 3, s. 1-4.

Příloha - Dotazníkový průzkum konzumace fermentovaných mléčných výrobků

Dobrý den,

jmenuji se Kateřina Podmolíková a jsem studentka 3. ročníku Fakulty chemicko-technologické na Univerzitě Pardubice. Tímto bych Vás chtěla požádat o vyplnění následujícího dotazníku, který poslouží jako podklad k mé bakalářské práci na téma Technologie a analýza fermentovaných mléčných výrobků.

Děkuji za Váš čas, který budete následujícímu dotazníku věnovat.

1. Konzumujete fermentované (zakysané) mléčné výrobky?

(Pokud ne, přeskočte k otázce č. 9.)

- ano
- ne

2. Jak často se ve Vaší stravě tyto výrobky vyskytují?

- denně
- 2x-3x týdně
- 1x týdně
- méně

3. Jaké druhy těchto výrobků konzumujete nejčastěji?

- acidofilní mléko
- jogurt
- jogurtové mléko
- keřírové mléko
- kysaná smetana
- kysané podmáslí
- jiné

4. Máte raději fermentované mléčné výrobky:

- neochucené
- s příchutí
- oba výrobky stejně

5. Upřednostňujete výrobky se sníženým obsahem tuku?

- ano
- ne

6. Dáváte přednost bio výrobkům?

- ano
- ne

7. Jakou značku výrobků kupujete nejčastěji?

- Danone (Activia, Dobrá máma, Actimel, aj.)
- Choceňská mlékárna (Smetanový jogurt)
- Kunín (Kyška, Acidofilní mléko, Zakysaná smetana, Beskydský jogurt, aj.)
- Madeta (Jihočeský zákys, Jihočeský jogurt tradiční, Jihočeská zakysaná smetana, aj.)
- Mlékárna Valašské Meziříčí (Jogurt z Valašska, Acidofilní mléko, Valašská kyška, aj.)
- Olma (Florian, Bio Via Natur, Kysaná smetana 16 %, Pierot, aj.)
- jiné: _____

8. Myslíte si, že tyto potraviny mají nějaký přínos pro Vaše zdraví?

- ano
- spíše ano
- spíše ne
- ne
- nevím

9. Jste spokojeni s kvalitou fermentovaných mléčných výrobků na českém trhu?

- ano
- spíše ano
- spíše ne
- ne

10. Jste:

- muž
- žena

11. Váš věk:

- do 18-ti let
- 19-30 let
- 31-50 let
- nad 50 let