

Vliv přídavku karagenanů na obsah volných aminokyselin fermentovaných mléčných výrobků

Bc. Petra Sekulová

Diplomová práce
2009



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav potravinářského inženýrství

akademický rok: 2008/2009

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Petra SEKULOVÁ**

Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Vliv přídavku karagenanů na obsah volných aminokyselin fermentovaných mléčných výrobků.**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

- Historie a technologie výroby jogurtů.
- Mikroorganismy používané pro výrobu fermentovaných mléčných výrobků.
- Struktura a vlastnosti karagenanů a jejich vliv na fermentované mléčné výrobky.

II. Praktická část

- Stanovení volných aminokyselin fermentovaných mléčných výrobků.
- Senzorické hodnocení fermentovaných mléčných výrobků.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] Tamime, A. Y.: *Yoghurt science and technology*, Woodhead Publishing Limited, England, 1999.

[2] Teplý M. a kol.: *Kefír, jogurt, acidofilní a jiné kyselky*, SNTL, Praha, 1968.

[3] Robinson R. K.: *Fermented milks -- yoghurt*, p.788, UK, 1999.

[4] Arltoft, D. a kol.: *Interactions between Carrageenans and milk proteins*, *Biomacromolecules*, Vol.8, No.2, 2007.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. František Buňka, Ph.D.

Ústav potravinářského inženýrství

Datum zadání diplomové práce:

16. února 2009

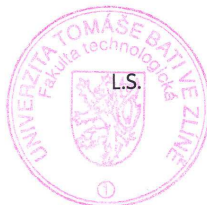
Termín odevzdání diplomové práce:

31. května 2009

Ve Zlíně dne 31. května 2009



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
vedoucí katedry

ABSTRAKT

K nejrozšířenějším fermentovaným mléčným výrobkům patří jogurt. Pro laboratorní výrobu jogurtů byla nejprve optimalizována skladba modelových mikroorganismů. Samotná výroba jogurtu probíhala za laboratorních podmínek. Po přidavku ι - a κ -karagenanů bylo zjištěno, že při vysokých koncentracích došlo k vytvoření pevného agregátu a k uvolnění velkého množství syrovátky. Optimální koncentrace obou karagenanů byla stanovena na 0,01 %. Teplota fermentace a přítomnost ι - a κ -karagenanů ovlivňují skladbu volných aminokyselin. Při teplotě 42 °C bylo množství volných aminokyselin vyšší než při 37 °C, v přítomnosti obou karagenanů došlo ke zvýšení obsahu volných aminokyselin.

Klíčová slova: jogurt, karagenan, sensorické hodnocení, volné aminokyseliny

ABSTRACT

Yoghurt is the most widespread fermented dairy product. For laboratory production of yoghurts was at first optimized composition of model microorganisms. Then the production itself proceeded in laboratory conditions. After addition of ι - and κ -carrageenans it was found that if added in a high concentration firm aggregate is created and also considerable amount of whey is released. The optimal concentration of both carrageenans was found to be 0,01%. The temperature of fermentation and present ι - and κ -carrageenans both influence composition of free amino acids. In temperature 42 °C was a number of free amino acids higher than in temperature 37 °C, in the presence of both carrageenans there was an increase in a content of free amino acids.

Keywords: yoghurt, carrageenans, sensory rating, free amino acids

Touto cestou bych chtěla poděkovat vedoucímu své diplomové práce panu doc. Ing. Františku Buňkovi, Ph.D., za odbornou pomoc, konzultaci a vedení.

Rovněž děkuji paní Mgr. Leoně Buňkové, Ph.D. za cenné rady a odbornou pomoc při zpracovávání diplomové práce.

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uvedena jako spoluautorka.

Ve Zlíně

.....

Podpis diplomanta

OBSAH

ÚVOD	7
I TEORETICKÁ ČÁST	8
1 VÝROBA JOGURTŮ	9
1.1 HISTORIE	9
1.2 BIOCHEMIE VÝROBY FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ	10
1.3 TECHNOLOGIE VÝROBY FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ	12
2 ČISTÉ MLÉKAŘSKÉ KULTURY	18
2.1 BAKTERIÁLNÍ KULTURY	19
2.2 EXOPOLYSACHARIDY	21
2.3 KONTAMINANTY	22
3 VADY FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ	23
4 HYDROKOLOIDY	27
II PRAKTICKÁ ČÁST	34
5 CÍL PRÁCE	35
6 METODIKA PRÁCE	36
6.1 PLÁN EXPERIMENTU	36
6.2 VÝROBA JOGURTŮ	36
6.3 STANOVENÍ AKTIVNÍ KYSELOSTI JOGURTU	37
6.4 KONCENTRACE KARAGENANŮ	37
6.5 STANOVENÍ VOLNÝCH AMINOKYSELIN	37
6.6 SDS-PAGE	38
6.7 SENZORICKÉ HODNOCENÍ	39
7 VÝSLEDKY A DISKUZE	40
7.1 OPTIMALIZACE SKLADBY MIKROORGANIZMŮ PRO LABORATORNÍ VÝROBU JOGURTŮ	40
7.2 OPTIMALIZACE KONCENTRACE IÓTA A KAPPA KARAGENANŮ	42
7.3 ZHODNOCENÍ Vlivu PŘIDANÝCH KARAGENANŮ NA OBSAH VOLNÝCH AMINOKYSELIN	44
7.4 ELEKTROFORETICKÁ ANALÝZA MODELOVÝCH VZORKŮ JOGURTŮ	62
7.5 SENZORICKÉ HODNOCENÍ	64
ZÁVĚR	69
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	70
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	75
SEZNAM OBRÁZKŮ	76
SEZNAM TABULEK	79
SEZNAM PŘÍLOH	80

ÚVOD

Fermentované mléčné výrobky mají svůj původ v četných lidových mléčných nápojích, rozšířených po celém světě. Tyto nápoje vznikaly kvašením mléka přirozenou cestou, tj. působením mikroflóry obsažené v syrovém mléce. Tato mikroflóra byla pro různé oblasti typická a dodávala v různých podmínkách při tradičním postupu přípravy lidovým mléčným nápojům charakteristický ráz. Skupinu fermentovaných mléčných výrobků tvoří široký sortiment výrobků, jejichž společným znakem je část technologie, při které je část laktózy zkvašována na kyselinu mléčnou a vlivem zvýšené kyselosti dochází k vysrážení bílkovin.

K nejrozšířenějším fermentovaným výrobkům patří jogurt. Vyrábí se s různým obsahem tuku a tukuprosté sušiny nebo také ochucený různými přísadami. Jogurty mají také příznivý vliv na lidský organismus. Při své relativně nízké energetické hodnotě je jogurt bohatým zdrojem plnohodnotných bílkovin, vápníku, fosforu a různých vitaminů skupiny B. Bakteriální kultury obsažené v jogurtu pozitivně ovlivňují složení střevní mikroflóry a dlouhodobě napomáhají snadnějšímu vstřebávání minerálních látek a některých vitaminů.

Cílem diplomové práce bylo vyrobit modelové vzorky jogurtů pomocí definovaných mikroorganismů za laboratorních podmínek a zkoumat vliv přídavku jóta a kappa karagenanů na obsah volných aminokyselin. Diplomová práce je rozdělena na dvě části. V první části je zpracována rešerše o historii a výrobě jogurtů, používaných čistých mlékařských kulturách a faktorech ovlivňující složení proteinů fermentovaných mléčných výrobků. Druhá část je praktická a zabývá se stanovením volných aminokyselin a senzorickým hodnocením fermentovaných mléčných výrobků.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 VÝROBA JOGURTŮ

Jogurt je dle vyhlášky 77/2003 Sb. kysaný mléčný výrobek získaný kysáním mléka, smetany, podmáslí nebo jejich směsi pomocí mikroorganismů. Mezi tyto mikroorganismy patří protosymbiotická směs *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (dále jen *S. thermophilus* a *L. bulgaricus*). Kromě základní jogurtové kultury mohou být přidávány i kmeny produkující kyselinu mléčnou a pomáhající dotvářet specifickou chuťovou nebo texturovou charakteristiku výrobku. Musí však být zachován optimální poměr obou základních kmenů jogurtové kultury [1].

1.1 Historie

Legenda říká, že jogurt a kefír vznikly zázrakem přírody v pohoří Kavkaz. Na jižní straně hory Elbrus se rozvíjely mikroorganismy preferující vyšší teploty, 40 °C až 45 °C, a umožnily vhodné prokysání nadojeného mléka v kožených vacích a hliněných nádobách, které používali tamní turečtí nomádi. Mléčná kultura se ve vhodném prostředí samovolně udržovala. Potravinu bylo možno uchovávat a konzumovat po delší dobu než čerstvé mléko, měla dobrou chuť, a tak se příprava rozšiřovala [2].

Původně se jogurt vyráběl z ovčího nebo buvolího mléka, které má vyšší sušinu než kravské mléko [3]. Produkce mléka na Středním Východě byla v minulých letech sezónní. Hlavním důvodem bylo původní kočovné obyvatelstvo, které často měnilo lokality. Dalším faktorem je subtropické klima Středního Východu, které často dosahovalo 40 °C. V takových podmínkách mléko zkysne a srazí se za krátkou dobu po samotném dojení, zvláště potom když dojení je prováděno v nestandardních podmínkách. Zvířata byla dojena ručně, žádné chlazení mléka nebylo dostupné a kontaminace mikroorganismy ať už ze vzduchu, ze zvířat, z krmiva či z rukou dojiče byla vysoká.

Postupně kočovné kmeny nechaly kvasit mléko účelně pod dohledem. Procesy které používaly byly např.:

- používání stále stejné nádoby, kde byla přítomna mikroflóra ke kvašení mléka,
- ohřívání mléka nad otevřeným ohněm, aby se mírně zahustilo a výsledná sraženina měla zvláštní mazlavost kvůli přeměněné struktuře kaseinu, která zlepší kvalitu výsledného produktu,

- slévání teplem upraveného a chladnějšího mléka (tělesná či pokojová teplota) s kysaným mlékem z předešlé dávky, což umožní bakteriím mléčného kvašení (BMK) vyšší produkci kyseliny mléčné,
- postupný výběr BMK,
- vyhubení patogenních mikroorganismů přítomných v mléce.

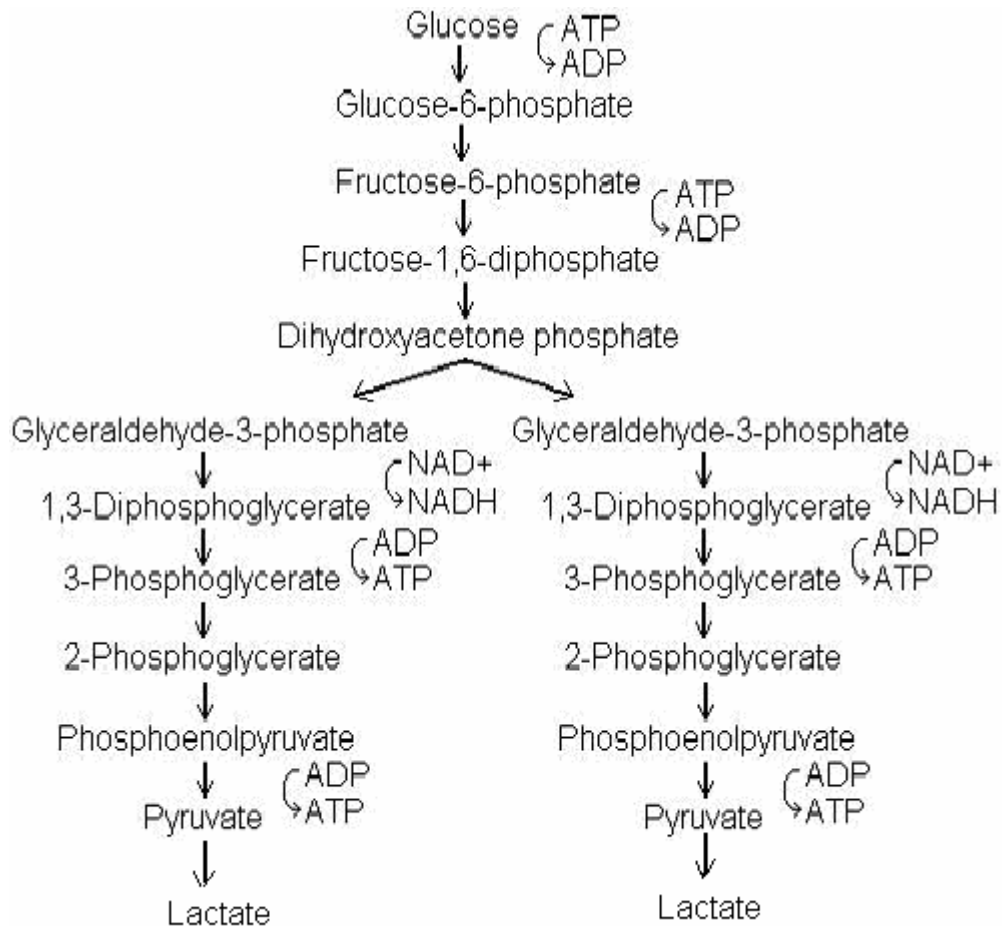
Přestože vývoj procesu výroby byl čistě intuitivní, produkce kysaného mléka se brzy stala pevně stanovenou předlohou pro konzervaci v podnicích po roce 1900. Postupně se tato metoda rozšířila i do ostatních zemí a dala vzniku výrobku označovaného jako jogurt, pocházející z tureckého „jogurt“ [4].

U nás se začaly v mlékárenské výrobě používat mlékařské kultury dánské provenience v posledních letech 19.století. V období mezi 1. a 2. světovou válkou se výrobou a rozmnožováním kultur zabývaly české zemědělské ústavy, mlékařské školy v Plzni a Kroměříži a v Laktologickém ústavu ČVÚT. Po roce 1948 byla soustředěna výroba tuzemských mlékařských kultur do speciálního provozu v Praze - Vokovicích v rámci mlékařského kombinátu Laktos, pod názvem Laktoflora. Zkušenosti se v evropských zemích šířily z Bulharska, kde se jogurt vyráběl nejen tradičně v domácnostech, ale např. v Sofii ve velkých výrobnách, a to zaočkováním předem svařeného mléka, temperovaného v pohárkových nádobkách [2].

1.2 Biochemie výroby fermentovaných mléčných výrobků

Základním biochemickým pochodem zajišťovaným čistými mlékařskými kulturami při výrobě kysaných mléčných výrobků je anaerobní proces přeměny sacharidů na mléčnou kyselinu, katalyzovaný celým komplexem enzymů. Při fermentaci laktózy se musí tento disacharid nejprve hydrolyzovat činností enzymu β -galaktosidázy (vytvořený bakteriemi mléčného kvašení) na glukózu a galaktózu. Galaktóza je pak izomerací přeměněna na glukózu nebo fruktózu. Molekula glukózy fosforylací a izomerací přechází na fruktóza-1,6-difosfát, která se vlivem aldolázy štěpí na fosfáty dvou trióz – glyceraldehyd-3-fosfát a dihydroxyaceton. Glyceraldehyd-3-fosfát se působením příslušné dehydrogenázy oxiduje a vzniká 1,3-difosfoglycerát. V důsledku defosforylace a enolizace se tvoří pyruvát (kyselina pyrohroznová), který se potom redukuje na laktát (kyselina mléčná). Vyprodukovaná mléčná kyselina vyvolá kyselé srážení mléka. V mléce je kasein přítomen

ve formě kaseinových micel, které jsou mléčnou kyselinou destabilizovány, a to vede k tvorbě mléčného koagulátu. Okamžik, příp. interval, při němž dochází ke srážení mléka, se nazývá izoelektrický bod kaseinu a leží pod pH 5,0 (4,6 - 4,8) [5,6].



Obrázek 1 Biochemie přeměny glukózy na kyselinu mléčnou [7]

Proteolýza

Proteolytický systém bakterií mléčného kvašení je významný enzymatickým štěpením bílkovin, jejíž produkty jsou důležité pro růst mikroorganismů, konzervaci a proces fermentace, který uděluje potravinám charakteristické reologické a organoleptické vlastnosti [8]. Proteolytické enzymy (proteinázy, peptidázy) katalyzující hydrolyzu peptidových vazeb v proteinech významně ovlivňují nutriční, sensorické, texturní a jiné vlastnosti. Množství a typ peptidových vazeb, které může peptidáza štěpit jsou závislé na

tom, ze kterých aminokyselin se protein skládá. Peptidázy dělíme do dvou hlavních skupin podle místa jejich účinku na endopeptidázy a exopeptidázy. Z hlediska struktury katalytického centra je dělíme na serinové, cysteinové, aspartátové, metalopeptidázy a zatím neklasifikované peptidázy [9].

Hlavní rysy proteolytického systému jsou:

- 1) proteinázy mají širokou specifitu a jsou schopné uvolňovat velké množství oligopeptidů, ze kterých se štěpením vytvoří zbytky se 4 – 8 aminokyselinami,
- 2) transportem oligopeptidů se do buňky dostává dusík,
- 3) většina peptidáz je lokalizována intracelulárně a způsobují kompletní degradaci peptidů na aminokyseliny [10].

Některé bakterie mléčného kvašení nemohou syntetizovat řadu esenciálních aminokyselin, proto proteolýza proteinů a peptidů ze substrátu je potřebná k jejich růstu [11]. BMK mají proteolytické enzymy, které se nacházejí v buněčné stěně, buněčné membráně a cytoplazmě [12]. Jogurtové kultury vykazují vyšší aktivitu proteolytických enzymů než kultury probiotické, díky tomu také rychleji v mléce rostou. *L. bulgaricus* produkuje proteinázu, která hydrolyzuje kasein na polypeptidy a ty jsou dále degradovány pomocí peptidázy *S. thermophilus* [13]. *L. bulgaricus* kromě produkce některých esenciálních aminokyselin [14], vykazuje vyšší proteolytickou aktivitu než *S. thermophilus* [11].

1.3 Technologie výroby fermentovaných mléčných výrobků

Výběr mléka

Mléko musí mít následující požadavky:

- ✓ Nízký celkový počet mikroorganismů
- ✓ Druhové zastoupení mikroorganismů – nízký počet psychrofilních mikroorganismů (možná produkce inhibičních látek)
- ✓ Dostatek živin, enzymů
- ✓ Nesmí obsahovat inhibiční látky (antibiotika, zbytky čisticích a dezinfekčních prostředků, atd.)

Standardizace tuku a tukuprosté sušiny

Množství celkové sušiny v syrovém mléce vzhledem k jeho objemu, určuje fyzikální vlastnosti výsledného jogurtu. Obsah sušiny syrového mléka se obvykle pohybuje od 9 do 20 % v závislosti na úpravě sušiny mléka [15]. Standardizace obsahu tuku zahrnuje úpravu obsahu tuku ve výrobku přidavkem smetany nebo odtučněného mléka tak, aby byl získán produkt o požadovaném obsahu tuku. Zvýšení obsahu tukuprosté sušiny, zvláště podílu kaseinu a bílkovin syrovátky, vede ke zvýšení pevnosti koagulátu a ke snížení oddělování syrovátky na povrchu [16].

Úprava obsahu tuku se provádí úplným nebo částečným odsmetaňováním plnotučného mléka, mísením mléka o různé tučnosti či přidavkem smetany. Kysané mléčné výrobky se vyrábí z mléka odtučněného, polotučného, plnotučného i vysokotučného. Zvyšování tučnosti zajišťuje hladkost a jemnost textury sraženiny [5].

Úprava sušiny se může provádět zahušťováním (odpařováním vody, ultrafiltrací, reverzní osmózou) různě tučných mlék, přidavkem sušeného mléka o různé tučnosti, podmáslí, sušené syrovátky nebo různě upravených produktů, kaseinátu, ale i přidavkem modifikovaného škrobu, případně jiných stabilizátorů. Stabilizátory zlepšují konzistenci výrobků, snižují vylučování syrovátky a slouží také k náhradě části mléčné sušiny a tím ke snížení nákladů na výrobu [12].

Deareace směsi

Obsah vzduchu v mléce používaném pro výrobu fermentovaných výrobků musí být co nejnižší, zvláště pokud je pro fermentaci použito anaerobních mikroorganismů (rod *Bifidobacterium*). Deareace zlepšuje průběh homogenizace, snižuje riziko napalování při tepelném ošetření mléka a zvyšuje viskozitu a odstraňuje nežádoucí těkavé látky.

Homogenizace směsi

Hlavním cílem homogenizace je zabránit vyvstávání mléčného tuku v průběhu inkubace v obalu a zajistit rovnoměrné rozdělení mléčného tuku ve výrobku. Homogenizace rovněž zlepšuje stabilitu a konzistenci výrobků. Mléko se homogenizuje obvykle při tlaku 20 - 25 MPa a teplotě 65 – 70 °C [16]. Při homogenizaci za vysokého tlaku dochází i k roztržení kaseinových micel. Vzniklé kaseinové submicely mají schopnost vázat na rozhraní micela – mléčné sérum tukové kuličky a dochází k výraznému zjemnění struktury kysaného výrobku [12].

Pro výrobu kysaných mléčných výrobků musí být homogenizováno veškeré mléko, a ne tedy jen smetana, protože účinek homogenizace se projevuje nejen u mléčného tuku, ale i u tukuprosté sušiny. Homogenizační účinek na mléčný tuk se projevuje v tom, že se tukové kuličky zmenšují na jednotnou velikost, a tak se zajistí jejich rovnoměrné rozdělení v mléce, případně ve finálním výrobku. Úhrnná povrchová plocha tukových kuliček se podstatně zvýší. Tím se zvětší stabilita koagulátu a odstraní nebo zmenší vyvstávání tuku na povrchu výrobku [5]. Velké tukové kuličky nehomogenizovaného mléka mohou snižovat pevnost gelu [15].

Tepelné ošetření mléka před zaočkováním zákysovou kulturou

Cílem tepelného ošetření mléka je nejen zničit nežádoucí mikroflóru, ale také zlepšit vlastnosti mléka pro výrobu kysaných mléčných výrobků. Vysokým tepelným záhřevem se mění struktura sérových bílkovin. V molekulách se mění prostorové uspořádání jednotlivých článků, přemísťují se vnitřní molekulové vazby a trhají se vodíkové můstky. Funkční skupiny v bílkovinných částicích se aktivně účastní chemických reakcí. To umožňuje vzájemnou interakci mezi molekulami v denaturovaných bílkovinách a schopnost těchto molekul k agregaci a k vytváření komplexů s jinými bílkovinami, zejména s kaseinem [5].

Tepelné ošetření směsi má za účel kromě devitalizace přítomné mikroflóry a inaktivace enzymů, denaturovat i sérové bílkoviny. Denaturované sérové bílkoviny se váží na kaseinové micely a tím zvyšují vazbu vody a snižují vylučování syrovátky fermentovaných výrobků, zvyšuje se také viskozita vytvořeného gelu [12]. Doba záhřevu je závislá na fyzikálních vlastnostech vyráběných jogurtových výrobků [15]. Optimálních výsledků je dosaženo při tepelném záhřevu při 90 – 95 °C a době výdrže asi 5 minut [5].

Chlazení na teplotu zakysání

Mléko po pasteraci je zchlazeno na teplotu inokulace, která je závislá na typu mikroflóry použité pro fermentaci.

Zakysání, fermentace a chlazení

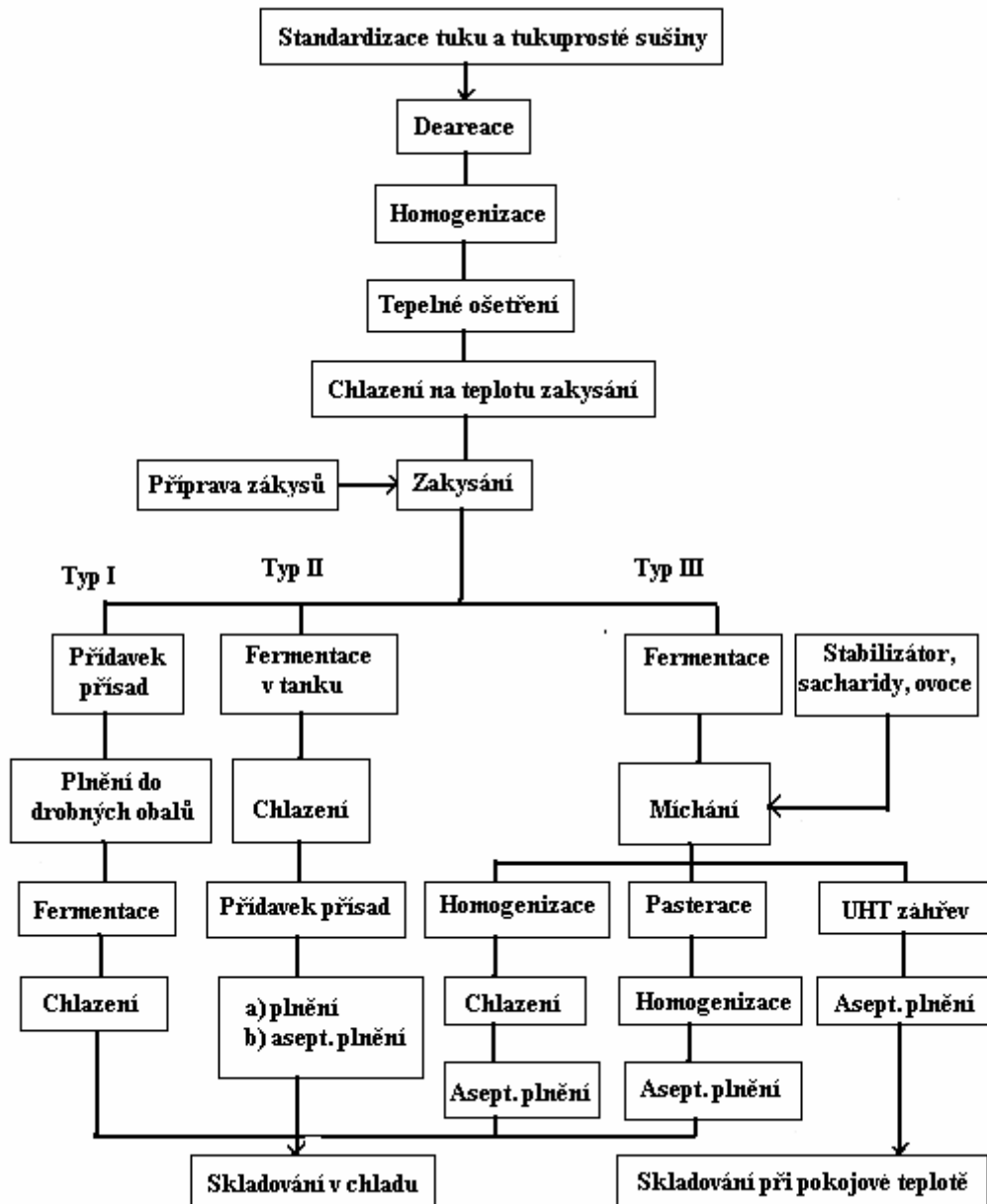
Zakysání se provádí podle typu použité zákysové kultury. Požadované množství bakteriální kultury se zaočkuje do kultivačního media [16]. Naočkované mléko se musí důkladně promíchat, aby se kultura dobře rozptýlila do celého obsahu mléka. Jinak hrubší kousky kultury vyvstávají na povrch mléka a způsobují místní překysání a nepravidelné

srážení koagulátu. Požadovaný průběh kysání má být zajištěn kulturami, které pozvolna zkvašují laktózu na mléčnou kyselinu. Při pomalém prokysávání se tvoří největší množství aromatických látek a příznivě jsou ovlivněny reologické vlastnosti koagulátu [5].

Fermentace a chlazení probíhají několika způsoby podle druhu výrobků.

- Set type yoghurts (Typ I, s nerozmíchaným koagulátem) – mléko zaočkované zákysovou kulturou se plní do spotřebitelských obalů, následuje fermentace při požadované teplotě a chlazení; přísady (ovocný podíl) se dávkuje na dno spotřebitelského obalu ještě před plněním
- Stirred type yoghurts (Typ II, s rozmíchaným koagulátem) – koagulát vzniká ve fermentačním tanku a struktura vzniklého gelu je rozrušena před nebo během procesu chlazení (ve fermentačním tanku) a balení
- Drink type (Typ III, vhodný k pití) – výrobek s nízkou viskozitou; fermentace probíhá ve fermentačním tanku; homogenizací výrobku je zcela rozrušena struktura vzniklého koagulátu [16]

Při výrobě kysaných mléčných výrobků je důležité vystihnout správný okamžik chlazení. Tento okamžik je třeba stanovit nikoli jednoduše podle kultivační doby, ale podle kyselosti koagulátu. Výchozí stupeň kyselosti pro volbu začátku chlazení závisí na různých činitelích, jako je např. druh vyráběných kysaných mléčných výrobků, požadovaný stupeň kyselosti finálního výrobku, požadované reologické vlastnosti apod. [5].



Obrázek 2 Schéma výroby fermentovaných mléčných výrobků [33]

Kromě bílých jogurtů lze vyrobit i jogurty ovocné přidavkem ovocné složky před plněním jogurtové směsi na dno kelímku nebo láhve, nebo po vychlazení vysráženého jogurtu na povrch, nebo se zamíchá přímo do směsi (sirup) a sráží se současně s jogurtem. Ovocné přísady by měly být velmi kvalitní, mít výraznou chuť, barvu i aroma, tak aby i ve směsi s jogurtovým krémem byly dostatečně výrazné. I když k ochucení jogurtů se nejčastěji používá přísad ovocných, je možno použít i přísady jiné. Vyrábějí se jogurty s přísadou čokolády, nugátu, medu, ořechů i dalších [17].

Probiotika

Fermentované mléčné výrobky s obsahem probiotických kultur působí pozitivně na organismus lidí a zvířat. Bakterie používané do těchto produktů náleží často mezi rody *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Při průmyslovém použití probiotických bakterií se používá koncentrovaných zmrazených nebo lyofilizovaných kyselinových kultur. Způsob jejich aplikace se může lišit od aplikace tradičních kultur. Používají se následující postupy:

1. Oddělená kultivace kyselin tradičních a probiotických kultur, které jsou následně smíchány v požadovaném poměru ve fermentačním tanku.
2. Oddělená fermentace mléka, při které je mléko fermentováno různými kyselinovými kulturami a vzniklé koaguláty jsou smíchány za vzniku výsledného produktu. Používá se při výrazně odlišných teplotách kultivace, např. u probiotické kultury a mezofilní kultury.
3. Zahájení fermentace probiotickou kulturou, následované přidáním rychle prokysávající kultury.
4. Fermentace mléka tradiční kulturou následovaná přidáním koncentrované kultury před balením.
5. Výroba sladkého probiotického mléka. Koncentrovaná probiotická kultura je přidána do pasterovaného mléka, při nízké teplotě, aby vůbec neproběhla fermentace a při této teplotě je výrobek uchováván až do doby konzumace [18].

Obvykle se pro výrobu probiotik používá postup 2.

2 ČISTÉ MLÉKAŘSKÉ KULTURY

Čisté mlékařské kultury (ČMK) jsou základem veškeré průmyslové výroby zakysaných mléčných výrobků, všech druhů přírodních sýrů, resp. kyselých tvarohů a másla ze zakysané a polozakysané smetany [21].

ČMK jsou směsí vybraných definovaných a živých mikroorganismů, které se používají jako inokulum s cílem zahájení procesu fermentace, která má zlepšit vzhled, chuť, vůni a trvanlivost produktu. Pojem „čisté mlékařské kultury“ je však nutno si vykládat pouze technicky. Nejde totiž o čisté kultury v pravém slova smyslu tohoto pojmu, ani o absolutní druhovou čistotu kultur, ale o jejich pojmové odlišení od dříve používaných přírodních kysěk neznámého mikrobiologického složení [20].

Hlavní funkce mikroorganismů obsažených v zákysových kulturách jsou:

- zajištění technologické zpracovatelnosti surovin na výrobky požadovaných parametrů,
- ochranná funkce – zajištění inhibice nežádoucích mikroorganismů,
- probiotická funkce – prospěšné působení na stav organismu příjemce včetně člověka,
- sensoricky významná funkce – tvorba kyseliny mléčné, vznik sensoricky významných složek (diacetyl, acetaldehyd, volné těkavé mastné kyseliny, atd.) [12].

Podle obsažených skupin mikroorganismů se zákysové kultury dělí na:

- Bakteriální (mezofilní – např. *Lactococcus*, *Leuconostoc*, termofilní – např. *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Bifidobacterium*)
- Kvasinkové (např. *Candida*, *Kluyveromyces*)
- Plísňové (např. *Penicillium* – spíše pro výrobu sýrů)
- Smíšené (obsahují obecně více předešlých skupin) [16]

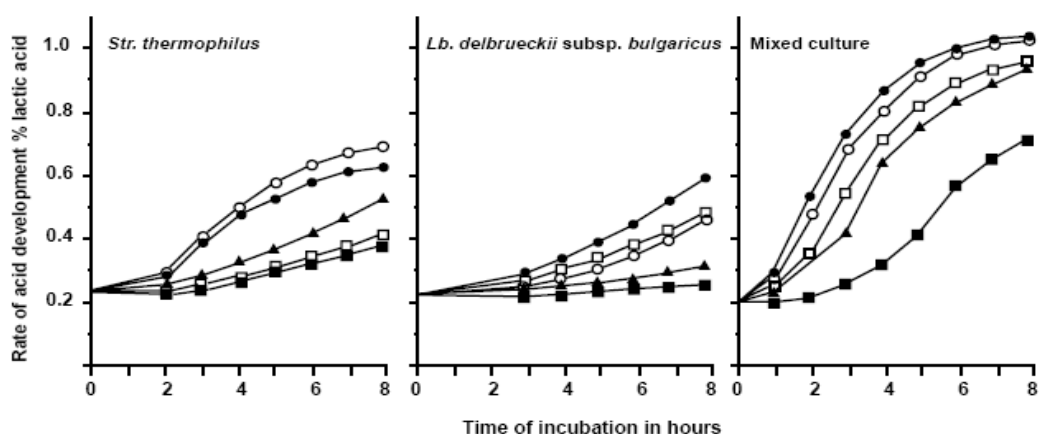
2.1 Bakteriální kultury

Bakterie mléčného kvašení (BMK) jsou klasifikovány společně podle tvorby stejného produktu metabolismu - kyseliny mléčné. BMK tolerují kyselost mléka kolem pH 4 po několik týdnů, jsou grampozitivní a anaerobní, mikroaerofilní, resp. fakultativně anaerobní.

Dělení BMK:

- Podle konečných produktů metabolismu:
 - homofermentativní (produkují kyselinu mléčnou z laktózy ze 70 – 90 %)
 - heterofermentativní (produkují kyselinu mléčnou z laktózy minimálně z 50 %, kromě toho vytváří další produkty, jako kyselina octová, oxid uhličitý a ethanol)
- Podle optimální teploty růstu:
 - mezofilní (optimální teplota růstu mezi 25 a 30 °C)
 - termofilní (preferují teploty 40 až 44 °C, rostou větší rychlostí než mezofilní bakterie) [12]

Jako jogurtové kultury se hlavně využívá směs *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (dříve *Lactobacillus bulgaricus*) společně se *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (dříve *Streptococcus thermophilus*) [16]. Použité kultury se při zrání symbioticky ovlivňují. *L. bulgaricus* částečně odbourává kasein, čímž uvolňuje zejména valin, histidin, metionin, kyselinu glutamovou a leucin. Z těchto štěpů pak zejména valin působí stimulačně na rozvoj *S. thermophilus*. Streptokoky pak produkují kyselinu mléčnou, která snižuje pH media na optimum pro růst *L. bulgaricus*. Zvyšováním kyselosti se pak omezuje rozvoj streptokoků. Produkce kyseliny mléčné začíná asi po 30 minutách inkubace, tj. po prvním dělení použité mikroflóry. Aromatické látky, zejména acetaldehyd, vznikají později [19]. Streptokoky také vytváří kyselinu mravenčí a její soli stimulující růst laktobacilů [22]. *Lactobacillus bulgaricus* se přestává množit při titrační kyselosti 80 – 120 °SH, *Streptococcus thermophilus* při 50 – 55 °SH.



Obrázek 3 Znáznornění kysací křivky jogurtových kultur při různých teplotách

■30°C, ▲35°C, ○40°C, ●45°C, □50°C [4]

Streptococcus salivarius subsp. thermophilus

Jsou to kulaté bakterie velikosti 0,7 – 0,9 μm . Z hlediska nároků na kyslík se řadí k fakultativně anaerobním mikroorganismům [23]. Jeho optimální teplota růstu je 40 – 45°C, při 10°C již neroste. Přežívá 30 minutový záhřev na 65°C. Při optimální teplotě sráží mléko za 12 až 20 hodin [24]. Laktózu zkvašuje homofermentativně na kyselinu mléčnou, a je proto důležitý při mléčném kysání při výrobě jogurtu. Fermentuje několik cukerných složek např. laktózu, sacharózu, glukózu a někdy galaktózu [25].

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus

Dříve se označoval jako *Lactobacillus bulgaricus* nebo *Lactobacterium bulgaricum*. Druhové jméno je odvozené od Bulharska, odkud výroba jogurtu pochází [23]. *Lactobacillus bulgaricus* je termofilní tyčinka ze skupiny bakterií mléčného kvašení. Při teplotě kolem 40°C sráží mléko již i za 2,5 až 4,5 hodiny. V tekutém prostředí tvoří tyčinky dlouhé 4 – 10 μm a široké 0,5 – 1,5 μm . Roste obvykle v rozmezí teplot od 22 do 52,5°C. Optimální teplota tohoto laktobacilu bývá kolem 40°C, u různých kmenů v mezích od 37 do 45°C. V mléce tvoří kyselinu mléčnou, nepatrné množství kyseliny octové, mravenčí a jantarové [24]. Patří mezi homofermentativní mikroorganismy. Zkvašuje např. glukózu, laktózu, fruktózu a někdy galaktózu nebo manózu [25].



Obrázek 4 Dlouhé řetězce koků (*S. thermophilus*), tyčinky (*L. bulgaricus*) [25]

***Bifidobacterium* subsp.**

Rod zahrnuje grampozitivní chemoorganotrofní obligátně anaerobní bakterie s fermentativním metabolismem. Jsou nepohyblivé a mají tyčinkovitý tvar. Mohou se větvit nebo seskupovat do písmen tvaru V nebo Y. Jsou heterofermentativní, ale tvoří pouze kyselinu octovou a kyselinu mléčnou v poměru 3:2. Vhodné kmeny bifidobakterií se užívají v mlékárenství v kombinaci s dalšími bakteriemi mléčného kvašení obvykle v poměru 1:9 i méně. Také tvoří přirozenou komponentu střevní mikroflóry savců včetně člověka a pomocí vytvořených metabolitů se ve značné míře podílejí na potlačování nežádoucí mikroflóry v jejich trávicím ústrojí [23].

2.2 Exopolysacharidy

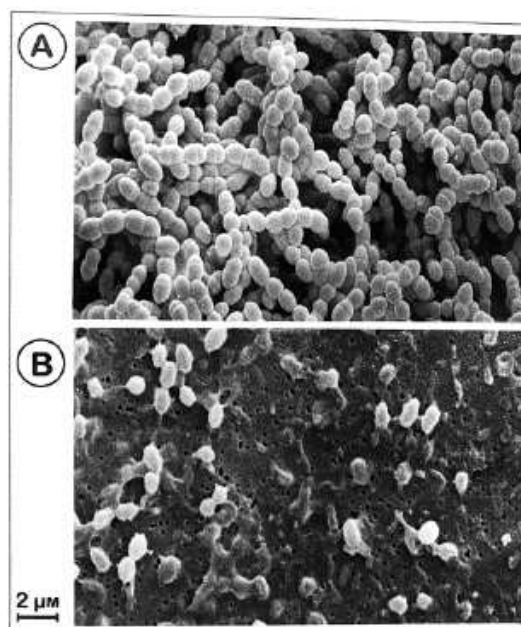
V mléce se mohou vyskytovat i „slizotvorné“ bakterie, které vytváří sliz na povrchu výrobků. Sliz je tvořen spíše glykoproteinem než polysacharidem. Limitovaná produkce těchto polysacharidů jogurtovými kulturami může zlepšovat konzistenci a viskozitu jogurtu, proto není zapotřebí přidavek stabilizátorů. Polysacharidy izolované z jogurtových kultur jsou složeny z arabinózy, manózy, glukózy a galaktózy [26]. Bakteriální exopolysacharidy (EPS) mohou být buď homopolymery, které se skládají z jednotlivých sacharidů nebo heteropolymery, ty jsou složeny ze dvou až čtyř různých druhů monosacharidů [27]. EPS poskytují buňkám ochranu proti napadení fágy, vyschnutí a vůči

osmotickému stresu [28]. Některé EPS se používají v potravinářském průmyslu jako gelující činidla, jsou také hlavní příčinou táhlovitosti zakysaných mléčných výrobků [29].

2.3 Kontaminanty

Startovací kultury mohou být kontaminovány různými druhy bakterií, kvasinek nebo plísní, popř. bakteriofágy. Tomu se dá zabránit dodržováním správné hygieny při výrobním procesu nebo přidáním kultur minimalizující možnost kontaminace [25].

Jednou z častých příčin zhoršeného prokysávání nebo selhávání čistých mlékařských kultur jak při výrobě kysaných mléčných výrobků, je jejich kontaminace bakteriofágy. K napadení fágy jsou citlivější mezofilní bakterie než termofilní druhy. Fágem napadená kultura se projevuje především oslabením a zpomalením fermentace. Princip prevence proti fágům a jejich množení je přerušení možnosti rekontaminace čerstvě pasterovaného mléka fágy ze vzduchu, reziduí syrovátky, povrchů, potrubí nebo lidského kontaktu, poněvadž bakteriofágy jsou roznášeny vzduchem a mohou se rozšiřovat vodou nebo aerosoly. K celkové inaktivaci z mléka je nutno mléko na zákysy pasterovat nejméně při 90°C (i vyšší teplotě) po dobu 30 minut [12].



Obrázek 5 Znázornění zdravé kultury *S. thermophilus* (A) a kultury napadené virulentním bakteriofágem (B) [4]

3 VADY FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

Finální jakost kysaných mléčných výrobků, která je v podstatě určena chutí, vůní, reologickými vlastnostmi, minimálním uvolňováním syrovátky a dostatečnou trvanlivostí, je ovlivňována řadou faktorů:

- Kvalita surového mléka, jeho standardizace, druhy i kmeny použitých kultur
- Technologický postup výroby (ošetření mléka, kultivační podmínky, chlazení, jakost použitých přísad) [5]

Fermentace způsobená bakteriemi netvořícími kyselinu mléčnou dává vznik produktu, který je bez chuti a se žluklým zápachem, koagulát je nepravidelný, plný bublin a vykazuje extrémní odtok syrovátky. Bakterie tvořící kyselinu mléčnou, vytváří fermentovaný produkt, který je vhodný k jídlu či pití; tento produkt byl obvykle označován jako kysané mléko [4].

Organoleptické vady fermentovaných mléčných výrobků můžeme rozdělit na vady vzhledu, vady chuti a vůně, vady reologických vlastností, vady působené plísněmi a vady ovocných jogurtů. K vadám vzhledu patří:

- oddělování syrovátky - překysáním, nešetrným mechanickým zpracováním, nízkým obsahem sušiny a přimísením vzduchu do míchaného jogurtu,
- tvorba plynových bublinek - způsobena nedostatečnou přilnavostí sraženiny ke stěnám obalu a uvolňováním plynu vlivem povrchového napětí; kontaminací koliformními bakteriemi a kvasinkami nebo nevhodně použitou kulturou s intenzivní produkcí CO₂,
- křísovitý povlak na povrchu jogurtů - při dlouhodobém nevhodném skladování způsoben kvasinkami, plísněmi a mikrokoky,
- nečistý vzhled - způsoben částicemi usazených nečistot, vysycháním, krystalická struktura na povrchu vzniká při zmrznutí,
- barevné vady - za použití nevhodných barevných přísad, působí např. nevýrazně nebo působí nevzhledné splývání barevných složek, které mají být odděleny, např. prolínání barvy z džemů v jogurtech,
- tuková vrstva na povrchu - nedostatečná homogenizace mléčné směsi [5,19].

Vady chuti a vůně jsou většinou způsobovány špatným technologickým postupem nebo přítomností nežádoucích mikroorganismů. Mezi tyto vady patří:

- prázdná, málo kyselá chuť - způsobena jednostranným růstem streptokoků, příliš krátkou dobou zrání, nebo příliš nízkou zračí teplotou, sníženou sušinou či nadměrnou tvorbou látek slizovité povahy; v extrémním případě dochází ke koagulaci sladkého mléka, jestliže je plně inhibována jogurtová kultura a rozmnoží-li se kontaminující mikroorganismy, zvláště sporulující, které produkují proteázy s koagulační aktivitou,
- kyselá chuť (překysání) - vzniká použitím vysoké očkovací dávky, vysoké teploty zrání, dlouhé doby zrání, pozdním nebo příliš pomalým chlazením jogurtů, popřípadě skladováním při vyšších teplotách a dodatečným kysáním nebo velkou převahou laktobacilů v jogurtové kultuře,
- vařivá chuť nebo příchut' po připáleném mléce - způsobena vysokou a dlouhodobou pasterací na nevhodném pasteračním zařízení nebo pasterací nedostatečně rozmíchané mléčné směsi zahuštěné sušeným mlékem,
- kovová chuť – u překysaného jogurtu připravovaného z mléka s nedostatečným množstvím redukčních látek,
- kvasnicová a ovocná chuť - způsobena kontaminací divokými kvasinkami,
- nečistá a cizí chuť – při použití mléka o vyšší kyselosti nebo kde se uplatnila kontaminující mikroflóra, zvláště koliformní bakterie,
- zatuchlá a nahořklá chuť - způsobena buď kontaminací nežádoucími mikroorganismy, nebo mlékem od dojnic krmených závadným, především zkvašeným krmivem; hořká chuť u dlouho skladovaných výrobků vlivem vysoké proteolytické aktivity kultur nebo proteolytických kontaminantů,
- krmivová chuť - přechází z nevhodně vybraného mléka,
- moučná až klišovitá chuť - způsobena nadměrným přídatkem sušeného mléka,
- žluklá chuť - vzniká rozkladem tuku kontaminujícími mikroorganismy při nedostatečném tepelném ošetření mléka.
- sýrová chuť - vzniká přítomnými kontaminujícími proteolytickými mikroorganismy,

- oxidační příchut' - působením světla, případně přítomností kovových katalyzátorů [5,19].

Vady reologických vlastností jsou většinou způsobovány špatnou jakostí mléka, nevhodným tepelným ošetřením, kontaminujícími mikroflórou, apod. Mezi tyto vady patří např.:

- řídká a tekutá konzistence - způsobena nevhodným mlékem, špatnou jakostí namnožených kultur nebo použitím mléka s nedostatkem některých volných aminokyselin,
- hrubá a vločkovitá konzistence - vzniká pomalým srážením jogurtu,
- písčitá konzistence - vzniká prudkým ohřevem mléka, homogenizací mléka při příliš vysoké teplotě ve vztahu k tlaku, vysokým odpařením mléka nebo nadměrným přídavkem sušeného mléka, nerovnoměrným nebo předčasným mícháním a mechanickým zpracováním koagulátu při teplotách nad 38 °C,
- kašovitá a mazlavá konzistence - způsobena nízkým a dlouhodobým tepelným ošetřením mléčné směsi; kulturami i kontaminující mikroflórou, vytvářející nevhodné látky slizovitého charakteru.

U kysaných výrobků působí rozklad kvasinky, méně často plísně. Účinným opatřením vůči těmto kontaminantům je kromě hygieny výroby, dodržení chladírenských opatření (dáno vyhláškou), které oddálí viditelný růst plísní na povrchu asi o 2 týdny. Vady způsobené plísněmi působí např. zástupci čeledi *Aspergillus*, *Penicillium* a *Mucoraceae*, jejichž spóry se rychle šíří. Mnohé druhy mukorů se vyznačují silnou proteolytickou a lipolytickou aktivitou, která vede k různě intenzivním pachům a pachutím, a to i tehdy, když mycelium není ještě okem zjistitelné nebo lze postřehnout na povrchu výrobku pouze tužší vrstvu.

Kromě obecných vad fermentovaných mléčných výrobků bývají hodnoceny i vady ovocných jogurtů:

- atypická barva - způsobena nevhodně zbarvenou ovocnou přísadou nebo umělým barvivem,
- nevýrazná barva - při použití nevýrazně zbarvené ovocné přísady, případně ohřevem nebo odbarvením v kyselém prostředí,

- nehomogenní vzhled – vznik nedostatečným promícháním přísad v koagulátu,
- umělá (bonbónová) příchuť - způsobena použitím příliš vysokých dávek méně vhodných aromatických a ochucovacích látek,
- příliš sladká chuť - způsobena nadměrným přidáním cukru [5,19].

4 HYDROKOLOIDY

Hydrokoloidy jsou typu polysacharidů, které mají funkci zahušťovat nebo stabilizovat vodné systémy, tj. modifikují a regulují reologické vlastnosti vodných systémů. Mezi hydrokoloidy se řadí i bílkoviny živočišného původu, jako jsou například různé druhy jedlé vepřové nebo hovězí želatiny.

Hydrokoloidy jsou typem přídatných látek, které lze používat při výrobě potravin jen tehdy, je-li to nezbytné z technologických důvodů, pro zlepšení konzistence nebo textury výrobků a jejich trvanlivosti, resp. pro zlepšení užité hodnoty výrobků. Přídatné látky (aditiva) se značí písmenem E a číselným kódem, a toto označení je mezinárodně platné. Stejně kódy platí v jednotlivých zemích světa. Přítomnost přídatných látek musí být uvedena na obalu [30]. Hydrokoloidy jsou v podstatě látky vážící vodu za vzniku gelovité struktury. Gel je koloidní systém, ve kterém porézní síť vzájemně spojených nanočástic zachytí určitý objem tekutiny. Z obecného pohledu gely vypadají jako pevné látky rosolovitého charakteru. Hmotností a objemem se gely podobají kapalinám a tím též vykazují hustotu podobnou kapalinám, i když mají soudržnost struktury pevných látek. Příkladem běžného gelu je želatina [31]. Mezi nejpoužívanější hydrokoloidy v potravinářství patří karagenany.

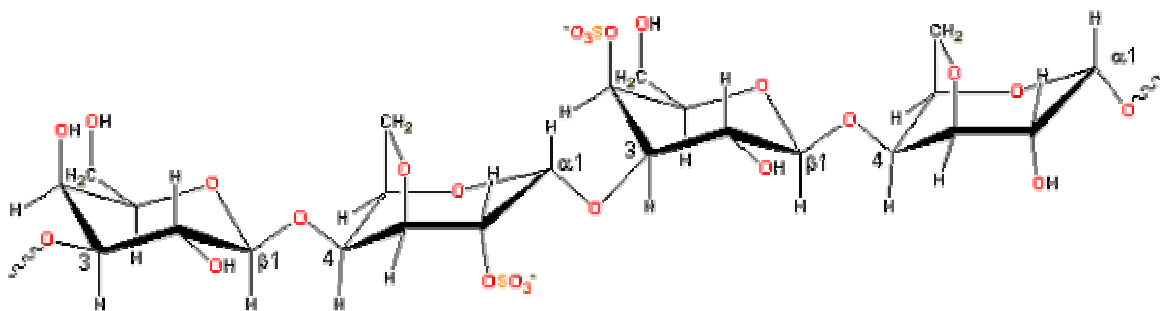
Karagenany

Karagenany (též karrageenany) jsou extrakty z červených mořských řas (*Rhodophyceae*), zejména rodů *Euchema*, *Chondrus* a *Gigantina* [32]. Karagenany jsou lineární polysacharidy s vysokou molekulární hmotností. Vyskytují se v několika typech, které přinášejí rozličné vlastnosti v želírování, zahušťování, což je způsobeno počtem a uspořádáním sulfátových skupin na opakujících se galaktózových jednotkách.

Struktura

Základní strukturální jednotkou karagenanů je opakující se sekvence β -D-galaktopyranosy a 3,6-anhydro- α -D-galaktopyranosy, tedy disacharid, který se nazývá karabióza. Je známo minimálně 8 druhů sekvencí karagenanů, které se označují malými písmeny řecké abecedy. V potravinářství je věnována pozornost pouze třem převládajícím druhům: kappa, ióta a lamda (κ -, ι - a λ -). Průměrná relativní molekulová hmotnost všech velmi polydisperzních polymerů se pohybuje od 100 do 1000 kDa. Molekuly κ -karagenanu

a ι -karagenanu tvoří dvojité šroubovice, molekuly λ -karagenanu se vyskytují v cik-cak konformaci, což je dáno polohou a počtem sulfátových skupin [33].



Obrázek 6 Obecná strukturní jednotka karagenanu [34]

Rozdělení karagenanů je odůvodněné polohou na stavebním kameni 3,6-anhydrogalaktózy a v počtu a postavení sulfátových skupin. Sulfátové skupiny mají největší vliv na vlastnosti těchto hydrokoloidů [35].

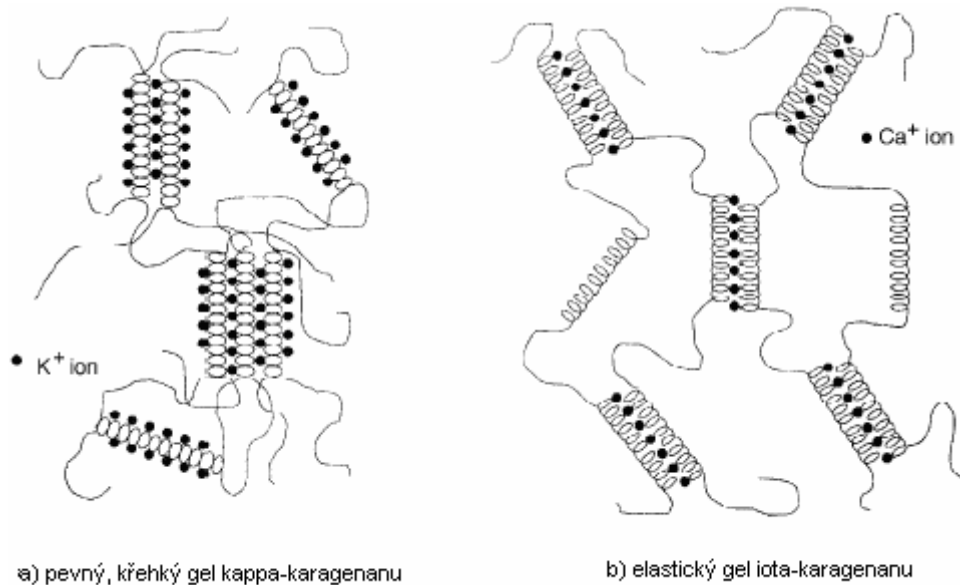
Vlastnosti

Karagenany jsou hydrofilní anionaktivní koloidy. Rozpustnost ve vodě závisí na druhu karagenanu, přítomných iontech, teplotě a pH prostředí. Karagenany jsou stabilní v prostředí o pH 5-10. V kyselém prostředí ($\text{pH} < 4$) viskozita disperzí klesá [33]. Je to následkem autohydrolyzy, která nastane při nízkém pH a dojde k rozštěpení vazby 3,6-anhydrogalaktosy v molekule karagenanu [36].

Kappa a jóta karagenan se mohou ve vodném prostředí v závislosti na teplotě vyskytovat ve dvou stavech, a to v uspořádané helikální struktuře (šroubovici) a v neuspořádaném stavu. Teplota přechodu z helikální struktury do neuspořádaného stavu se ve vodném prostředí pohybuje obvykle v intervalu 35 – 55 °C a je závislá na řadě parametrů, především však na typu karagenanu, výskytu a koncentraci iontů [37, 38]. Tvorba helixů podmiňuje u karagenanů jejich schopnost vytvářet gely. Vlastní tvorba gelu tedy probíhá ve dvou fázích. V první fázi vzniknou šroubovice, které následně ve druhé fázi agregují a vytváří trojrozměrnou síť. Jejich účinek je jasně zřetelný u solících směsí. Je možné i vzájemné propojení s fosfátovými přísadami, které má za následek nárůst

hmotnosti od 100 do 200 %. Dnes se převážně používají polorafinované karageanové přípravky [35].

Vlastnosti karagenanů se mění v přítomnosti kationtů v potravíně, které neutralizují záporně nabitě sulfátové skupiny karagenanů. Např. κ -karagenan ovlivňují draselné inoty, které zvyšují stabilitu a křehkost gelu, ι -karagenan ovlivňují vápenaté ionty, které dávají typický měkký elastický gel [36].



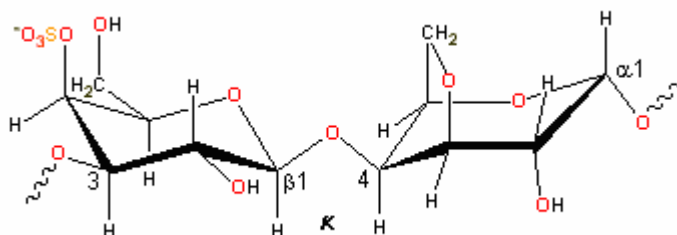
Obrázek 7 Gelace kappa a iota karagenanů v přítomnosti kationtů [36]

Karagenany si našly své rozsáhlé použití v masném průmyslu díky svým vlastnostem - vázat vodu, želírovat a modifikovat viskozitu. Poskytují nám především:

- stabilizaci nízkotučných emulzí
- dobrou vaznost vody
- vylepšení organoleptických vlastností
- zvýšení výtěžnosti
- dobrou tvorbu disperze

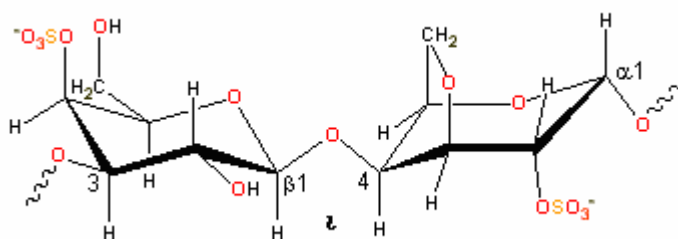
Pro vylepšení požadovaných vlastností u konkrétních aplikací jsou někdy karagenany nebo guma Euchema doplňovány o některé další hydrokoloidy jako např. želatinu, škroby, karubin nebo xanthan.

Kappa karagenan obsahuje v molekule karabiózy jednu sulfátovou skupinu [33]. Mezi jeho vlastnosti patří rozpustnost v horké vodě, nerozpustnost v mnoha organických rozpouštědlech. Přídavkem draselných iontů vzniká odolný a křehký gel, přídavkem sacharidů vzniká z mírně matného, čirý gel. Obvykle se používá koncentrace v rozmezí 0,02 – 2,0 % [39]. Gelace kappa karagenanu se zvyšuje přítomností draselných iontů, díky kterým se gel začíná tvořit již při velmi nízké koncentraci [40].



Obrázek 8 Struktura kappa karagenanu [34]

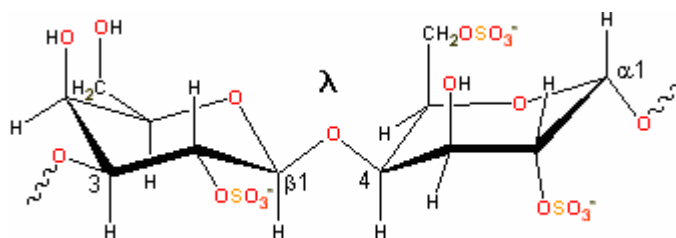
Iota karagenan obsahuje ve své molekule 2 sulfátové skupiny [33], je rozpustný v horké vodě, v přítomnosti sodných iontů je rozpustný i ve studené vodě. Přídavkem vápenatých iontů vzniká odolný a elastický gel, zvyšuje se také teplota gelace a tání. Obvyklá koncentrace použití je v rozmezí 0,2 – 2,0 % [39].



Obrázek 9 Struktura iota karagenanu [34]

Lambda karagenan obsahuje ve své molekule celkem tři sulfátové skupiny. V základní struktuře je 3,6-anhydro- α -D-galaktopyranóza nahrazena α -D-galaktopyranózou [33]. Vytváří volně tekoucí negelující pseudoplastický roztok. Je částečně rozpustný ve studené vodě, zcela rozpustný v horké vodě, nerozpustný v mnoha organických

rozpouštědlech a rozpustný v 5% roztoku NaCl. Obvyklá koncentrace použití je v rozmezí 0,1 – 1,0 % [39].



Obrázek 10 Struktura lambda karagenanu [34]

Významnou vlastností karagenanu v potravinářství je jeho schopnost tvořit komplex nebo reagovat s proteiny, což jej odlišuje od ostatních hydrokoloidů [39]. Reakce karagenanů a kaseinových micel jsou připisovány především elektrostatickým interakcím mezi negativně nabitými sulfátovými skupinami karagenanů a kladně nabitou oblastí mezi 97. a 112. aminokyselinou κ -kaseinu, který se nachází na povrchu kaseinové micely [41]. V systému mléčných bílkovin, ve vnější vrstvě kaseinových micel je koncentrace kladného náboje. Tento pozitivně nabitý náboj přitahuje negativně nabité sulfátové skupiny molekuly karagenanu za vzniku vazby mezi rozptýlenými (disperzními) kaseinovými micelami [39]. Vlastní interakce mezi karagenany a micelárním κ -kaseinem však závisí také na skutečnosti, zda je teplota systému pod teplotou přechodu z helikální struktury do neuspořádaného stavu nebo nad ní. K adsorpci κ -karagenanu i ι -karagenanu na micelární κ -kasein totiž dochází pouze při teplotách nižších než je teplota přechodu, tj. při teplotách, kdy se κ -karagenan i ι -karagenan nacházejí v helikálním uspořádání [42].

Tabulka 1 Rozpustnost karagenanů [43]

Médium	Kappa	Ióta	Lambda
Horká voda	Rozpustný nad 60°C	Rozpustný nad 60°C	Rozpustný
Studená voda	Sodná sůl-rozpustný, draselná a vápenatá sůl-nerozpustný	Sodná sůl-rozpustný, vápenatá sůl dává tixotropní disperzi	Rozpustný
Horké mléko	Rozpustný	Rozpustný	Rozpustný
Studené mléko	Sodná, vápenatá a draselná sůl- nerozpustný	Nerozpustný	Rozpustný
Koncentrovaný cukerný roztok	Rozpustný za tepla	Málo rozpustný	Rozpustný za tepla
Koncentrovaný solný roztok	Nerozpustný	Rozpustný za tepla	Rozpustný za tepla

Použití

Velmi nízká koncentrace karagenanů je dostatečná k zamezení uvolňování syrovátky z řady mléčných výrobků (zmrzlina a mléčné koktejly, mléčné dezerty a smetanové sýry) během výroby i skladování [36]. Komerční karagenan je směsí všech tří karagenanů. Většinou převládá κ -karagenan (želírující) nad λ -karagenanem (neželírujícím) v poměru asi 3:2. Používá se jako zahušťovadlo, stabilizátor a emulgátor při výrobě mléčných desertů, mléčných nápojů, zmrzlin a při výrobě masových konzerv [33].

Karagenany se často používají ke stabilizaci mléčných výrobků v koncentraci 0,03 % pro κ -karagenan a 0,05 % pro ι -karagenan. V mléku nacházíme značné rozdíly v chování κ - a ι - karagenanu. Přítomnost kaseinových micel neovlivňuje teplotu gelace κ -karagenanu, zatímco teplota gelace ι - karagenanu vzrůstá v přítomnosti micelárního kaseinu [44]. Použití karagenanů do fermentovaných mléčných výrobků je omezené z důvodu nízkého pH finálního výrobku. Při příliš nízkém pH existuje nebezpečí, že dojde

k rozsáhlým elektrostatickým interakcím, které by mohly mít za následek destabilizaci systému [36, 44].

Působí jako zahušťující a želírující látky, jako stabilizátor a emulgátor. Karagenan má široké uplatnění a to jak v mléčných výrobcích, tak dále v sladkém pečivu, želé, cukrářských výrobcích, šlehače ve sprayi, některých jogurtech, práškových nápojích a také v dětské výživě a mnoha dalších. Jedná se o častou užívanou přídatnou látku. Vlastností karagenanu také využívají kosmetický a farmaceutický průmysl např. pro tělové a čistící krémy, deodoranty apod. U některých citlivých osob může karagenan obsažený v kosmetických přípravcích způsobit dermatologické problémy nebo špatnou snášenlivost výrobku. V ČR je používání karagenanu povoleno v nezbytném množství ke všem potravinám [45].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo popsat vliv ióta a kappa karagenanů na obsah volných aminokyselin a na senzorické vlastnosti modelových vzorků jogurtů.

Aby bylo dosaženo cíle této práce, byly nutné naplnit tyto dílčí cíle:

- zpracovat literární rešerši o historii a technologii výroby jogurtů a o mikroorganizmech používaných pro výrobu fermentovaných mléčných výrobků,
- popsat strukturu a vlastnosti karagenanů a jejich vliv na fermentované mléčné výrobky,
- vyrobit modelové vzorky jogurtů s obsahem obou karagenanů a stanovit volné aminokyseliny,
- provést senzorické hodnocení modelových vzorků jogurtů.

6 METODIKA PRÁCE

6.1 Plán experimentu

Jednotlivé kroky v diplomové práci můžeme zahrnout do několika fází. V první fázi byly vybrány modelové mikroorganismy a použity pro výrobu jogurtů za laboratorních podmínek. Ve druhé fázi byly použity ióta a kappa karagenany a bylo hledáno jejich optimální množství pro použití do fermentovaných mléčných výrobků. Karagenany byly přidávány v různých koncentracích 0,15 %, 0,077 %, 0,038 %, 0,019 % a 0,0096 %. Modelové vzorky jogurtů byly fermentovány při teplotách 37 a 42 °C. Ve druhé fázi byl zkoumán vliv karagenanů na skladbu volných aminokyselin a na senzorycké vlastnosti modelových vzorků jogurtů. Hodnocení bylo provedeno vždy vzhledem ke vzorkům bez karagenanů (kontroly) a byly srovnávány rozdíly.

6.2 Výroba jogurtů

Nejprve bylo provedeno oživení kultur. Lyofilizovaná nebo mražená kultura byla převedena do 50 ml sterilního mléka a vložena do termostatu na 37 °C na 48 hodin. Z takto oživené kultury bylo odebráno 5 ml do 100 ml sterilního nízkotučného mléka a vzorky byly vloženy do termostatu na 37°C a 42 °C na 24 hodin. Takto připravená směs mikroorganismů byla následně použita pro výrobu jogurtů.

Pro výrobu jogurtů bylo nutné připravit mléčnou směs (příloha PI), do které byly očkované mikroorganismy. Bylo použito 5 kmenů *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (A – E) z České sbírky mlékárenských mikroorganismů, ze kterých se následně vybral jeden v závislosti na rychlosti snížení pH. Kmen *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* byl vybrán na základě předešlých studií. Mléčná směs byla pasterována ve sterilní láhvi na 92 °C po dobu 5 min. Poté bylo mléko rozděleno do menších sterilních lahviček po 100ml a následně zchlazeno na fermentační teplotu (37 nebo 42 °C). Mléko bylo zaočkováno připravenou kulturou 5 ml *S. thermophilus* + 5 ml *L. bulgaricus* (příslušný kmen), a dáno do termostatu na příslušnou teplotu. Ukončení fermentace bylo stanoveno měřením pH (konec fermentace při pH 4,6). Poté byly jogurty zchlazeny a skladovány při teplotě 4 °C [46,47,48].

6.3 Stanovení aktivní kyselosti jogurtu

Aktivní kyselost je dána koncentrací oxoniových iontů v měřeném vzorku (jogurt). Vyjadřuje se v hodnotách pH. Hodnoty pH byly měřeny přímo vpichovým pH-metrem (typ: GRYF 208 L).

6.4 Koncentrace karagenanů

V diplomové práci byl sledován vliv hydrokoloidů, konkrétně íóta a kapa karagenanů, na senzorní vlastnosti a proteinový profil jogurtů. Karagenany byly přidávány za stálého míchání do připravené mléčné směsi před pasterací v různých koncentracích 0,15 %, 0,077 %, 0,038 %, 0,019 % a 0,0096 %. Další postup byl stejný jako při výrobě jogurtů. Jednotlivé vzorky pak byly označeny písmenem (K, J – s kapa, íóta karagenanem, B – bez obsahu karagenanu) a číslem udávajícím teplotu fermentace (37, 42).



Obrázek 11 Přídavek karagenanů po částech a za stálého míchání [39]

6.5 Stanovení volných aminokyselin

Pro stanovení volných aminokyselin byla použita následující metodika. Do polypropylenové uzavíratelné zkumavky o objemu 15 ml bylo z vyrobených jogurtů odváženo asi 3 g vzorku na analytických vahách. Dále bylo přidáno 3 ml dávkovacího litního pufru. Vzorky byly protřepány 30 minut na třepačce a následně centrifugovány na

odstředivce 4 500 otáček/ min. po dobu 15 minut. Tím došlo k oddělení nečistot, usazenin a extraktu. Odstředěné vzorky byly slity do eppendorfek a ponechány v lednici při teplotě 5 ± 1 °C do druhého dne. Poté byly vzorky odstředěny na odstředivce 10 000 otáček/ min. po dobu 45 minut, zfiltrvány přes filtry s pórovitostí 0,45 μm a vloženy do analyzátoru aminokyselin s litno-citrátovými elučními pufrů a nynhidrinovou detekcí (Amino Acid Analyzer AAA 400, Ingos, Praha, Česká Republika). Chromatografická kolona je naplněna pryskyřicí s negativním nábojem a aminokyseliny (AMK) jsou na kolonu zaváděny při nízkém pH, kdy jsou všechny kladně nabity. AMK čekají na počátku kolony na změnu podmínek a při zvýšení pH, zvýšené teplotě nebo vyšší iontové síle elučního roztoku dochází k dosažení izoelektrického bodu aminokyseliny a ta je posléze eluována z kolony. Podmínky jsou upraveny tak, že izoelektrické body, pro všechny AMK, se dosahují v různých časech [49].



Obrázek 12 Analyzátor aminokyselin AAA 400 [50]

6.6 SDS-PAGE

SDS-PAGE (sodium dodecylsulfát polyakrylamidová gelová elektroforéza) je separační metoda ke stanovení proteinů na základě odlišné molekulové hmotnosti, při které se uplatňuje elektrické pole [51]. Pro stanovení bylo nutno nejprve vzorky připravit (příloha PII). Pro separaci bylo nutné připravit 15 % separační a 5 % koncentrační gel. Složení a příprava gelů je uvedena v příloze PII. Vzorky (15 μl) byly nanášeny pomocí

automatické pipety. Kromě vzorků proteinů byly nanášeny i standardy molekulové hmotnosti (Serva, BioLabs). Po nanesení vzorků byla elektroforetická komora připojena ke zdroji stejnosměrného proudu 95 mA. Po doputování čela elektroforézy ke spodní hranici separačního gelu byl dělicí proces ukončen. Následně byly gely fixovány, barveny a odbarvovány příslušnými roztoky, jejichž složení je uvedeno v příloze P III [52].

6.7 Senzorické hodnocení

Senzorické hodnocení bylo prováděno v senzorické laboratoři, která je zřízena podle normy ČSN ISO 8589 [53].

Senzorické hodnocení bylo provedeno nejprve 3 posuzovateli, kteří hodnotili následující charakteristiky: konzistence, chuť a vůně, přítomnost cizích příchutí a pachutí, uvolňování syrovátky. Toto senzorické hodnocení bylo provedeno pro jogurty obsahující 0,01 a 0,02 % karagenanů. Dotazník a stupnice pro senzorické hodnocení jsou uvedeny v příloze PIV a PV. Následně bylo provedeno senzorické hodnocení 12 posuzovateli, kteří hodnotili tyto charakteristiky: konzistence, vůně, přítomnost cizích pachů a uvolňování syrovátky. Senzorické hodnocení bylo provedeno pro jogurty o koncentraci 0,01 % κ -karagenanu a byly sledovány senzorické znaky vzhledem k jogurtům bez karagenanu. Dotazník a stupnice pro senzorické hodnocení jsou uvedeny v příloze PIV a PV. Senzorické hodnocení bylo provedeno vybranými posuzovateli z Ústavu potravinářského inženýrství.

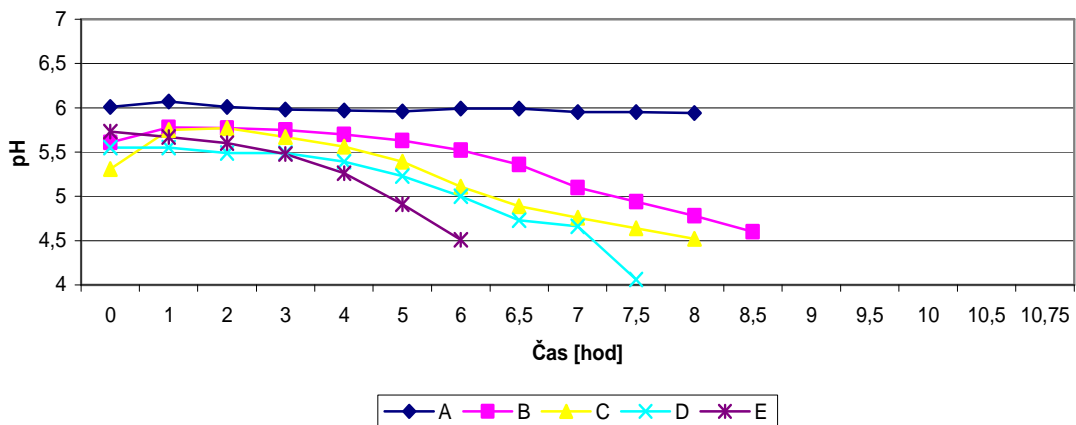
Senzorické hodnocení pro 12 posuzovatelů bylo doplněno pořadovou zkouškou (hodnotitelé měli za úkol seřadit vzorky podle tuhosti), rozdílovou zkouškou (hodnotitelé upřednostňují vzorky podle tuhosti) a zkouškou se stupnicí. Vzorky byly posuzovatelům předkládány pod kódovým označením, aby nedocházelo k ovlivnění posuzovatelů.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

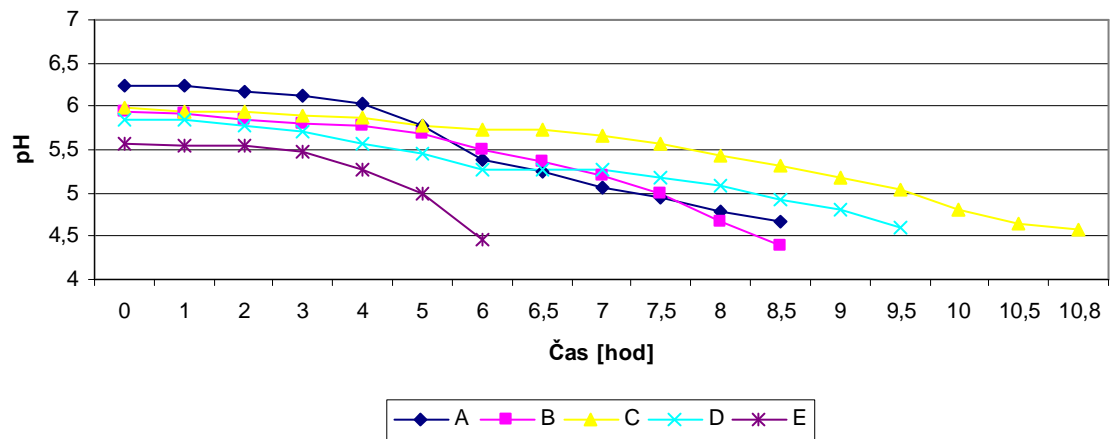
V diplomové práci byly vyráběny jogurty za laboratorních podmínek. Nejprve byl z různých kmenů laktobacilů stanoven jeden použitelný kmen, který byl následně použit k výrobě jogurtů. Dále byl sledován vliv přísadků jóta a kappa karagenanů na skladbu aminokyselin fermentovaných mléčných výrobků. Změny sensorických vlastností byly sledovány pomocí sensorických hodnocení vybraných hodnotitelů. Mezi sledované znaky patřily: konzistence, chuť a vůně, přítomnost cizích příchutí a pachutí a uvolňování syrovátky.

7.1 Optimalizace skladby mikroorganismů pro laboratorní výrobu jogurtů

Pro výrobu jogurtů byla nutná optimalizace kmenů laktobacilů. Byly tedy vyráběny jogurty s 5 kmeny laktobacilů označenými A – E. Na základě měření pH bylo vyhodnoceno, který kmen laktobacila spolu s kmenem *S. thermophilus* byl optimální pro výrobu jogurtů. Obrázky 13 a 14 zobrazují časový průběh aktivní kyselosti (pH) laktobacilů při teplotách 37 a 42 °C.



Obrázek 13 Grafické znázornění časového průběhu pH laktobacilů při teplotě 37 °C



Obrázek 14 Grafické znázornění časového průběhu pH laktobacilů při teplotě 42 °C

Cílem bylo dosáhnout optimálního pH za přibližně stejnou dobu při obou teplotách. Na základě měření bylo zjištěno, že kmen laktobacila pod označením B vyhovuje těmto požadavkům. Uvedené mikroorganismy byly použity z České sbírky mlékárenských mikroorganismů. Z důvodu obchodního tajemství tedy nejsou zveřejněna čísla jednotlivých kmenů.

7.2 Optimalizace koncentrace ióta a kappa karagenanů

Po vybrání vhodného kmene laktobacila, byly vyráběny jogurty s přidavkem ióta a kappa karagenanů. Následně byl sledován vliv na homogennost jogurtů a proteolýzu bílkovin. Karagenany byly přidávány v koncentraci 0,15 %, 0,077 %, 0,038 %, 0,019 % a 0,0096 %.

Z uvedených koncentrací karagenanů bylo zjištěno, že koncentrace v rozmezí 0,15 – 0,038 % byly nevhodné (viz příloha PVIII, PIX a PX, obr.3, 4, 7, 8, 11, 12,), neboť docházelo k přílišnému uvolnění syrovátky a k vytvoření agregátu. Jako příklad je uveden obrázek 15. Příčinou zřejmě byla příliš vysoká koncentrace karagenanů a tudíž došlo k intenzivnějším interakcím mezi karagenanovými řetězci a k vytvoření pevné gelové struktury. Výsledkem pak bylo nadměrné uvolnění syrovátky [54].



Obrázek 15. Jogurt s obsahem ióta karagenanu o koncentraci 0,15 %

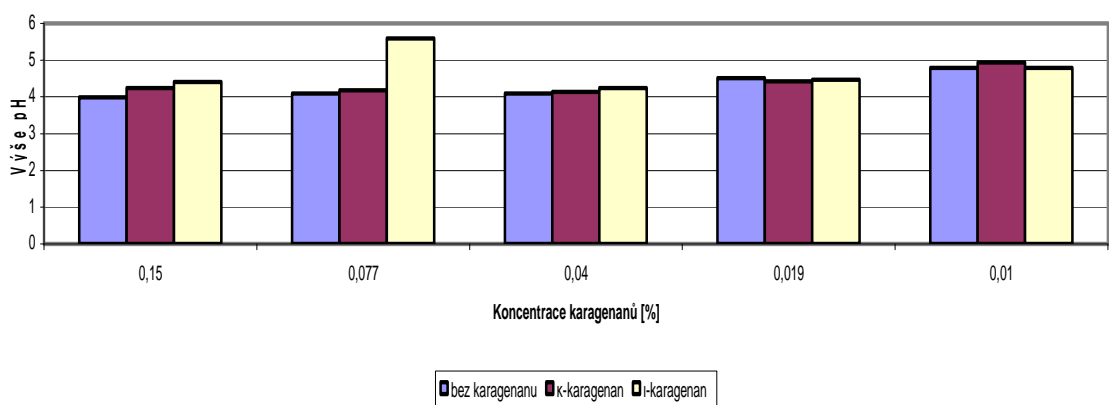
Bylo také zjištěno, že při koncentraci 0,015 % ióta a kappa karagenanů dochází k vytvoření agregátu i bez činnosti mikroorganismů, což ukazuje obrázek 16.



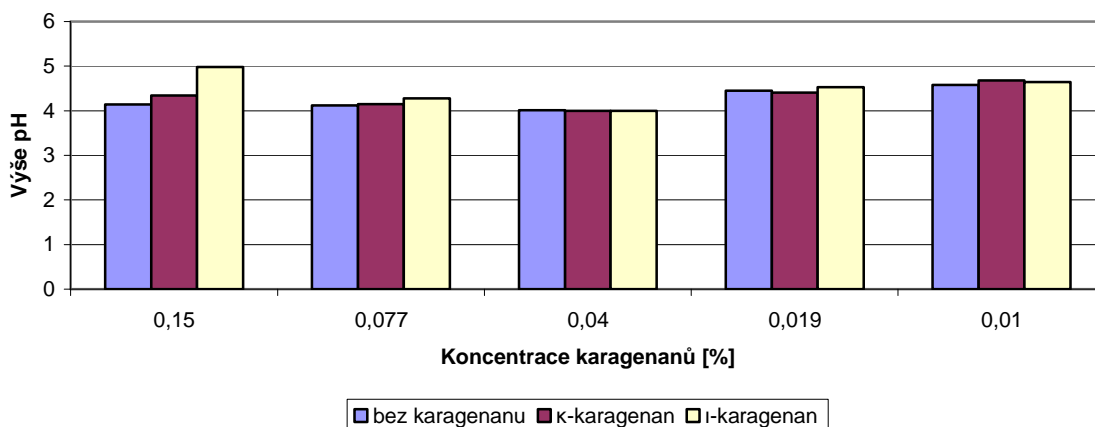
Obrázek 16 Modelové vzorky jogurtů s použitím ióta (vlevo) a kappa (vpravo) karagenanů bez přítomnosti mikroorganismů

Koncentrace 0,019 % pro ióta karagenan byla vyhovující (příloha PXI, obr.15), u kappa karagenanu došlo ještě k mírnému uvolnění syrovátky a k vytvoření řidší konzistence (příloha PXI, obr.16). Proto se snížila koncentrace karagenanů na 0,0096 %. Tato koncentrace se jevila jako vhodná pro použití do fermentovaných mléčných výrobků. Byla vyhovující pro oba druhy karagenanů při obou teplotách (příloha PXII, obr.19, 20).

Na obrázku 17 a 18 je zaznamenána výše hodnot pH při různých koncentracích karagenanů a dvou teplotách fermentace.



Obrázek 17 Grafické znázornění výše hodnot pH při různé koncentraci karagenanů při teplotě 37 °C

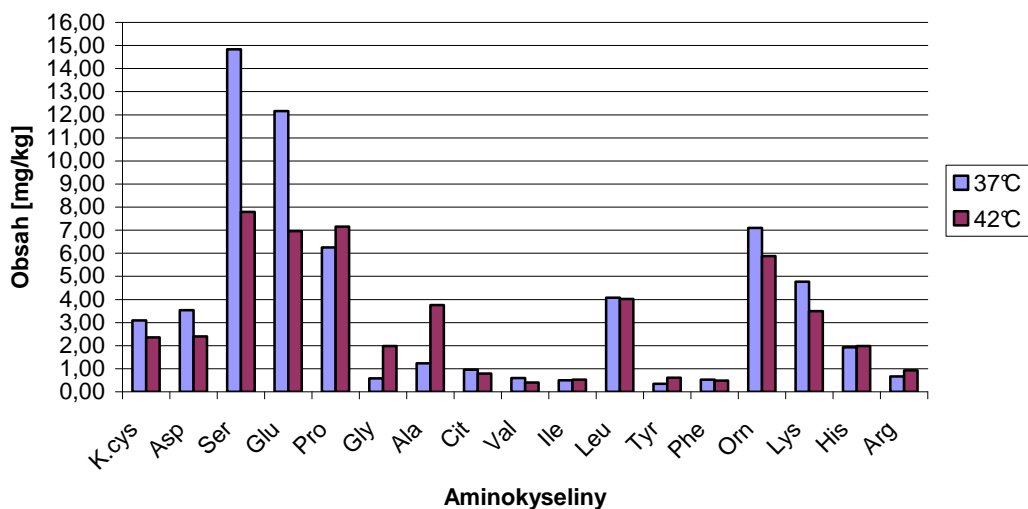


Obrázek 18 Grafické znázornění výše hodnot pH při různé koncentraci karagenanů při teplotě 42 °C

Z obrázků vyplývá, že při teplotě fermentace 37 °C a při stejné době fermentace bylo pH modelových vzorků jogurtů s obsahem obou karagenanů (0,15 %) mírně vyšší než u vzorků kontrolních (bez obsahu karagenanů). Vyšší vzestup pH byl zaznamenán i při koncentraci 0,077 % obou karagenanů při teplotě fermentace 37 °C. U ostatních koncentrací karagenanů bylo pH téměř srovnatelné s kontrolními vzorky.

7.3 Zhodnocení vlivu přidaných karagenanů na obsah volných aminokyselin

Pomocí analyzátoru aminokyselin AAA 400 byl zkoumán vliv teploty a ióta a kappa karagenanů na množství volných aminokyselin ve vzorcích. Pro hodnocení byly použity vzorky modelových jogurtů bez karagenanů a o koncentraci 0,01 a 0,02 % ióta a kappa karagenanů (uvedené koncentrace jsou zaokrouhlené kvůli přehlednosti, konkrétní koncentrace jsou 0,019 % a 0,0096 %). Fermentace probíhala při teplotách 37 a 42 °C. Jednotlivé aminokyseliny byly hodnoceny v závislosti na teplotě, kde jako kontrolní byla brána teplota 37 °C a vzhledem ke vzorkům jogurtů bez karagenanů. Obsah volných aminokyselin u modelových vzorků jogurtů bez obsahu obou karagenanů při teplotách 37 a 42 °C znázorňuje obrázek 19. Z obrázku vyplývá, že při teplotě 42 °C došlo k poklesu obsahu většiny volných aminokyselin.

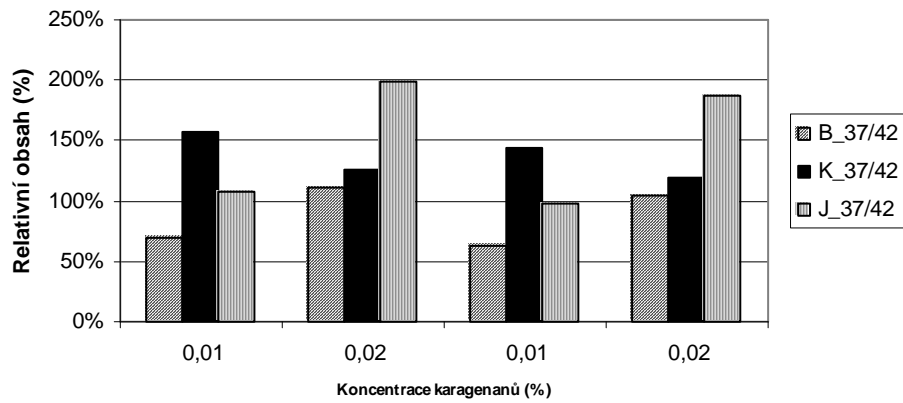


Obrázek 19 Grafické znázornění obsahu volných aminokyselin u jogurtů bez karagenanů

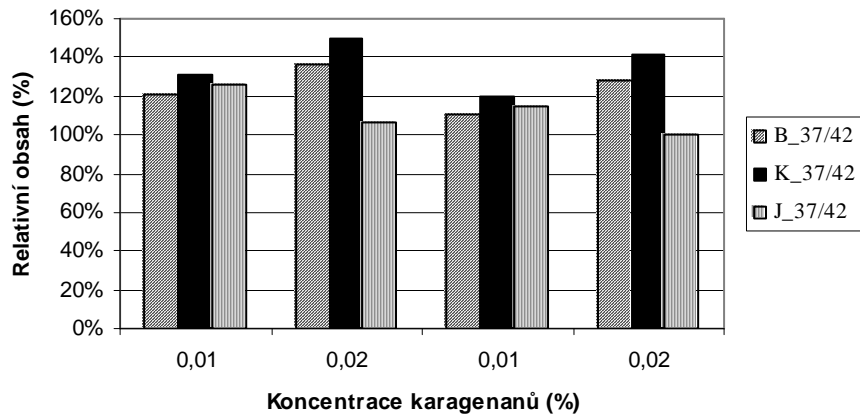
Vliv teploty

V rámci diplomové práce byl zkoumán vliv teploty fermentace na obsah volných aminokyselin ve vzorcích bez karagenanů a s jejich přidávkem. Výsledky vlivu teploty jsou uvedeny na obrázku 20 - 36.

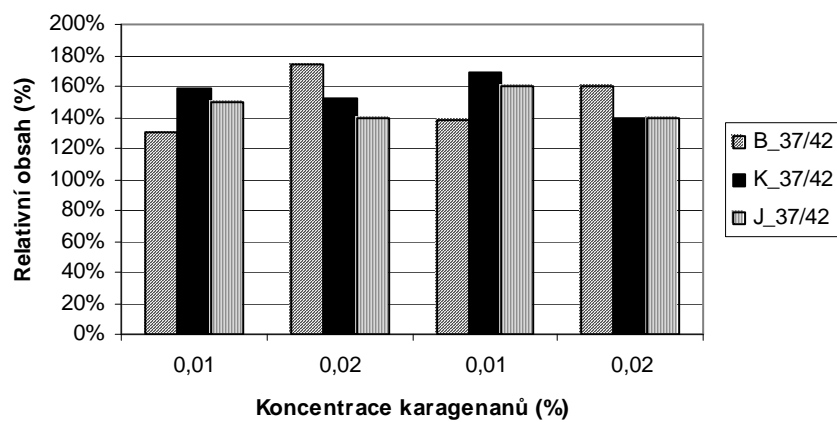
Z obrázků 20 - 26 vyplývá, že v deseti případech došlo ke zvýšení množství dané aminokyseliny při 42 °C vzhledem ke 37 °C. Mezi tyto aminokyseliny patří fenylalanin (zvýšení o 5 – 100 %), ornitin (3 – 22 %), kyselina cysteová (15 – 55 %), lyzin (5 – 50 %), kyselina asparagová (30 – 60 %), kyselina glutamová (30 – 75 %), serin (60 – 80 %), tyrosin (0 – 125 %), valin (0 – 45 %) a histidin (0 – 45 %).



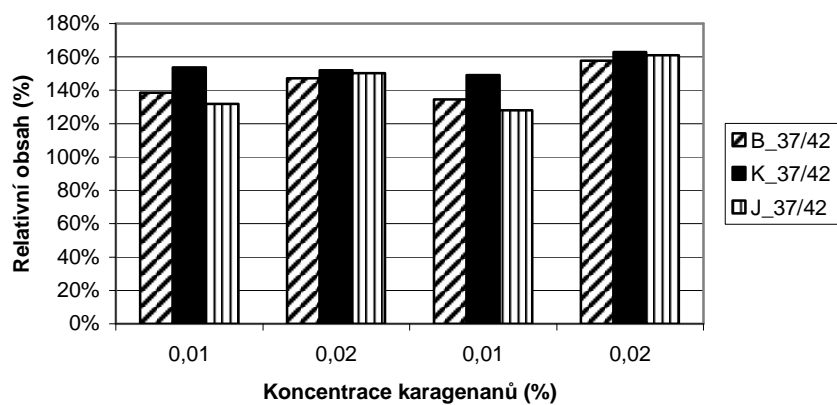
Obrázek 20 Obsah volného fenylalaninu v modelových vzorcích jogurtů



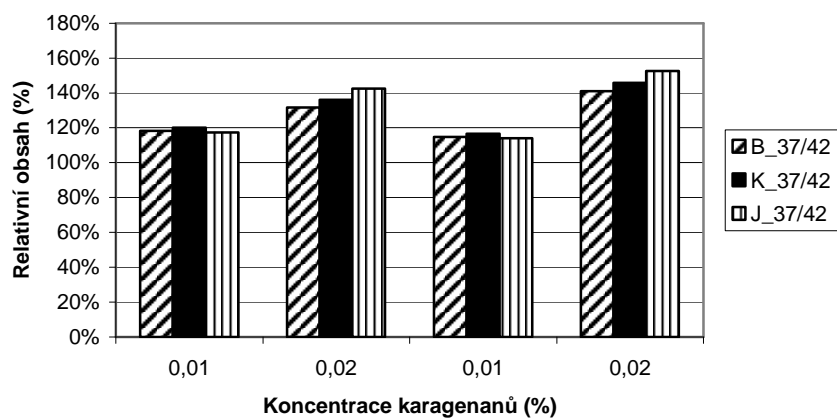
Obrázek 21 Obsah volného lyzinu v modelových vzorcích jogurtů



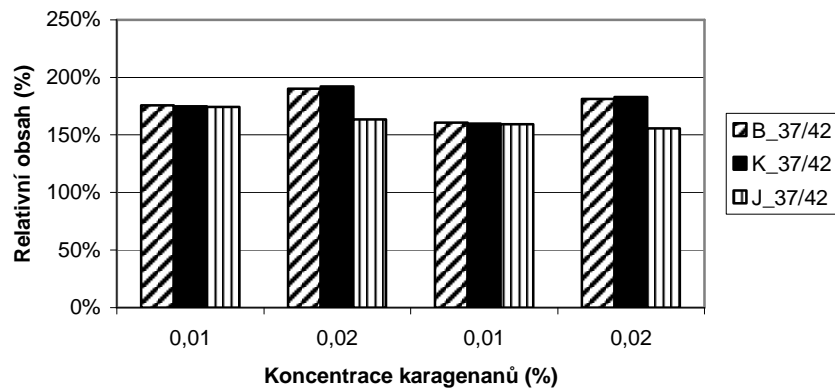
Obrázek 22 Obsah volné kyseliny glutamové v modelových vzorcích jogurtů



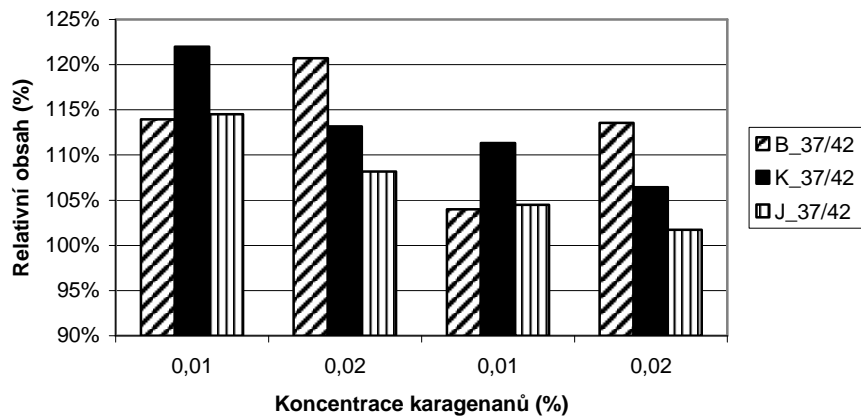
Obrázek 23 Obsah volné kyseliny asparagové v modelových vzorcích jogurtů



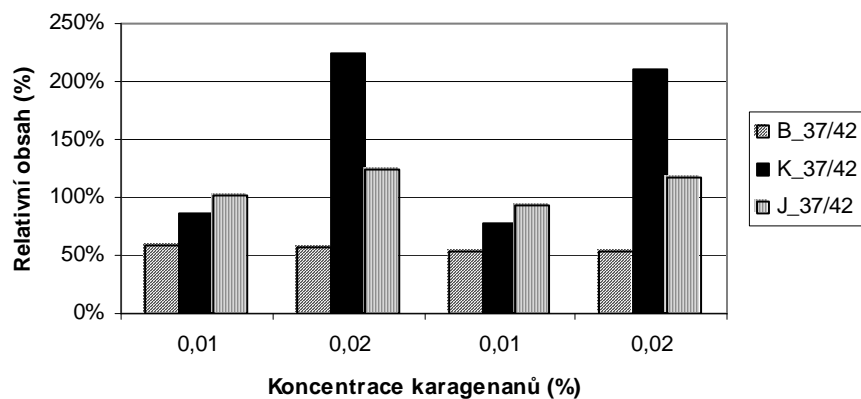
Obrázek 24 Obsah volné kyseliny cysteové v modelových vzorcích jogurtů



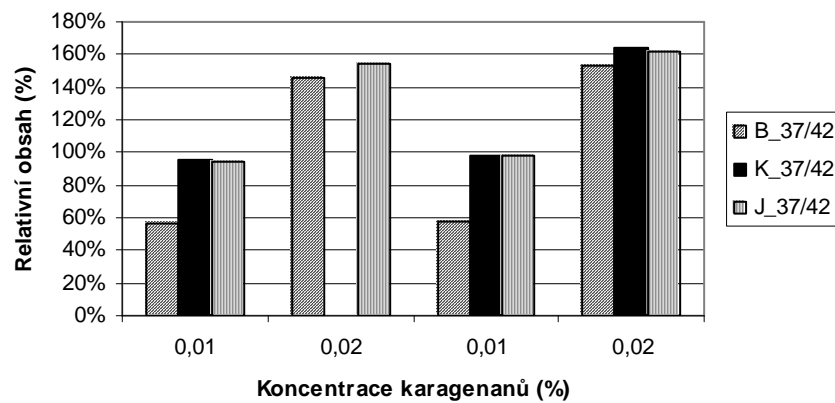
Obrázek 25 Obsah volného serinu v modelových vzorcích jogurtů



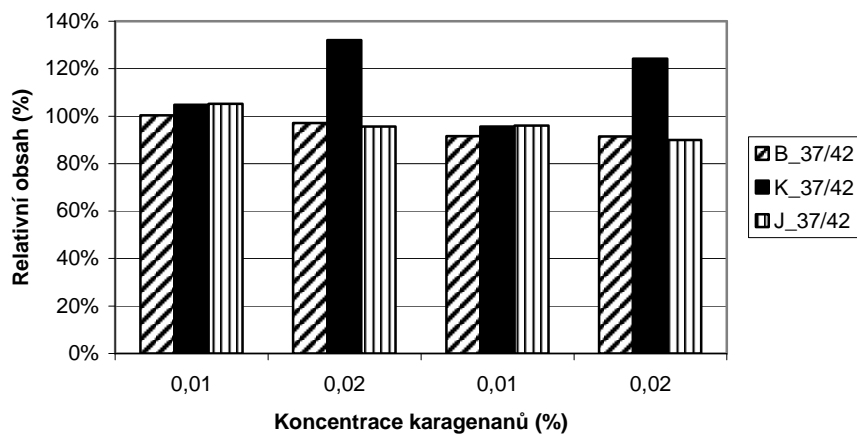
Obrázek 26 Obsah volného ornitinu v modelových vzorcích jogurtů



Obrázek 27 Obsah volného tyrozinu v modelových vzorcích jogurtů

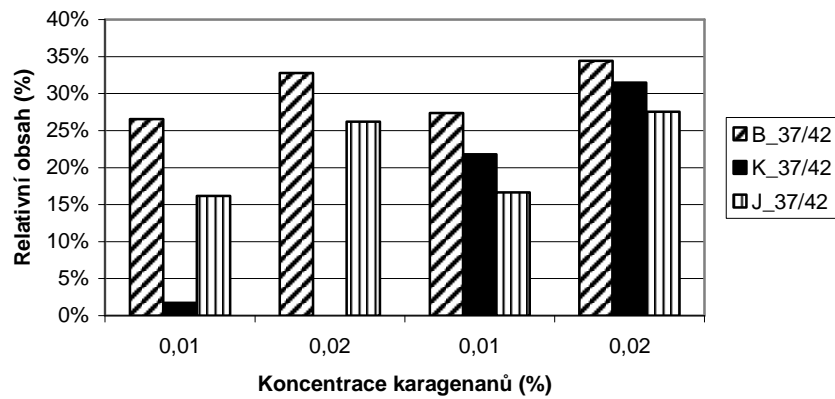


Obrázek 28 Obsah volného valinu v modelových vzorcích jogurtů

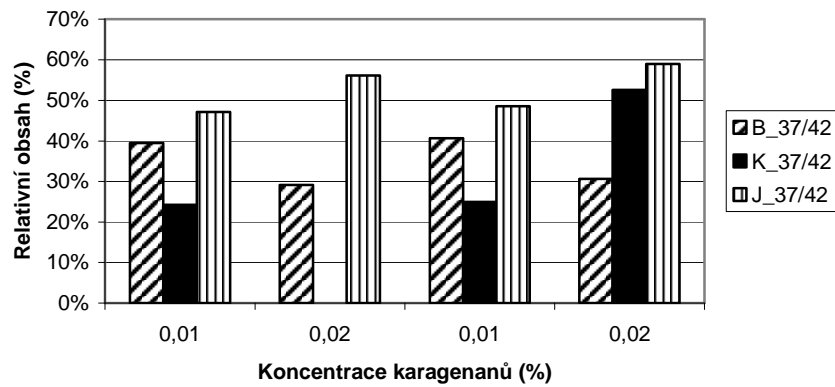


Obrázek 29 Obsah volného histidinu v modelových vzorcích jogurtů

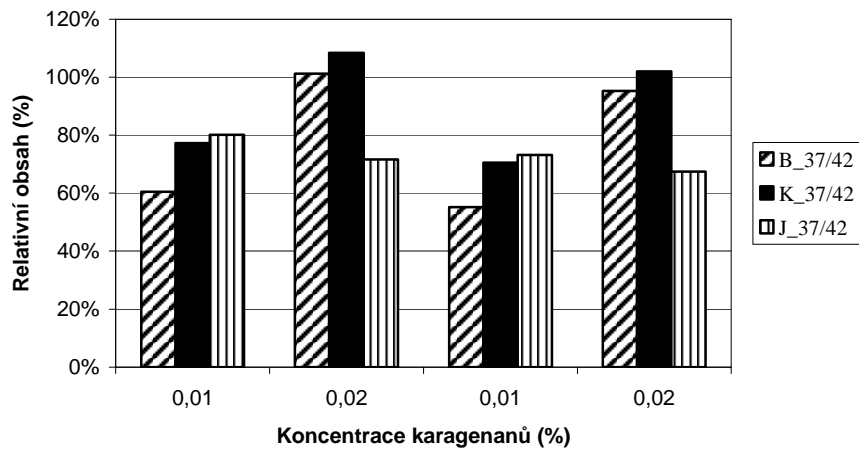
V dalších sedmi případech byl zaznamenán naopak výrazný pokles obsahu aminokyselin při teplotě 42 °C vzhledem k teplotě 37 °C. Mezi tyto aminokyseliny patří glycin (pokles o 45 až 75 %), leucin (5 až 45 %), izoleucinu (5 až 60 %), prolin (10 až 30 %), alanin (65 – 85%), citrulin (30 – 45 %) a arginin (30 – 85 %). Pokles aminokyselin dokazují obrázky 27 - 33.



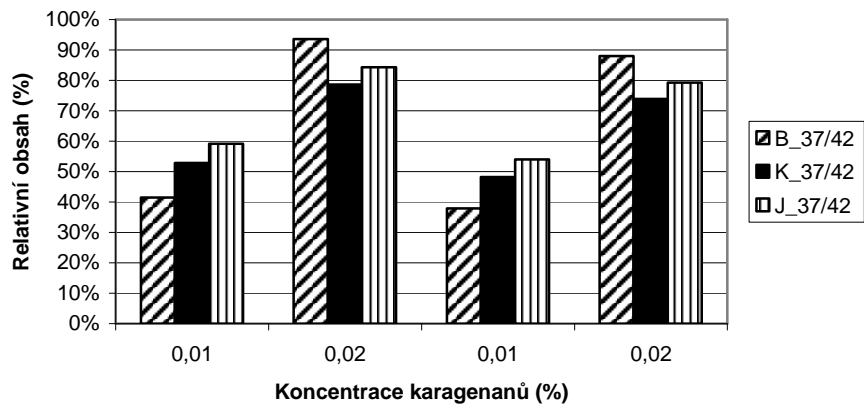
Obrázek 30 Obsah volného alaninu v modelových vzorcích jogurtů



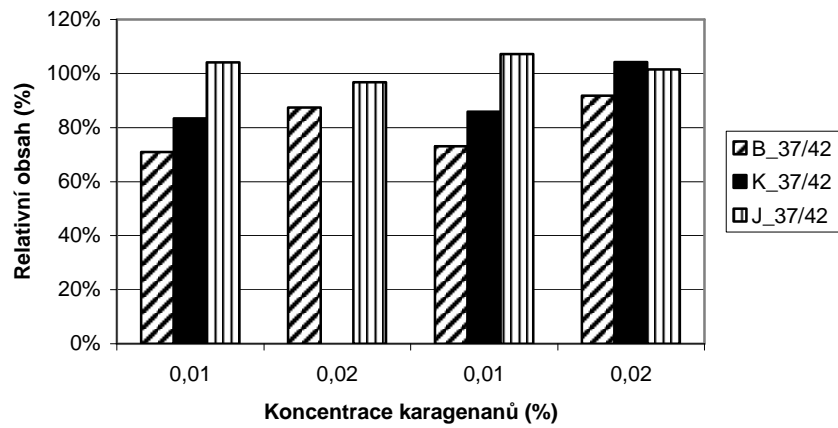
Obrázek 31 Obsah volného glycinu v modelových vzorcích jogurtů



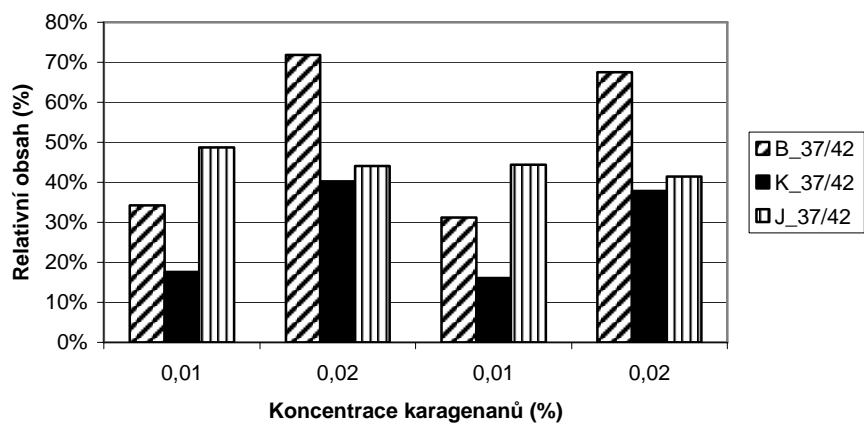
Obrázek 32 Obsah volného leucinu v modelových vzorcích jogurtů



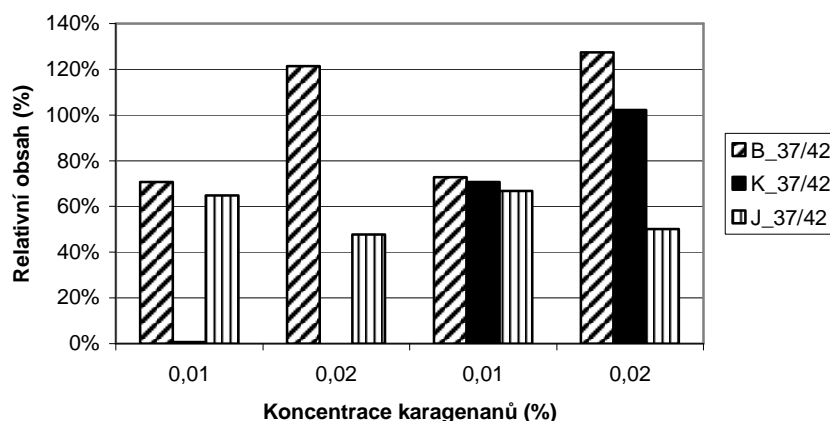
Obrázek 33 Obsah volného izoleucinu v modelových vzorcích jogurtů



Obrázek 34 Obsah volného prolinu v modelových vzorcích jogurtů



Obrázek 35 Obsah volného argininu v modelových vzorcích jogurtů



Obrázek 36 Obsah volného citrulinu v modelových vzorcích jogurtů

Zvyšováním teploty se zvyšuje i aktivita enzymů a obecně dochází k rychlejšímu rozkladu kaseinu. Výsledkem je pak vyšší obsah volných aminokyselin. Aktivita enzymů je ovlivňována také hodnotou pH. U proteolytických enzymů se optimální hodnota pH pohybuje v rozmezí 6,5 – 7,0, proto k maximální tvorbě volných aminokyselin dochází na počátku fermentace. Pomocí proteináz uvolněných z buněčné stěny laktobacila dochází k hydrolyze kaseinu na polypeptidy, které jsou dále rozkládány peptidázami streptokoka. Stupeň proteolýzy závisí na poměru použitých mikroorganismů pro inokulaci, inkubační teplotě a času [13,11,14]. Rozdílné hodnoty ve srovnání s obrázkem 19 byly zřejmě způsobeny přítomností karagenanů.

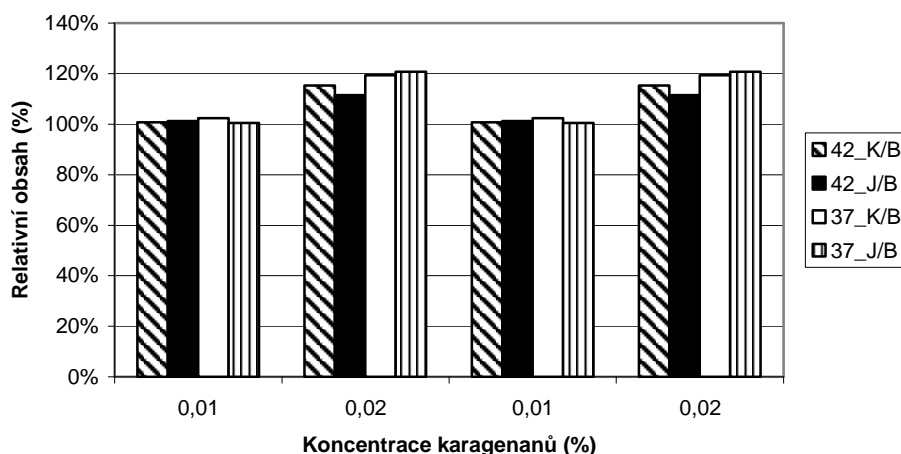
Zvýšený obsah aminokyselin fenylalaninu a lyzinu při teplotě 42 °C může být způsoben enzymem aminopeptidázou C (PepC), produkovaným většinou *L. bulgaricus*, protože PepC má nejvyšší aktivitu při 45 °C [55]. PepC způsobuje také uvolnění kyseliny glutamové, asparagové a alaninu. U alaninu byl zaznamenán velmi vysoký pokles při teplotě 42 °C [56]. Výrazný pokles aminokyselin při teplotě 42 °C mohl být způsoben přeměnou těchto aminokyselin na mastné kyseliny [11]. Tato změna mohla proběhnout u glycinu, leucinu, isoleucinu, tyrosinu a prolinu. Tyrosin a isoleucin také mohly být spotřebovány streptokokem, proto je jejich množství nižší při vyšší teplotě [11]. Obsah valinu byl při teplotě 42 °C nižší. Mohlo tedy dojít ke spotřebě streptokokem, který ho využívá k růstu [19]. Arginin a histidin mohly být metabolizovány mikroorganismy [56]. Na získávání těchto aminokyselin se opět podílí PepC. U argininu byl pokles jeho obsahu

o 30 až 80 %, u histidinu byl zaznamenán téměř totožný obsah jako při teplotě 37 °C. Treonin, metionin a glutamin jsou aminokyseliny, které produkuje zejména *L. bulgaricus* a jsou spotřebovávány streptokokem během fermentace. Množství těchto aminokyselin bylo pouze stopové, proto nejsou uvedeny [57].

Vliv karagenanů

Kromě vlivu teploty byl sledován i vliv karagenanů na obsah volných aminokyselin. Jednotlivé aminokyseliny byly srovnávány se vzorky bez karagenanů. Kromě tohoto srovnání bylo provedeno i srovnání íóta a kappa karagenanů mezi sebou.

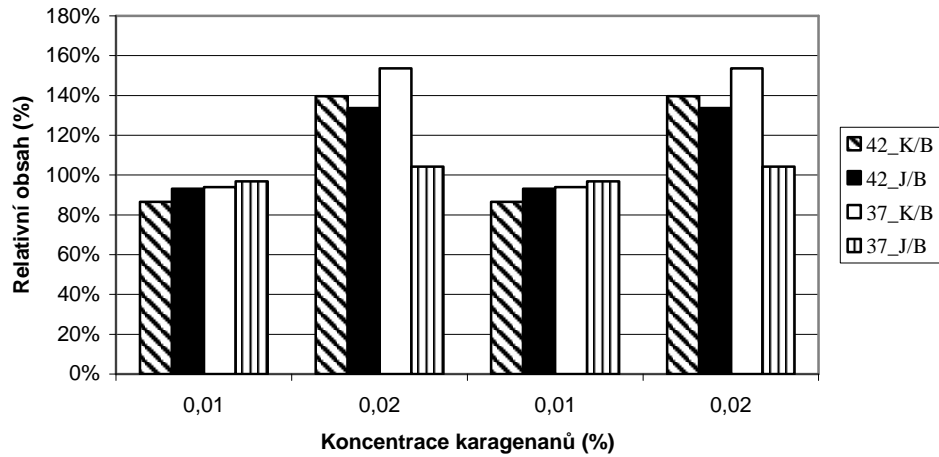
Analýzou volných aminokyselin bylo zjištěno, že u kyseliny cysteové došlo k mírnému vzestupu obsahu v přítomnosti obou karagenanů o koncentraci 0,02 %. Tento vzestup se pohyboval kolem 20 %. Při koncentraci 0,01 % karagenanů bylo množství srovnatelné se vzorky bez karagenanů. Relativní obsah kyseliny cysteové ukazuje obrázek 37.



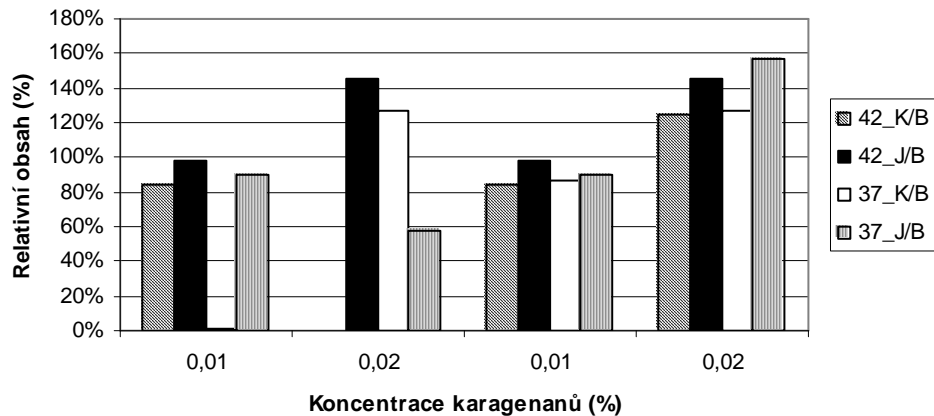
Obrázek 37 Obsah volné kyseliny cysteové v modelových vzorcích jogurtů

U lyzinu, citrulinu a histidinu došlo při koncentraci 0,01 % karagenanu k poklesu jejich množství vzhledem ke vzorkům bez karagenanů. Konkrétně u lyzinu o 5 až 10 %, u citrulinu o 10 % a u histidinu o 5 %. Při koncentraci obou karagenanů 0,02 % došlo ke

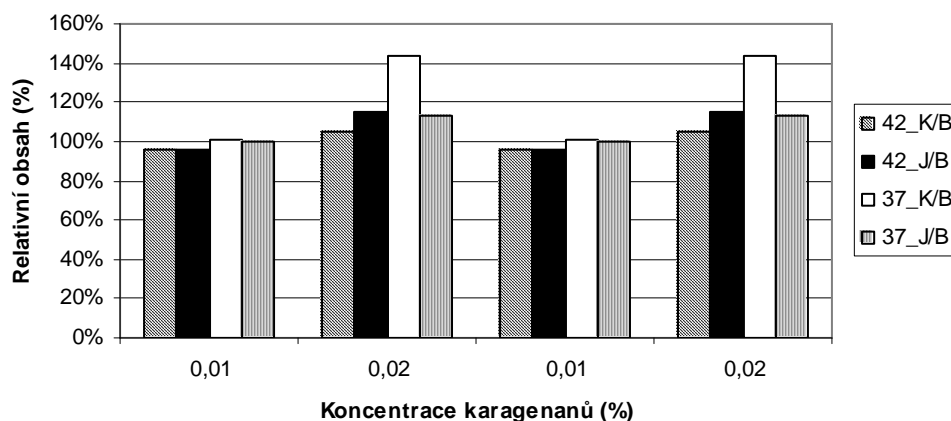
zvýšení množství těchto aminokyselin. U lyzinu o 5 až 55 %, u citrulinu o 20 až 60 % a u histidinu o 5 až 45 %.



Obrázek 38 Obsah volného lyzinu v modelových vzorcích jogurtů

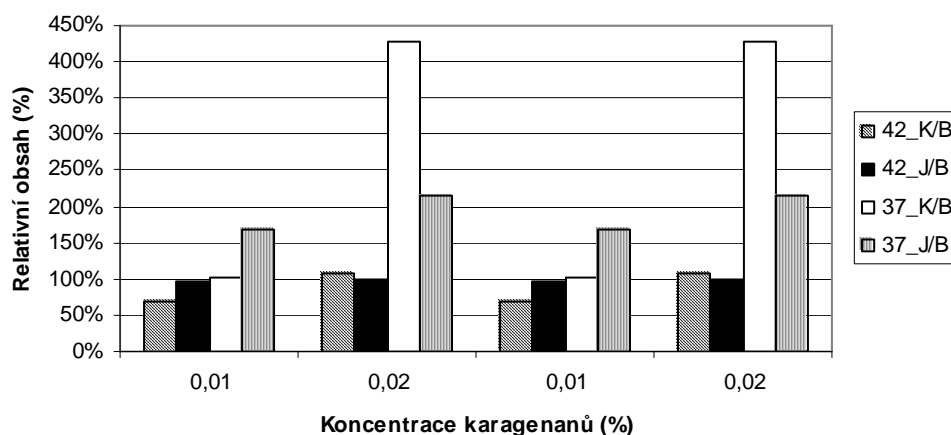


Obrázek 39 Obsah volného citrulinu v modelových vzorcích jogurtů

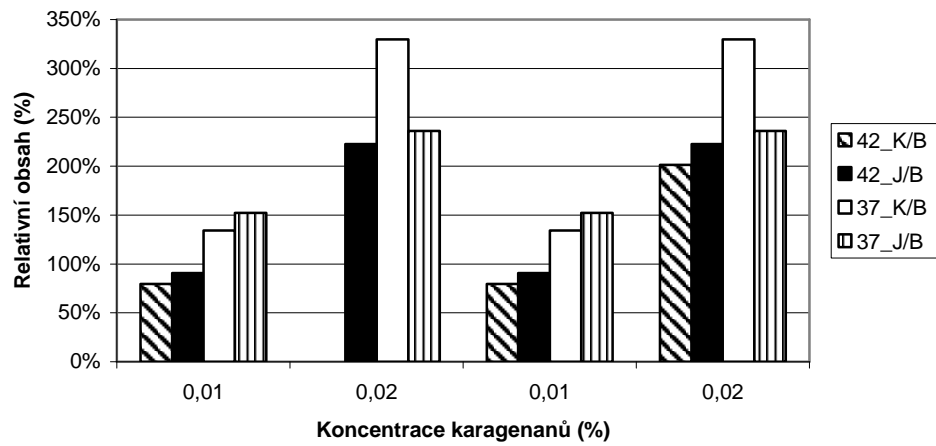


Obrázek 40 Obsah volného histidinu v modelových vzorcích jogurtů

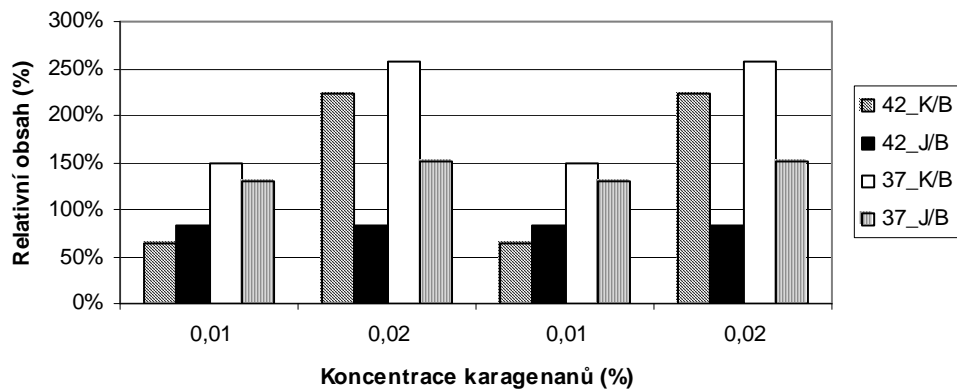
U šesti aminokyselin byl zaznamenán spíše vzrůst jejich koncentrace v přítomnosti karagenanů. V některých případech byl tento vzrůst velmi rapidní, což je zřejmé u tyrozinu, valinu a fenylyalaninu, v menším rozsahu u argininu, prolinu nebo glycinu. Nejvyšší navýšení bylo zaznamenáno u tyrozinu při koncentraci karagenanů 0,02 %, jehož obsah byl o 120 až 320 % vyšší než u vzorků bez karagenanu. Množství valinu bylo také zvýšené vzhledem k modelovým vzorkům jogurtů bez karagenanů a to o 120 až 230 %, u fenylyalaninu o 50 až 160 %. Zvýšení koncentrace argininu bylo 20 až 90 %, prolinu 30 až 80 % a u glycinu 15 až 60 %. Zmíněné jevy dokazují obrázky 41 – 46.



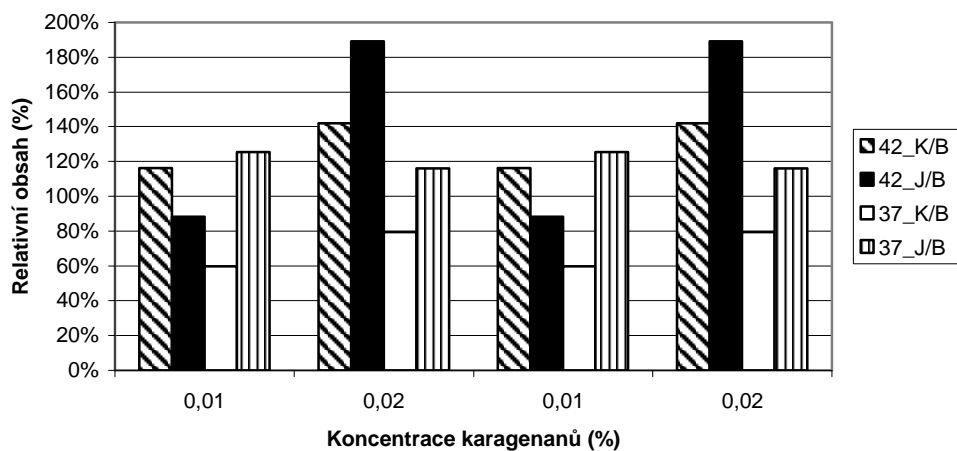
Obrázek 41 Obsah volného tyrozinu v modelových vzorcích jogurtů



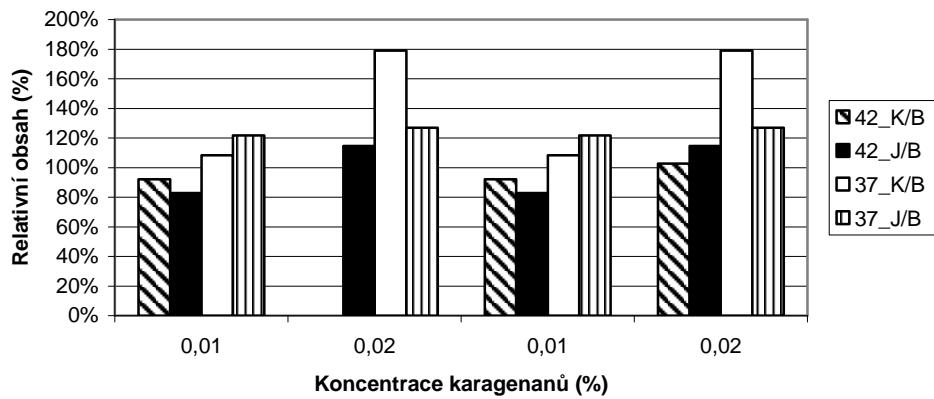
Obrázek 42 Obsah volného valinu v modelových vzorcích jogurtů



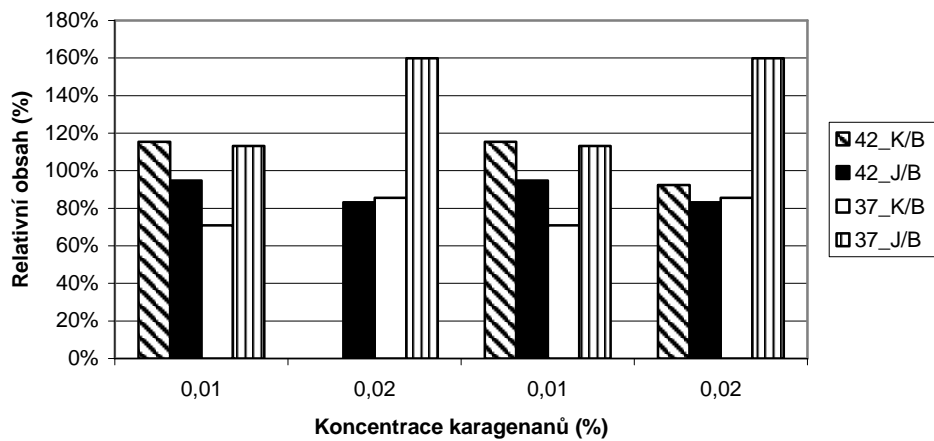
Obrázek 43 Obsah volného fenylalaninu v modelových vzorcích jogurtů



Obrázek 44 Obsah volného argininu v modelových vzorcích jogurtů

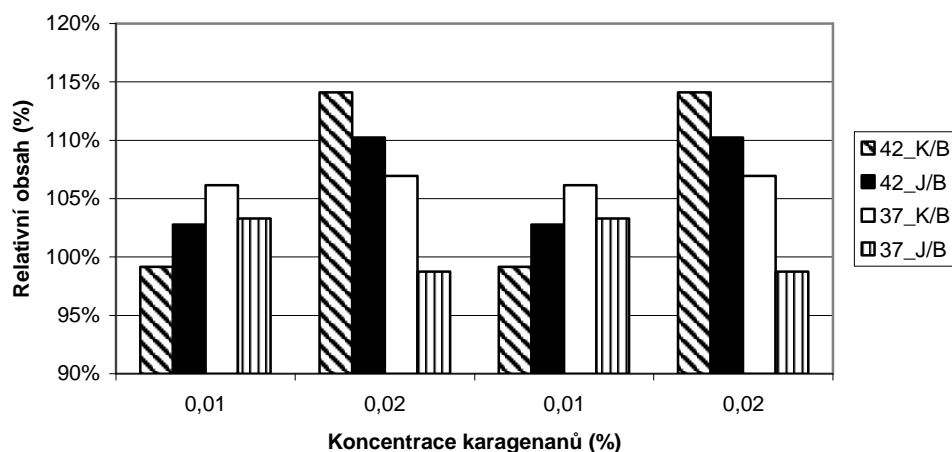


Obrázek 45 Obsah volného prolinu v modelových vzorcích jogurtů

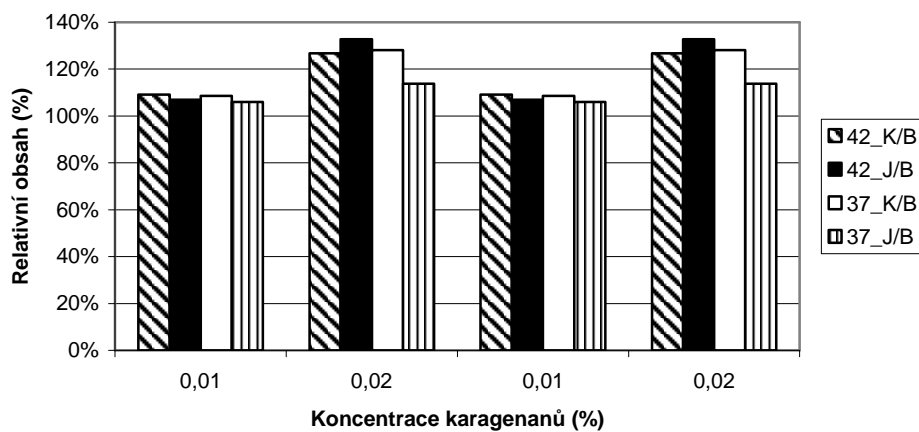


Obrázek 46 Obsah volného glycinu v modelových vzorcích jogurtů

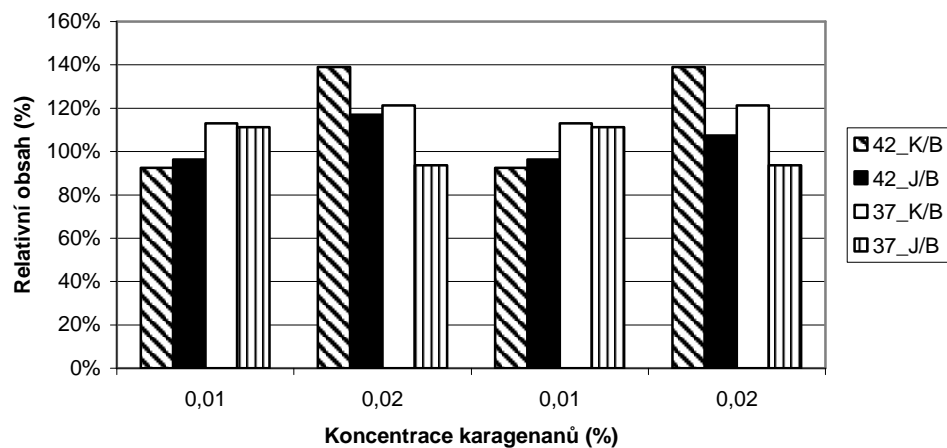
U dalších čtyř aminokyselin bylo zaznamenáno jejich zvýšené množství při obou koncentracích karagenanů vzhledem k modelovým vzorkům jogurtů bez karagenanů (viz. obrázek 47 – 50). U koncentrace 0,01 % karagenanů byl nárůst u ornitinu do 6 %, u serinu a kyseliny glutamové o 10 % a u leucinu o 20 až 30 %. U koncentrace 0,02 % karagenanů byla koncentrace aminokyselin vyšší. U ornitinu do 14 %, u serinu 30 %, kyselina glutamová 20 až 40 % a u leucinu byl vzrůst o 20 až 70 %.



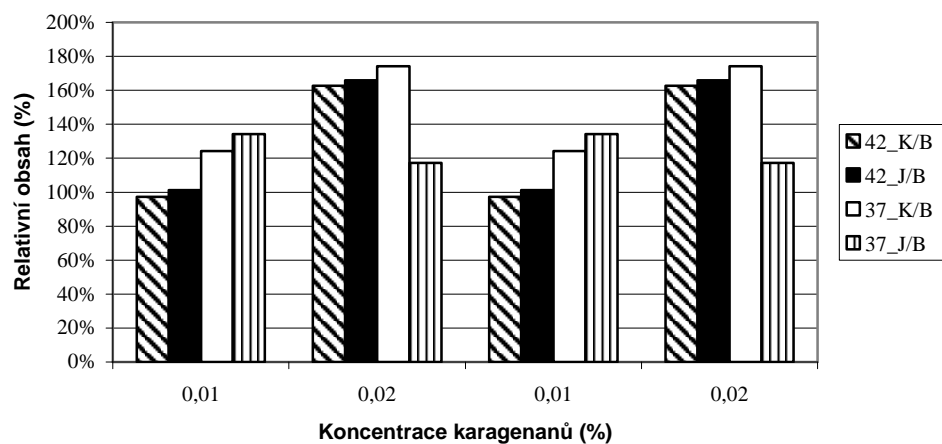
Obrázek 47 Obsah volného ornitinu v modelových vzorcích jogurtů



Obrázek 48 Obsah volného serinu v modelových vzorcích jogurtů

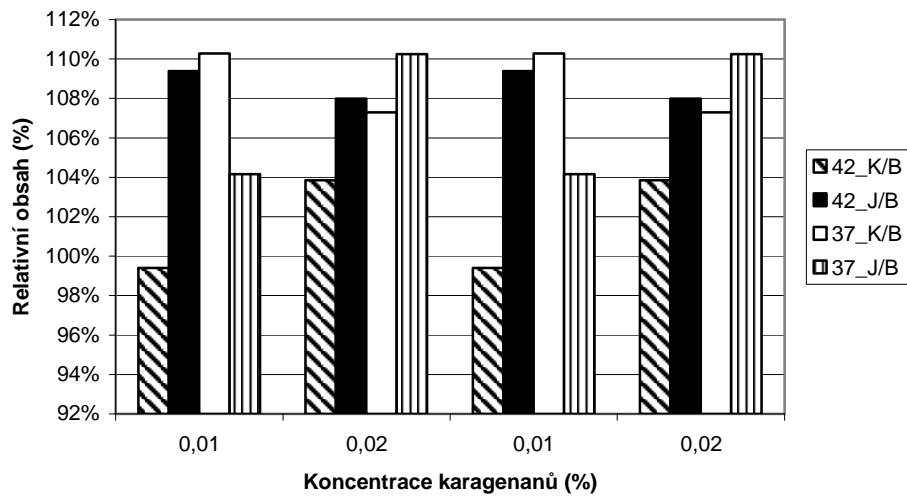


Obrázek 49 Obsah volné kyseliny glutamové v modelových vzorcích jogurtů

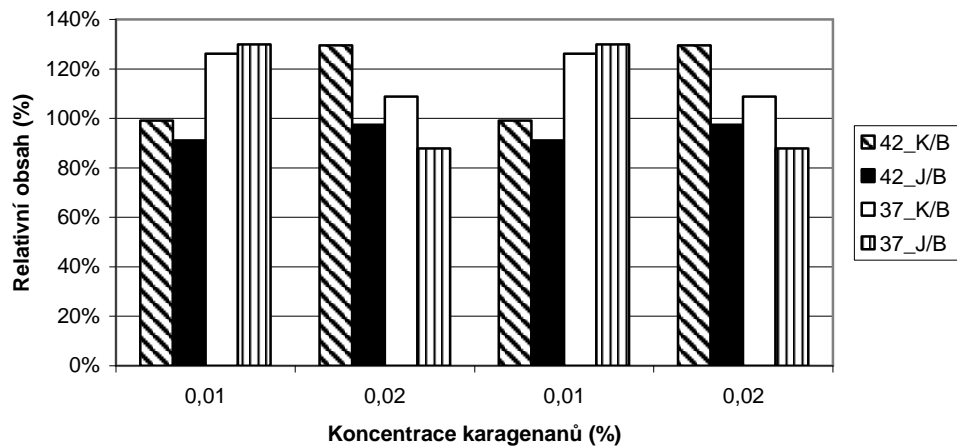


Obrázek 50 Obsah volného leucinu v modelových vzorcích jogurtů

U kyseliny asparagové a izoleucinu došlo zvýšení jejich obsahu při obou koncentracích karagenanů přiměřeně stejně vzhledem ke vzorkům bez obsahu karagenanů. U kyseliny asparagové bylo zvýšení o 4 až 10 % a u izoleucinu o 10 až 30 % (obrázek 51 a 52).

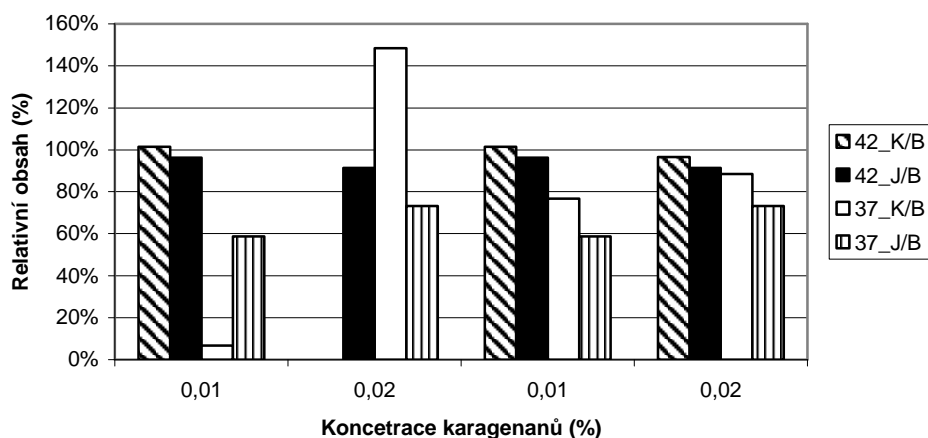


Obrázek 51 Obsah volné kyseliny asparagové v modelových vzorcích jogurtů



Obrázek 52 Obsah volného izoleucinu v modelových vzorcích jogurtů

U aminokyseliny alaninu (obrázek 53) byl zaznamenán pokles jeho relativního obsahu vzhledem ke vzorkům neobsahující karagenany. Pokles se pohyboval od 5 do 40 % v závislosti na druhu karagenanu a teplotě fermentace.



Obrázek 53 Obsah volného alaninu v modelových vzorcích jogurtů

Kromě srovnání vzorků s karagenany a bez nich bylo provedeno také srovnání obsahu volných aminokyselin mezi vzorky s kappa a jóta karagenanem. Zvýšený obsah aminokyselin v přítomnosti kappa karagenanu při obou teplotách a koncentracích byl zaznamenán u alaninu (navýšení o 15 – 40 %). Stejný jev v přítomnosti jóta karagenanu byl u citrulinu (20 – 80 %). U lyzinu a tyrosinu došlo k navýšení v přítomnosti jóta karagenanu při koncentraci 0,01 %, ale při koncentraci 0,02 % došlo k navýšení množství těchto aminokyselin v přítomnosti kappa karagenanu.

Kyselina cysteová a histidin vykazovaly srovnatelné množství v přítomnosti obou karagenanů při koncentraci 0,01 %, ale při koncentraci 0,02 % se vyšší množství aminokyselin měnilo v přítomnosti obou karagenanů v závislosti na teplotě. U histidinu došlo při teplotě 42 °C ke zvýšenému množství v přítomnosti jóta karagenanu, při 37 °C v přítomnosti kappa karagenanu. U kyseliny cysteové tomu bylo naopak. Podobný jev se vyskytoval u fenylalaninu, ornitinu, kyseliny glutamové, kyseliny asparagové, argininu a isoleucinu. Při koncentraci karagenanů 0,01 % bylo zvýšené množství těchto aminokyselin v přítomnosti karagenanů kappa nebo jóta v závislosti na teplotě. U koncentrace 0,02 % bylo zvýšené množství v přítomnosti kappa karagenanu u fenylalaninu, ornitinu, kyseliny glutamové a isoleucinu, v přítomnosti jóta karagenanu u argininu a kyseliny asparagové.

Vliv koncentrace karagenanů se projevil také u valinu, leucinu a serinu. Zde došlo při koncentraci 0,01 % ke zvýšení množství aminokyselin v prostředí s kappa karagenanem

u serinu, s ióta karagenanem u valinu a leucinu. Při koncentraci 0,02 % a teplotě 42 °C došlo k navýšení těchto aminokyselin v přítomnosti ióta karagenanu, při teplotě 37 °C v přítomnosti kappa karagenanu.

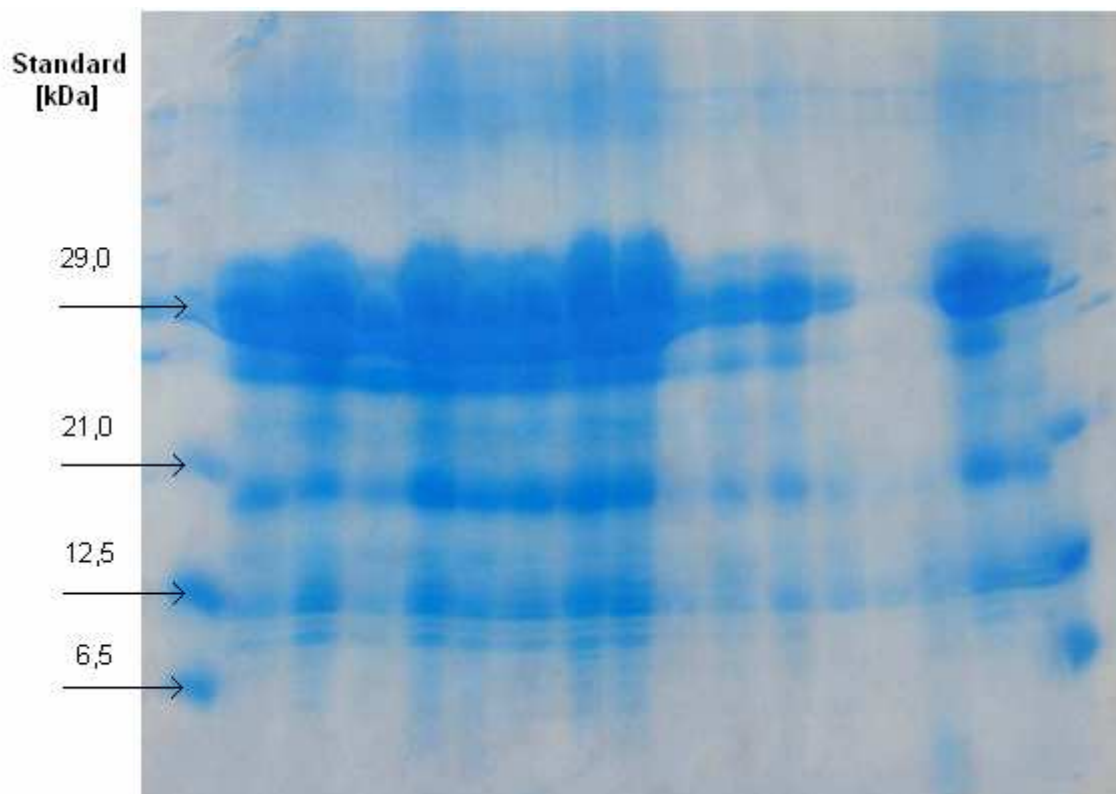
Zvýšení obsahu prolinu a glycinu bylo v přítomnosti obou karagenanů v závislosti na jejich koncentraci a teplotě fermentace. U prolinu při koncentraci 0,01 % bylo zvýšené množství při teplotě 42 °C v přítomnosti kappa karagenanu, při 37 °C v přítomnosti ióta karagenanu. Při koncentraci 0,02 % tomu bylo obráceně. Stejný jev vykazuje také glycin při koncentraci 0,01 %. Při koncentraci 0,02 % a teplotě 42 °C je jeho vyšší obsah v přítomnosti kappa karagenanu, při 37 °C v přítomnosti ióta karagenanu.

K nejvýznamnějším vlastnostem karagenanů v mléčných výrobcích patří jejich interakce s proteiny. K interakcím mezi karagenany a kaseinovými micelami dochází mezi 97. a 112. aminokyselinovým zbytkem (1 Arg, 3 His a 2 Lys) na κ -kaseinové frakci [61]. Dochází k interakci mezi záporně nabitými sulfátovými skupinami karagenanu a kladně nabitou „částí“ κ -kaseinu (celkově nese záporný náboj) [41]. Vzhledem k interakcím mezi karagenany a κ -kaseinem, dochází také k ovlivnění obsahu volných aminokyselin. Bylo zjištěno, že k ovlivnění jednotlivých volných aminokyselin nedochází jen působením kappa nebo ióta karagenanu, ale také působením teploty fermentace. Díky tomu se pak může u jedné aminokyseliny při stejné koncentraci (např. 0,01 %) uplatňovat např. kappa karagenan při 42 °C a ióta karagenan při 37 °C. Nelze tedy přesně říct, který z karagenanů se uplatňuje více či méně.

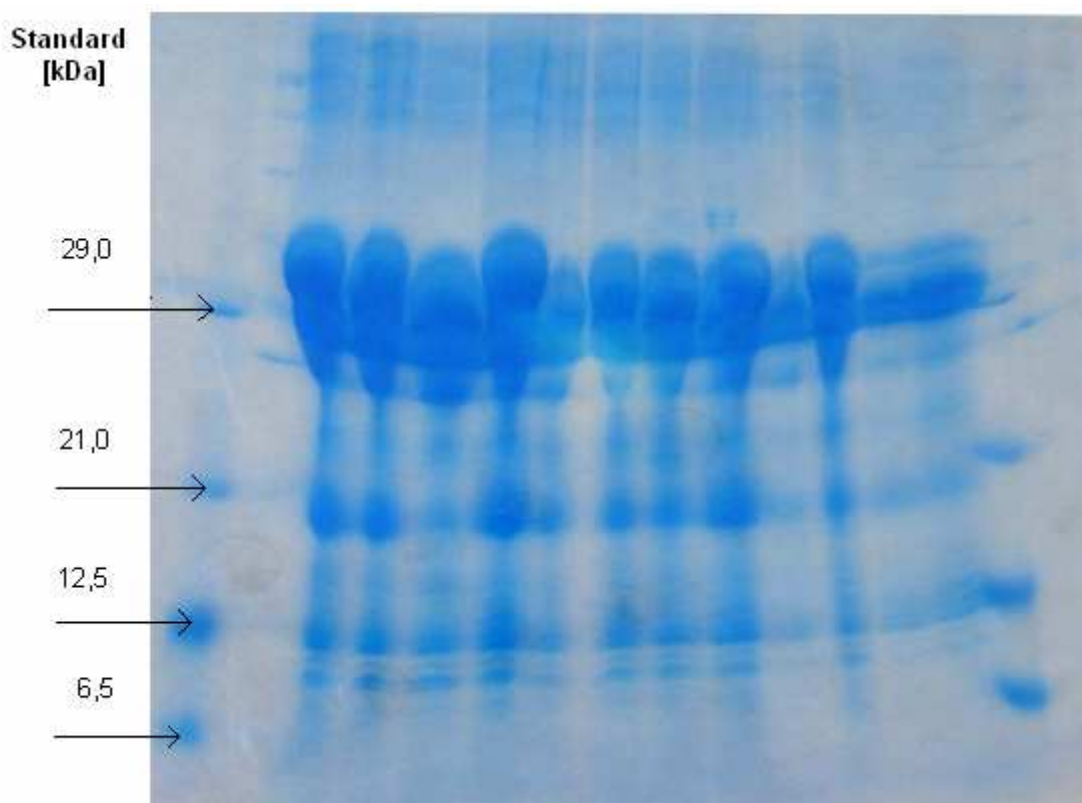
Bylo zjištěno, že přítomnost karagenanů ovlivňuje skladbu volných aminokyselin, proto by bylo zajímavé zaměřit se i fingerprintovou metodou stanovení proteinového profilu fermentovaných mléčných výrobků. Jako ukázka provedeno stanovení proteinového profilu pomocí SDS-PAGE.

7.4 Elektroforetická analýza modelových vzorků jogurtů

Elektroforetické stanovení bylo provedeno u jogurtů bez karagenanů a s obsahem karagenanů. Výsledky jsou zobrazeny na Obrázku 14. a 15. V krajních jamkách každého gelu jsou také zobrazeny standardy, pomocí kterých lze zjistit i přítomnost peptidů o nižší molekulové hmotnosti.



Obrázek 54 Gel se vzorky s obsahem jóda a kappa karagenanů



Obrázek 55 Gel se vzorky bez obsahu jóda a kappa karagenanů

Pomocí SDS-PAGE byly proteiny rozděleny na základě molekulové hmotnosti. Z obrázků gelů lze pozorovat frakce kaseinu, ale i některé nižší peptidy vzniklé pravděpodobně činností peptidáz. Podle molekulové hmotnosti standardu lze přibližně stanovit frakce kaseinu a molekulovou hmotnost peptidů. Nejvyšší zastoupení vykazují kaseiny o molekulové hmotnosti 23 - 29 kDa. Pravděpodobně se může jednat o α_s -kaseiny nebo β -kasein, jejichž molekulová hmotnost se pohybuje do 24 kDa. Poměrně silné zastoupení je i u molekulové hmotnosti 19 kDa, což odpovídá molekulové hmotnosti κ -kaseinu, popř. 18 kDa odpovídá β -laktoglobulinu. Ostatní viditelné frakce mohou být syrovátkové bílkoviny nebo nižší peptidy do molekulové hmotnosti 8,5 kDa. Peptidy s nižší molekulovou hmotností než 8,5 kDa se zřejmě nevyskytují.

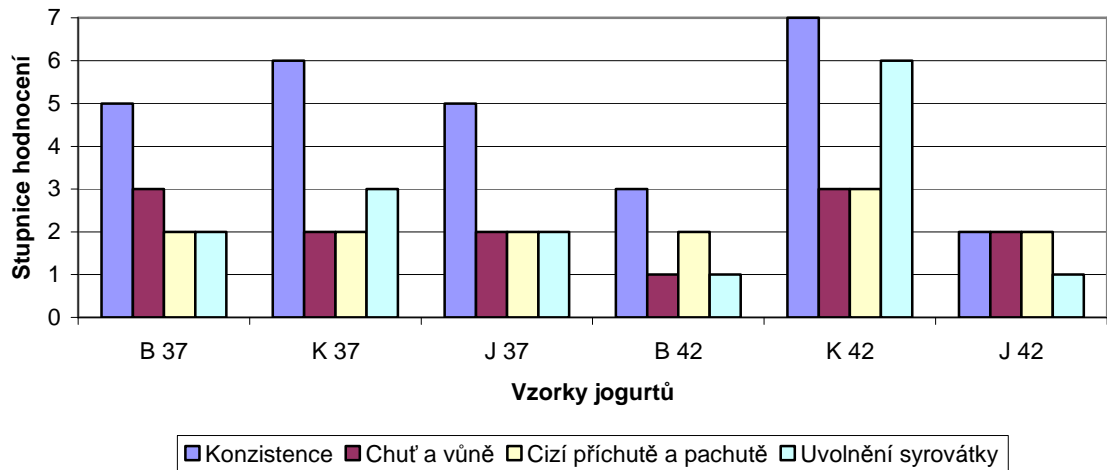
Bohužel nelze takto sledovat peptidy i kaseinové frakce současně. Pokud bychom chtěli sledovat jednotlivé frakce kaseinu, musel by být vzorek zředěn, aby byly jednotlivé frakce zřetelnější, což by negativně ovlivnilo stanovení nižších peptidů. Pokud bychom naopak chtěli stanovit nižší peptidy, musel by se připravit hustší gel. V závislosti na této skutečnosti by tedy muselo dojít k optimalizaci této metody, což by přesáhlo zamýšlený rámec této práce.

7.5 Senzorické hodnocení

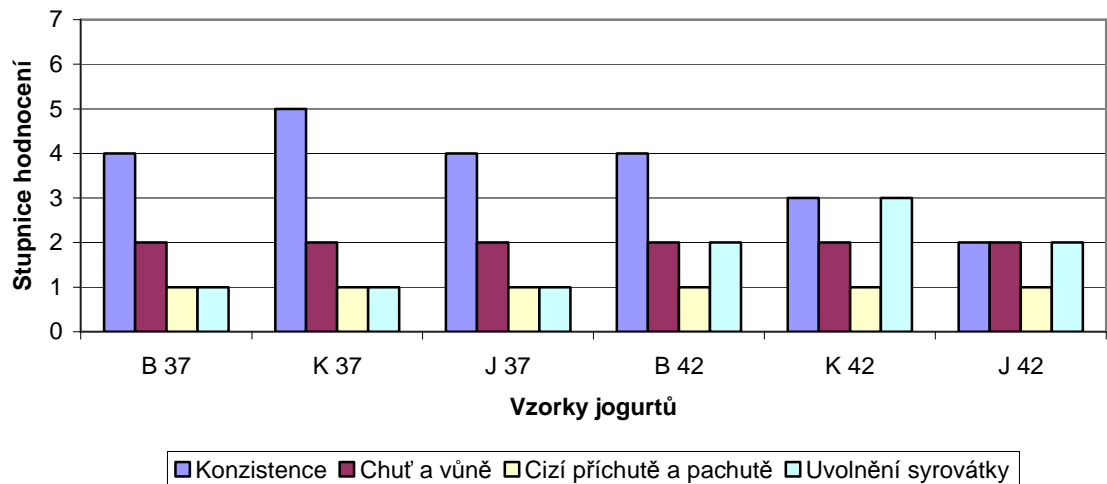
Senzorické hodnocení bylo provedeno u jogurtů s přidavkem karagenanů v koncentraci 0,02 % a 0,01 % a pro srovnání u jogurtů bez karagenanů. Hodnocení provedli 3 posuzovatelé pomocí dotazníku a stupnice uvedené v příloze IV a V. Byly hodnoceny tyto znaky:

- konzistence – 1- velmi tuhý až 7 - rozbředlý, nesoudržný jogurt,
- chuť a vůně – 1 – velmi příjemná, typická až 5 – nevyhovující, netypická pro daný druh jogurtu,
- přítomnost cizích příchutí a pachutí – 1 – bez přítomnosti až 7 – vysoká přítomnost, nevyhovující,
- uvolňování syrovátky – 1 – neuvolňuje se až 7 – zcela uvolněná syrovátka, nevyhovující.

Výsledky sensorického hodnocení pro jednotlivé koncentrace karagenanů ukazují obrázky 56 a 57.



Obrázek 56 Grafické znázornění sensorického hodnocení modelových vzorků jogurtů při koncentraci 0,02 % (vyjádřeno jako medián)



Obrázek 57 Grafické znázornění sensorického hodnocení modelových vzorků jogurtů při koncentraci 0,01 % (vyjádřeno jako medián)

Z obrázku 56 vyplývá, že při koncentraci karagenanů 0,02 % vykazoval rozbředlou konzistenci vzorek K42. Méně soudržná konzistence byla i u vzorku K37. Ostatní vzorky vykazovaly standardní tuhost. Hodnocení chuti a vůně bylo téměř u všech jogurtů

optimální, kromě vzorků B37 a K42, kde byly menší odchylky. Slabá přítomnost cizích příchutí a pachutí byla u vzorku K42. U stejného vzorku došlo také k vysokému uvolnění syrovátky. Slabé uvolnění syrovátky vykazoval vzorek K37.

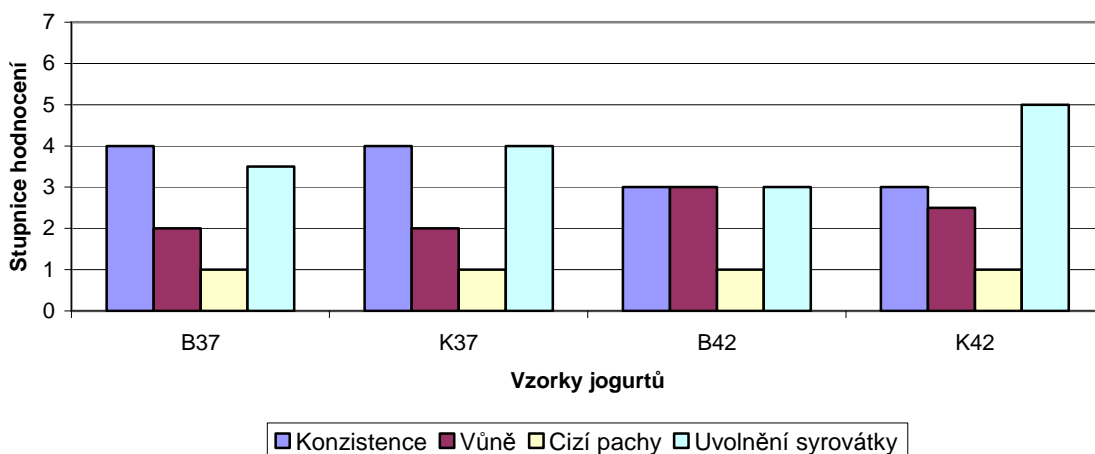
U koncentrace karagenanů 0,01 % (obrázek 56) vzorky jogurtů vykazovaly spíše optimální tuhost, avšak mírně řidší byl vzorek K37. Hodnocení chuti a vůně bylo u všech vzorků jogurtů optimální. Všechny vzorky byly také bez přítomnosti cizích příchutí a pachutí. Slabé uvolnění syrovátky bylo u vzorku K42, u ostatních vzorků jogurtů bylo buď velmi slabé uvolnění syrovátky nebo žádné.

Senzorické hodnocení κ -karagenanu

Na základě předchozí senzorické analýzy bylo provedeno senzorické hodnocení vzorků s κ -karagenanem. Výběr tohoto karagenanu byl proveden také z toho důvodu, že je v mlékárenském průmyslu hojněji využíván [36]. Senzorické hodnocení bylo provedeno 12-ti posuzovateli a byly hodnoceny 4 znaky:

- konzistence – 1- velmi tuhý až 7 - rozbředlý, nesoudržný jogurt,
- vůně – 1 – velmi příjemná, typická až 5 – nevyhovující, netypická pro daný druh jogurtu,
- přítomnost cizích pachů – 1 – bez přítomnosti až 7 – vysoká přítomnost, nevyhovující,
- uvolňování syrovátky – 1 – neuvolňuje se až 7 – zcela uvolněná syrovátka, nevyhovující.

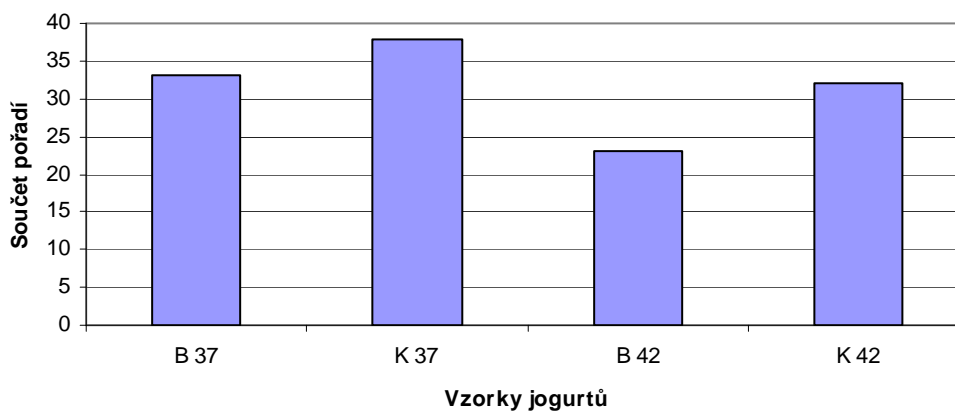
Dotazník a stupnice pro senzorické hodnocení jsou uvedeny v příloze PVI a PVII. Výsledky zkoušky se stupnicí jsou zaznamenány v grafu 44.



Obrázek 58 Grafické znázornění sensorického hodnocení modelových vzorků jogurtů s κ -karagenanem (vyjádřeno jako medián)

Na základě Kruskal-Wallisova testu bylo zjištěno, že na hladině významnosti 5 % byl shledán statisticky významný rozdíl u znaku vůně mezi vzorky K37 a K42. Statisticky významný rozdíl byl shledán také u znaku uvolnění syrovátky mezi vzorky K37 a K42, dále mezi vzorky B37 a K42. Při hodnocení ostatních znaků nezaznamenali posuzovatelé žádný statisticky významný rozdíl mezi předloženými vzorky.

Kromě zkoušky se stupnicí byla provedena i pořadová zkouška. Cílem bylo seřadit předložené vzorky jogurtů podle tuhosti (1 – nejtužší, 4 – nejméně tuhý). Výsledek je znázorněn v grafu 45.



Obrázek 59 Grafické znázornění sensorického hodnocení tuhosti - pořadová zkouška

Na základě pořadové zkoušky bylo zjištěno, že největší tuhost podle posuzovatelů vykazoval vzorek B 42, naopak nejméně tuhý byl vzorek K 37. Ostatní vzorky B 37 a K 42 vykazovaly zřejmě průměrnou tuhost. Dle programu StatK25 bylo zjištěno, že na hladině významnosti 5,00 % existuje mezi vzorky jako celkem statisticky významný rozdíl ve sledovaném znaku.

U rozdílové zkoušky na hladině významnosti 5,00 % nebyl shledán mezi vzorky statisticky významný rozdíl.

ZÁVĚR

Karagenany mají široké uplatnění v potravinářském průmyslu kde působí jako zahušťující a želírující látky, jako stabilizátory a emulgátory. Jejich významnou vlastností je reakce s proteiny. Cílem diplomové práce bylo zjistit vliv karagenanů na skladbu volných aminokyselin a na senzoričké vlastnosti modelových vzorků jogurtů.

Z výsledků hodnocení modelových vzorků jogurtů lze vyvodit tyto závěry:

- při přidavku jóta a kappa karagenanů v koncentracích 0,15 %, 0,077 % a 0,038 % došlo k vytvoření pevného agregátu a výsledkem bylo nadměrné uvolnění syrovátky,
- koncentrace 0,019 % karagenanů byla vyhovující pouze pro jóta karagenan,
- vyhovující koncentrace pro oba karagenany byla 0,0096 %,
- teplota fermentace ovlivňuje skladbu aminokyselin. Při teplotě 42 °C byl obsah 10 ze 17 zkoumaných aminokyselin vyšší než při teplotě 37 °C. Příčinou byla činnost proteolytického systému laktobacila. Při 37 °C došlo k poklesu množství u sedmi aminokyselin, které byly spotřebovány streptokokem nebo byly přeměněny na mastné kyseliny,
- přítomnost jóta a kappa karagenanů obecně zvyšují obsah volných aminokyselin. Pouze u dvou aminokyselin došlo k poklesu jejich obsahu. Srovnáním působení jóta a kappa karagenanů se došlo k závěru, že působí na skladbu volných aminokyselin různě v závislosti na jejich koncentraci a teplotě fermentace. Nelze tedy přesně říct, který z nich se uplatňuje více, či méně,
- přidání kappa karagenan v koncentraci 0,01 % ovlivnil senzoričké vlastnosti modelových vzorků jogurtů.

Tyto výsledky dokazují, že přítomnost karagenanů ovlivňuje některé vlastnosti fermentovaných mléčných výrobků. Pro konkrétnější výsledky by byla potřebná další práce, která se kromě proteolytických změn bude zabývat také texturní charakteristikou a studií mikrostruktury.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Vyhláška č.77/ 2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje v platném znění
- [2] ŠTÍPKOVÁ, J. Historie průmyslové výroby kysaných výrobků – jogurtů – od nového produktu z 30.let 20.století k dnešku, *Potravinářský zpravodaj*, č. 3, Praha, 2007
- [3] PIJANOWSKI, E., *Základy chemie a technologie mlékárenstva*, Příroda, Bratislava, 1977
- [4] TAMIME, A., Y., ROBINSON, R., K., *Yoghurt science and technology*, Woodhead Publishing Limited, England, 1999
- [5] HYLMAR, B. *Výroba kysaných mléčných výrobků*, SNTL, Praha 1986
- [6] ZOURARI, A., ACCOLAS, J. P, DESMAZEAUD, M.J. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review, *Lait*, 72, 1992
- [7] SZŠ Karviná, [online]. [cit. 2009-03-12]. Dostupný z WWW : <www.sszdra-karvina.cz/bunka/bi/05met/metg.htm> ,
- [8] LAW, B., A, KOLSTAD, J. Proteolytic systems in lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 49, 1983
- [9] HRČKOVÁ, M. ŠTURDÍK, E., MALAR, T. a ZEMANOVIČ, J. Biochemické vlastnosti proteolytických enzymů, *Chemické listy*, 98, 2004
- [10] KUNJI, E.,R., S., MIREAU, I., HAGRING, A., POOLMAN, B., KONINGS, W., N., *The proteolytic systems of lactic acid bacteria*, *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 70, 1996
- [11] BESHKOVA, D., M., SIMOVA, E., D., FRENGOVA, G., I., SIMOV, Z., I., ADILOV, E., F., Production of amino acids by yogurt bacteria, *Biotechnology Progress*, vol. 14, 1998
- [12] GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství*, skripta MZLU, Brno, 1998,
- [13] SLOCUM, S., A., JASINSKI, E., M., KILARA, A., Processing variables affecting proteolysis in yogurt during incubation, *Journal of Dairy Science*, vol. 71, 1988

- [14] SHIHATA, A., SHAH, N., P., Proteolytic profiles of jogurt and probiotic bakteria, *International Dairy Journal*, vol. 10, 2000
- [15] JAROS, D., ROHM, H. Controlling the texture of fermented dairy products, *Dairy processing*, Woodhead publishing, Germany, 2003
- [16] KADLEC, P., *Technologie potravin II*, skripta VŠCHT Praha, 2002
- [17] PAVELKA, A. : *Mléčné výrobky pro vaše zdraví*, Littera, Brno, 1996
- [18] Elektronická skripta, *Mlékárenská technologie I*, Cepac, 2007
- [19] LUKÁŠOVÁ, J., Hygiena a technologie mléčných výrobků, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2001
- [20] TEPLÝ, M., *Čisté mlékařské kultury*, SNTL, Praha, 1984
- [21] MAŠEK, J., MAXA, V., TEPLÝ, M. *Kontrola jakosti mlékařských kultur a zákysů*, SNTL, Praha, 1960
- [22] ČURDA, L., HOLUBOVÁ, J., RUDOLFOVÁ, J., NĚMEČKOVÁ, I., *Stabilita galaktooligosacharidů ve fermentovaných mléčných výrobcích a jejich vliv na probiotické kultury*, [online]. [cit. 2009-04-16]. Dostupný z WWW: <http://www.institut-danone.cz/data/studie/pridelene-granty/2004-04.pdf>
- [23] KLAZAN, V. *Ilustrovaný mikrobiologický slovník*, Galén, Praha , 2005
- [24] TEPLÝ, M. a kol.: *Kefír, jogurt, acidofilní a jiné kyselky*, SNTL, Praha, 1968
- [25] ROBINSON, R. K. Fermented milks – yoghurt, *Yoghurt science and technology*, Woodhead publishing Ltd, England, 1999
- [26] NOBLE, P., W., *Fundamentals of dairy chemistry*, Chapman and Hall, New York, 1988
- [27] NAMPOOTHIRI, K.,M. Fermentative production of gellan using *Sphingomonas paucimobilis*, *Process biochemistry*, 2003
- [28] O'CONNOR, E., B., BARRETT, E., FITZGERALD, G., HILL, C., STANTON, C., ROSS, R., P., Production of vitamins, exopolysaccharides and bacteriocins by probiotic bacteria; *Probiotic Dairy Products*, Blackwell Publishing, Oxford, 2005

- [29] KÁNSKÝ, J., ŠTĚTINA, J. *Exopolysacharidy bakterií mléčného kvašení*, sborník Celostátní přehlídky sýrů, Česká společnost chemická, Praha, 2006
- [30] STRMISKA, J. a kol. *Výroba tvarohu a tvarohových specialit : Nové technologie*, SNTL, Praha, 1991
- [31] Wikipedia, encyklopedie [online]. [cit. 2009-02-11]. Dostupný z WWW:
<<http://cs.wikipedia.org/wiki/Gel>>
- [32] Informační centrum bezpečnosti potravin, *Karagenany* [online]. [cit. 2009-03-23]. Dostupný z WWW: <http://www.agronavigator.cz/az/vis.aspx?id=76558>>
- [33] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 1*, OSSIS, Tábor, 1999
- [34] CHAPLIN, M., *Water structure and science*, [online]. [cit. 2009-03-15].
Dostupný z WWW : <http://www.lsbu.ac.uk/water/hycar.html>
- [35] HVÍZDALOVÁ, I., *Potravní doplňky a přídatné látky používané v masném průmyslu*, [online]. [cit. 2008-09-20]. Dostupný z WWW:
<www.agronavigator.cz>
- [36] IMESON, A., P. Carrageenan, *Handbook of hydrocoloids*, Woodhead publishing Ltd, Cambridge, 2000
- [37] LANGENDORFF, V., CUVELIER, G., LAUNAY, B. Casein micelle/iota carragenan interactions in milk: influence of temperature, *Food Hydrocolloids*, vol.13, 1999
- [38] SYRBE, A., BAUER, W., J., KLOSTERMEYER, H. Polymer science concepts in dairy systems - An overview of milk protein and food hydrocolloid interaction, *Int. Dairy Journal*, vol. 8, 1998
- [39] *FMC BioPolymer*, [online]. [cit. 2008-08-06]. Dostupný z WWW:
<www.fmcbiopolymer.com>
- [40] *Cargill texturizing solution*, [online]. [cit. 2008-08-30]. Dostupný z WWW:
<www.cargilltexturizing.com>,

- [41] GARNIER, C., MICHON, C., DURAND, S., CUVELIER, G., DOUBLIER, J.-L., LAUNAY, B., Iota-carrageenan/casein micelles interactions: evidence at different scales, *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, vol. 31, 2003
- [42] LANGENDORFF, V., CUVELIER, G., MICHON, C., LAUNAY, B., PARKER, A., DE KRUIF, C., G., Effect of carrageenan type on the behaviour of carrageenan/milk mixtures, *Food hydrocolloids*, vol. 14, 2000
- [43] *Produkty firmy CP Kelco*, [online]. [cit. 2008-09-13]. Dostupný z WWW: <www.cpkelco.com/products/index.html>
- [44] ARLTOFT, D., IPSEN, R., MADSEM, F., DE VRIES, J., Interactions between carrageenans and milk proteins: A microstructural and rheological study, *Biomacromolecules*, vol.8, 2007
- [45] *Emulgátory*, [online]. [cit. 2009-02-23]. Dostupný z WWW : <<http://www.emulgatory.cz/seznam-ecek?prisada=E407>>,
- [46] SAINT-EVE, A., JUTEAU, A., ATLAN, S., MARTIN, N., SOUCHON, I., Complex viscosity induced by protein composition variation influences the aroma release of flavored stirred yogurt, *Journal of Agricultural and food chemistry*, vol. 54, 2006
- [47] SAINT-EVE, A., LÉVY, C., MARTIN, N., SOUCHON, I., Influence of proteins on the perception of flavored stirred yogurts, *Journal of Dairy science*, vol.89, 2006
- [48] SODINI, I., LUCAS, A., OLIVEIRA, M., N., REMEUF, F., CORRIEU, G., Effect of milk base and starter culture on acidification, texture, and probiotic cell counts in fermented milk processing, *Journal of Dairy science*, vol. 85, 2002
- [49] VLČKOVÁ, O., *Studium změn jakosti sterilovaných tavených sýrů během skladování*, Zlín, UTB ve Zlíně, 2007
- [50] *Analyzátor aminokyselin AAA 400, Návod k obsluze. Chemická část*, IGNOS, s.r.o., Praha, 2006
- [51] BUŇKOVÁ, L. *Návody na laboratorní cvičení z Molekulární genetiky*, UTB Zlín, 2008

- [52] PACHLOVÁ, V. *Studium proteinového profilu vybraných mléčných produktů*, Zlín, UTB ve Zlíně, 2008
- [53] ČSN EN ISO 8589: Senzorická analýza. Obecná směrnice pro uspořádání senzorického pracoviště, ČNI Praha, 1993
- [54] PUVANENTHIRAN, A., GODDARD, S., J., MCKINNON, I., R., AUGUSTIN, M., A., Milk-based gels made with κ -carrageenan, *Journal of Food Science*, vol.68, 2003
- [55] PALENCIA, F.,P., FELIPE, L., F., REQUENA, T., PELÁEZ, C., The aminopeptidase C (PepC) from lactobacillus helveticus CNRZ32. A komparative study of PepC from lactic acid bacteria, *Europia food research and technology*, vol. 212, 2000
- [56] CHRISTENSEN, J., E., DUDLEY, E., G., PEDERSON, J., A., STEELE, J., L., Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 76, 1999
- [57] SIMOVA, E., SIMOV, Z., BESHKOVA, D., FRENGOVA, G., DIMITROV, Z., SPASOV, Z., Amino acid profile of lactic acid bacteria, isolates from kefir grains and kefir starter made from them, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 107, 2006
- [58] [online]. [cit. 2009-04-7] Dostupný z WWW : <http://web.chemistry.gatech.edu/%7Ewilliams/bCourse_Information/4581/techniques/gel_elect/page_protein.html>
- [59] PUVANENTHIRAN, A., GODDARD, S., J., AUGUSTIN, M., A., Gelation of mixed gels containing κ -carrageenan and skim milk components, *Journal of Food Science*, vol. 67, 2002

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BMK	Bakterie mléčného kvašení
ČMK	Čisté mlékařské kultury
EPS	Exopolysacharidy
AMK	Aminokyseliny
SDS-PAGE	Sodium dodecylsulfát polyakrylamidová gelová elektroforéza

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Biochemie přeměny glukózy na kyselinu mléčnou [7]	11
Obrázek 2 Schéma výroby fermentovaných mléčných výrobků [33]	16
Obrázek 3 Znázornění kysací křivky jogurtových kultur při různých teplotách.....	20
Obrázek 4 Dlouhé řetězce koků (<i>S. thermophilus</i>), tyčinky (<i>L. bulgaricus</i>) [25].....	21
Obrázek 5 Znázornění zdravé kultury <i>S. thermophilus</i> (A) a kultury napadené virulentním bakteriofágem (B) [4].....	22
Obrázek 6 Obecná strukturní jednotka karagenanu [34]	28
Obrázek 7 Gelace kappa a iota karagenanů v přítomnosti kationů [36]	29
Obrázek 8 Struktura kappa karagenanu [34]	30
Obrázek 9 Struktura iota karagenanu [34]	30
Obrázek 10 Struktura lambda karagenanu [34]	31
Obrázek 11 Přídavek karagenanů po částech a za stálého míchání [39]	37
Obrázek 12 Analyzátor aminokyselin AAA 400 [50]	38
Obrázek 13 Grafické znázornění časového průběhu pH laktobacilů při teplotě 37 °C	40
Obrázek 14 Grafické znázornění časového průběhu pH laktobacilů při teplotě 42 °C	41
Obrázek 15. Jogurt s obsahem jóta karagenanu o koncentraci 0,15 %	42
Obrázek 16 Modelové vzorky jogurtů s použitím jóta (vlevo) a kappa (vpravo) karagenanů bez přítomnosti mikroorganismů.....	43
Obrázek 17 Grafické znázornění výše hodnot pH při různé koncentraci karagenanů při teplotě 37 °C	43
Obrázek 18 Grafické znázornění výše hodnot pH při různé koncentraci karagenanů při teplotě 42 °C	44
Obrázek 19 Grafické znázornění obsahu volných aminokyselin u jogurtů bez karagenanů.....	45
Obrázek 20 Obsah volného fenylalaninu v modelových vzorcích jogurtů.....	46

Obrázek 21 Obsah volného lyzinu v modelových vzorcích jogurtů.....	46
Obrázek 22 Obsah volné kyseliny glutamové v modelových vzorcích jogurtů.....	46
Obrázek 23 Obsah volné kyseliny asparagové v modelových vzorcích jogurtů.....	47
Obrázek 24 Obsah volné kyseliny cysteové v modelových vzorcích jogurtů.....	47
Obrázek 25 Obsah volného serinu v modelových vzorcích jogurtů	48
Obrázek 26 Obsah volného ornitinu v modelových vzorcích jogurtů	48
Obrázek 27 Obsah volného tyrozinu v modelových vzorcích jogurtů.....	48
Obrázek 28 Obsah volného valinu v modelových vzorcích jogurtů.....	49
Obrázek 29 Obsah volného histidinu v modelových vzorcích jogurtů.....	49
Obrázek 30 Obsah volného alaninu v modelových vzorcích jogurtů	50
Obrázek 31 Obsah volného glycinu v modelových vzorcích jogurtů	50
Obrázek 32 Obsah volného leucinu v modelových vzorcích jogurtů	50
Obrázek 33 Obsah volného izoleucinu v modelových vzorcích jogurtů	51
Obrázek 34 Obsah volného prolinu v modelových vzorcích jogurtů	51
Obrázek 35 Obsah volného argininu v modelových vzorcích jogurtů.....	51
Obrázek 36 Obsah volného citrulinu v modelových vzorcích jogurtů	52
Obrázek 37 Obsah volné kyseliny cysteové v modelových vzorcích jogurtů.....	53
Obrázek 38 Obsah volného lyzinu v modelových vzorcích jogurtů.....	54
Obrázek 39 Obsah volného citrulinu v modelových vzorcích jogurtů	54
Obrázek 40 Obsah volného histidinu v modelových vzorcích jogurtů.....	55
Obrázek 41 Obsah volného tyrozinu v modelových vzorcích jogurtů.....	55
Obrázek 42 Obsah volného valinu v modelových vzorcích jogurtů.....	56
Obrázek 43 Obsah volného fenylalaninu v modelových vzorcích jogurtů.....	56
Obrázek 44 Obsah volného argininu v modelových vzorcích jogurtů.....	56
Obrázek 45 Obsah volného prolinu v modelových vzorcích jogurtů	57

Obrázek 46 Obsah volného glycinu v modelových vzorcích jogurtů	57
Obrázek 47 Obsah volného ornitinu v modelových vzorcích jogurtů	58
Obrázek 48 Obsah volného serinu v modelových vzorcích jogurtů	58
Obrázek 49 Obsah volné kyseliny glutamové v modelových vzorcích jogurtů.....	59
Obrázek 50 Obsah volného leucinu v modelových vzorcích jogurtů	59
Obrázek 51 Obsah volné kyseliny asparagové v modelových vzorcích jogurtů.....	60
Obrázek 52 Obsah volného izoleucinu v modelových vzorcích jogurtů	60
Obrázek 53 Obsah volného alaninu v modelových vzorcích jogurtů	61
Obrázek 54 Gel se vzorky s obsahem ióta a kappa karagenanů	63
Obrázek 55 Gel se vzorky bez obsahu ióta a kappa karagenanů	63
Obrázek 56 Grafické znázornění sensorického hodnocení modelových vzorků jogurtů při koncentraci 0,02 % (vyjádřeno jako medián)	65
Obrázek 57 Grafické znázornění sensorického hodnocení modelových vzorků jogurtů při koncentraci 0,01 % (vyjádřeno jako medián)	65
Obrázek 58 Grafické znázornění sensorického hodnocení modelových vzorků jogurtů s κ -karagenanem (vyjádřeno jako medián).....	67
Obrázek 59 Grafické znázornění sensorického hodnocení tuhosti - pořadová zkouška.....	67
Obrázek 60 Znázornění aparatury pro SDS-PAGE [58].....	82

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Rozpustnost karagenanů [43]	32
---------------------------------------------	----

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: PŘÍPRAVA MLÉČNÉ SMĚSI.....	79
PŘÍLOHA P II: NÁVOD A SLOŽENÍ GELŮ PRO SDS-PAGE.....	80
PŘÍLOHA P III: ROZTOKY PRO SDS-PAGE.....	83
PŘÍLOHA P IV: DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ.....	85
PŘÍLOHA P V: STUPNICE PRO HODNOCENÍ JOGURTŮ.....	86
PŘÍLOHA P VI: DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ	88
PŘÍLOHA P VII: STUPNICE PRO HODNOCENÍ JOGURTŮ.....	89
PŘÍLOHA P VIII: MODELOVÉ VZORKY JOGURTŮ S KONCENTRACÍ KARAGENANŮ 0,15 %.....	91
PŘÍLOHA P IX: MODELOVÉ VZORKY JOGURTŮ S KONCENTRACÍ KARAGENANŮ 0,077 %	93
PŘÍLOHA P X: MODELOVÉ VZORKY JOGURTŮ S KONCENTRACÍ KARAGENANŮ 0,038 %.....	95
PŘÍLOHA P XI: MODELOVÉ VZORKY JOGURTŮ S KONCENTRACÍ KARAGENANŮ 0,019 %.....	97
PŘÍLOHA P VIII: MODELOVÉ VZORKY JOGURTŮ S KONCENTRACÍ KARAGENANŮ 0,0096 %.....	99

PŘÍLOHA PI: PŘÍPRAVA MLÉČNÉ SMĚSI

Použitý materiál:

Jihočeské UHT mléko plnotučné trvanlivé, 3,5 % tuku, Madeta, České Budějovice

Nízkotučné UHT mléko trvanlivé, 0,5 % tuku, Tatra, Mlékárna Hlinsko

Sušené mléko Laktino, 1,3 % tuku, Promil, Nový Bydžov

Poměr jednotlivých druhů:

Plnotučné mléko: nízkotučné mléko: sušené mléko odtučněné = 820 g/l (=797 ml/l) : 131 g/l (=127 ml/l) : 49 g/l

Kdy obsah tuku u takto připraveného jogurtu je přibližně 3 % a tukuprosté sušiny 13%.

PŘÍLOHA PII: SDS-PAGE

Podstatou této separace je přítomnost aniontového detergentu dodecylsulfátu sodného (SDS), který se shodně váže na všechny bílkoviny v poměru 1,4 g SDS / 1 g bílkoviny. Navázáním SDS mění proteiny svoji konformaci. K této změně může dojít až po rozštěpení disulfidických můstků v molekule proteinu, což zajišťuje např. merkaptopethanol. K dokonalému navázání SDS je nutné vystavit vzorky vysoké teplotě. Výsledný komplex SDS-bílkovina získá záporný náboj a umožní pohyb všech molekul vzorku v elektrickém poli stejným směrem. Jako porézní matrice slouží polyakrylamidový gel [51].

Příprava vzorků

100 μ l vzorku jogurtu

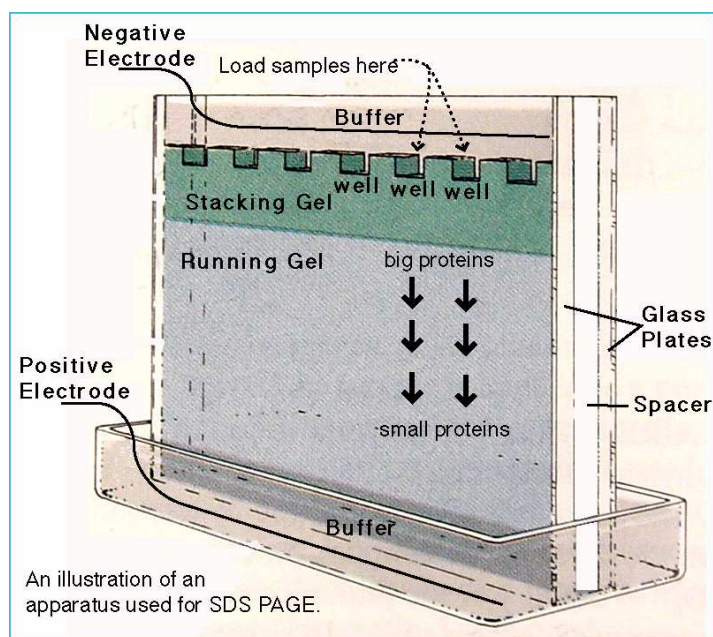
20 μ l 20 % SDS

10 μ l merkaptoethanolu

70 μ l vzorkového pufru

Vzorky byly dobře promíchány a inkubovány při teplotě 100 °C po dobu 10 minut.

Vertikální elektroforetická aparatura byla tvořena z vlastní vany, víka, dvou tvarovaných skel v párovém uspořádání, teflonovým mezerníkem (těsnění) a hřebínkem.



Obrázek 60 Znárodnění aparatury pro SDS-PAGE [58]

15 % separační gel

30% roztok akrylamidu	31,50 ml
Tris pufr, pH 8,8	15,75 ml
Deionizovaná voda	14,49 ml
20% SDS (Serva)	315 µl
10% persíran amonný (Serva)	630 µl
<i>N,N,N',N'</i> -tetra-metylendiamin (TEMED, [Serva])	25,2 µl

Roztok persíranu amonného byl připraven čerstvý před každou elektroforézou. Po přidání persíranu amonného a TEMEDu byl roztok dobře promíchán a ihned aplikován pomocí pasturovy pipety mezi skla do výšky cca 15 cm tak, aby nedošlo ke vzniku bublin. Pro získání hladkého povrchu a zamezení polymerace na vzduchu byl gel přelit 1 ml vodou nasyceného izobutanolu. Polymerace probíhala při pokojové teplotě. Po 45 minutách byla vrstva izobutanolu slita a povrch gelu byl opláchnut destilovanou vodou. Zbytky vody byly vysušeny filtračním papírem a byl aplikován 5% koncentrační gel [52].

5 % koncentrační gel

30% roztok akrylamidu	3,4 ml
Tris pufr, pH 6,8	5,0 ml
Deionizovaná voda	11,5 ml
20% SDS	100 µl
10% persíran amonný	100 µl
TEMED	25 µl

Po důkladném promíchání všech komponent byl roztok naléván na ztuhlý separační gel až těsně pod horní hranu skla. Poté byl opatrně vsunut plastový hřeben tak, aby byly z jeho prostoru odstraněny všechny vzduchové bubliny. Takto připravený gel byl přikryt navlhčeným ubrouskem a vložen i se stojanem do lednice a nechal polymerovat do druhého dne. Druhý den byl z gelu opatrně vyjmut hřebínek. Do spodního prostoru aparatury byl nalit elektrodový pufr. Bylo zapnuto chlazení a skla byla upevněna tak, aby byly eliminovány bubliny ve spodní části gelu. Do horní části vany byl nalit elektrodový pufr, tak aby došlo k převrstvení jamek pro nanášení vzorků. Následně byly naneseny vzorky a standardy. Elektroforetická komora byla překryta víkem a připojena ke zdroji stejnosměrného proudu. Po skončení byl z gelu odstraněn koncentrační gel a takto upravený dělicí gel byl fixován fixačním roztokem 30 minut a pak barven roztokem briliant

blue asi hodinu. Poté byl gel odbarvován odbarvovacím roztokem s přídavkem destilované vody. Každý gel se barví samostatně v misce. Misky byly potom umístěny na třepače (BIOSAN Multibio 3D) a roztoky byly odsávány pomocí vakuové pumpy KNF, typ N86KN.18 (KNF Laboport Neuberger, SRN). Obarvené gely byly uchovávány při +4 °C v destilované vodě [52].

PŘÍLOHA P III: ROZTOKY PRO SDS-PAGE

Tris pufr pro separační gel, pH 8,8 [52]

Tris (SERVA) 18,15 g

Deionizovaná voda 50 ml

Pomocí koncentrované HCl (Lach-Ner) upravit pH na hodnotu 8,8 a doplnit deionizovanou vodou do 100 ml. Uchovávat při +4 °C.

Tris pufr pro koncentrační gel, pH 6,8 [52]

Tris (SERVA) 6,0 g

Deionizovaná voda 50 ml

Pomocí koncentrované HCl (Lach-Ner) upravit pH na hodnotu 6,8 a doplnit deionizovanou vodou do 100 ml. Uchovávat při +4 °C.

30% roztok akrylamidu [20]

Akrylamid (SERVA) 29,2 g

N,N'-metylen-bisakrylamid (SERVA) 0,8 g

Doplnit do 100 ml deionizovanou vodou. Uchovávat při +4 °C v tmavé láhvi.

Vzorkový pufr [20]

(0,062 M Tris-HCl, 5% merkaptoetanol a 10% glycerol)

Tris-HCl (SERVA) 0,0977 g

Merkaptoetanol (SERVA) 0,5 g

Glycerol (Lach-Ner) 1,0 g

Bromfenolová modř (SERVA) 0,01 g

Upravit pH na hodnotu 6,8 a doplnit deionizovanou vodou do 10 ml.

Elektrodový pufr dle Laemliho 10x koncentrovaný (SERVA)

- před použitím zředěn deionizovanou vodou v poměru 1:9

Fixační roztok (10% kyselina octová, 30% etanol)

Etanol, 96% (Lach-Ner) 30 ml

Kyselina octová (Lach-Ner) 10 ml

Doplnit do 100 ml deionizovanou vodou.[52]

Barvicí roztok

0,25 % Coomassie Blue R-250 v 50 % (v/v) metanolu a 10 % (v/v) kyselině octové.

Odbarvovací roztok

25 % (v/v) metanol a 10 % (v/v) kyselina octová [51]

Gely byly snímány digitálním fotoaparátem a následně vyhodnocovány.

PŘÍLOHA P IV: DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ

Jméno, Příjmení:

Datum:

Čas:

Hodnocení s použitím stupnic

Proveďte hodnocení sensorických znaků: konzistence, chuť a vůně, cizí pachy a pachutě a uvolnění syrovátky, dle přiložené stupnice

Kód vzorku	Konzistence	Chuť a vůně	Cizí pachy	Uvolnění syrovátky
A				
B				
C				
D				
E				
F				

PŘÍLOHA P V: STUPNICE PRO HODNOCENÍ JOGURTŮ

- 1. Konzistence:**
- 1) velmi tuhý, hutný
 - 2) tuhý
 - 3) mírně tužší
 - 4) standardní tuhost
 - 5) mírně řidký, stále soudržný
 - 6) více řidký, méně soudržný
 - 7) rozbředlý, nesoudržný
- 2. Chuť a vůně:**
- 1) velmi příjemná, typická pro daný výrobek
 - 2) typická, dosti příjemná
 - 3) průměrná, ještě příjemná
 - 4) téměř nevyhovující, téměř nepříjemná
 - 5) nevyhovující, nepříjemná, netypická pro daný výrobek
- 3. Přítomnost cizích příchutí a pachutí:**
- 1) bez přítomnosti
 - 2) velmi slabá, vyhovující
 - 3) slabá, vyhovující
 - 4) mírná, ale ještě vyhovující
 - 5) mírně vyšší, ale stále ještě vyhovující
 - 6) vyšší, téměř nevyhovující
 - 7) vysoká přítomnost, nevyhovující
- 4. Uvolňování syrovátky:**
- 1) neuvolňuje se
 - 2) velmi slabě
 - 3) slabé uvolnění

4) mírně se uvolňuje, ještě vyhovující

5) mírně vyšší

6) vysoké, téměř nevyhovující

7) zcela uvolněná, nevyhovující

PŘÍLOHA PVI: DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ

Jméno, Příjmení:

Datum:

Čas:

1. Pořadová zkouška

Seřadte předložené vzorky podle tuhosti (1 – nejtužší, 4 – nejméně tuhý)

Kód vzorku	A	B	C	D
Pořadí vzorku				

2. Rozdílová zkouška

Který z uvedených vzorků je více tuhý: B nebo C

Který z uvedených vzorků je více tuhý: B nebo A

Který z uvedených vzorků je více tuhý: C nebo D

Který z uvedených vzorků je více tuhý: D nebo B

3. Hodnocení s použitím stupnic

Proveďte hodnocení sensorických znaků: konzistence, vůně, cizí pachy a uvolnění syrovátky, dle přiložené stupnice

Kód vzorku	Konzistence	Vůně	Cizí pachy	Uvolnění syrovátky
A				
B				
C				
D				

PŘÍLOHA PVII: STUPNICE PRO HODNOCENÍ JOGURTŮ

- 1. Konzistence:**
- 1) velmi tuhý, hutný
 - 2) tuhý
 - 3) mírně tužší
 - 4) standardní tuhost
 - 5) mírně řidký, stále soudržný
 - 6) více řidký, méně soudržný
 - 7) rozbředlý, nesoudržný
- 2. Vůně:**
- 1) velmi příjemná, typická pro daný výrobek
 - 2) typická, dosti příjemná
 - 3) průměrná, ještě příjemná
 - 4) téměř nevyhovující, téměř nepříjemná
 - 5) nevyhovující, nepříjemná, netypická pro daný výrobek
- 3. Přítomnost cizích pachů:**
- 1) bez přítomnosti
 - 2) velmi slabá, vyhovující
 - 3) slabá, vyhovující
 - 4) mírná, ale ještě vyhovující
 - 5) mírně vyšší, ale stále ještě vyhovující
 - 6) vyšší, téměř nevyhovující
 - 7) vysoká přítomnost, nevyhovující

- 4. Uvolňování syrovátky:**
- 1) neuvolňuje se
 - 2) velmi slabě
 - 3) slabé uvolnění
 - 4) mírně se uvolňuje, ještě vyhovující
 - 5) mírně vyšší
 - 6) vysoké, téměř nevyhovující
 - 7) zcela uvolněná, nevyhovující

PŘÍLOHA PVIII: MODELOVÉ VZORKY JOGURTŮ S KONCENTRACÍ KARAGENANŮ 0,15 %



Obr. 1 Modelové vzorky jogurtů bez karagenanů při teplotě 37 °C (vlevo), 42°C (vpravo)



Obr. 2 Modelové vzorky jogurtů s použitím íóta (vlevo) a kappa (vpravo) karagenanů bez přítomnosti mikroorganismů



Obr. 3 Modelové vzorky jogurtů s použitím ióta karagenanu při 37 °C (vlevo) a 42 °C (vpravo)



Obr. 4 Modelové vzorky jogurtů s použitím kappa karagenanu při 37 °C (vlevo) a 42 °C (vpravo)

PŘÍLOHA PIX: MODELOVÉ VZORKY JOGURTŮ S KONCENTRACÍ KARAGENANŮ 0,077 %



Obr. 5 Modelové vzorky jogurtů bez karagenanů při teplotě 37 °C (vlevo), 42°C (vpravo)



Obr. 6 Modelové vzorky jogurtů s použitím ióta (vlevo) a kappa (vpravo) karagenanů bez přítomnosti mikroorganismů



Obr. 7 Modelové vzorky jogurtů s použitím ióta karagenanu při 37 °C (vlevo) a 42 °C (vpravo)



Obr. 8 Modelové vzorky jogurtů s použitím kappa karagenanu při 37 °C (vlevo) a 42 °C (vpravo)

PŘÍLOHA PX: MODELOVÉ VZORKY JOGURTŮ S KONCENTRACÍ KARAGENANŮ 0,038 %



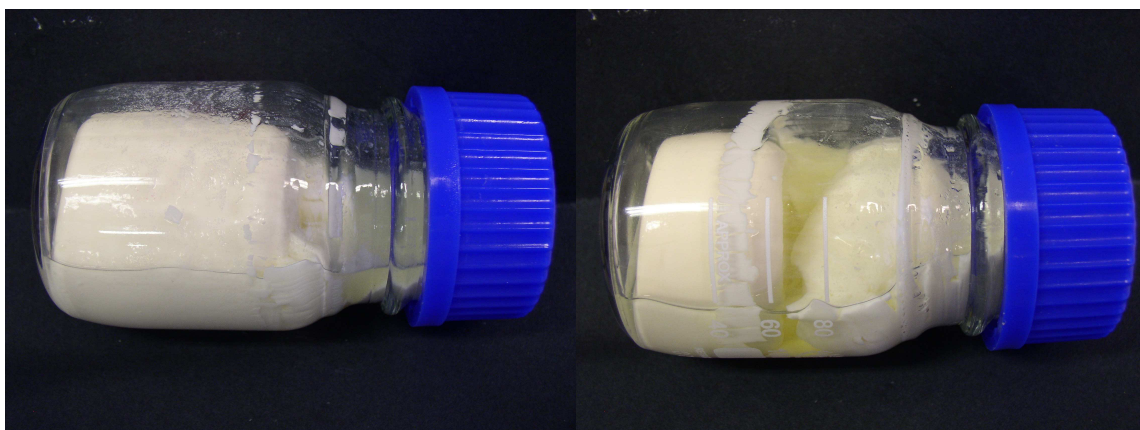
Obr. 9 Modelové vzorky jogurtů bez karagenanů při teplotě 37 °C (vlevo), 42°C (vpravo)



Obr. 10 Modelové vzorky jogurtů s použitím ióta (vlevo) a kappa (vpravo) karagenanů bez přítomnosti mikroorganismů



Obr. 11 Modelové vzorky jogurtů s použitím íóta karagenanu při 37 °C (vlevo) a 42 °C (vpravo)



Obr. 12 Modelové vzorky jogurtů s použitím kappa karagenanu při 37 °C (vlevo) a 42 °C (vpravo)

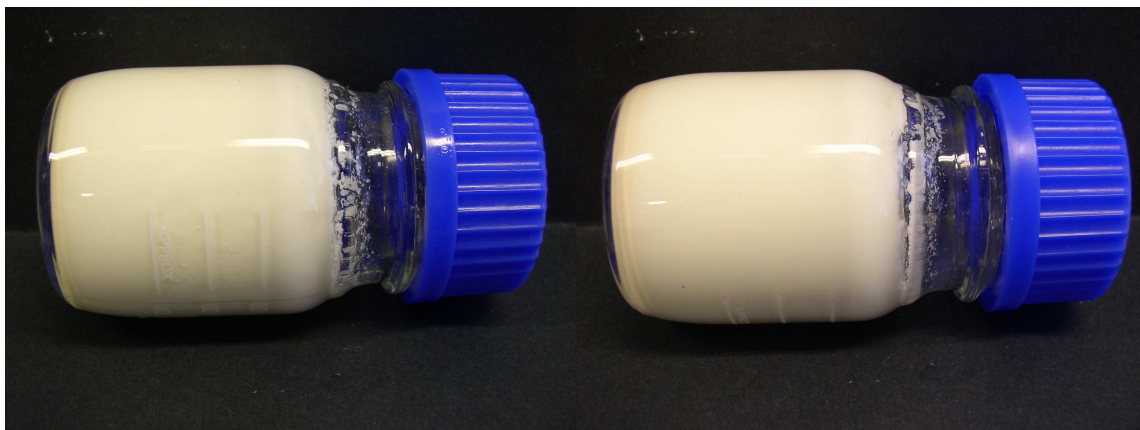
PŘÍLOHA PXI: MODELOVÉ VZORKY JOGURTŮ S KONCENTRACÍ KARAGENANŮ 0,019 %



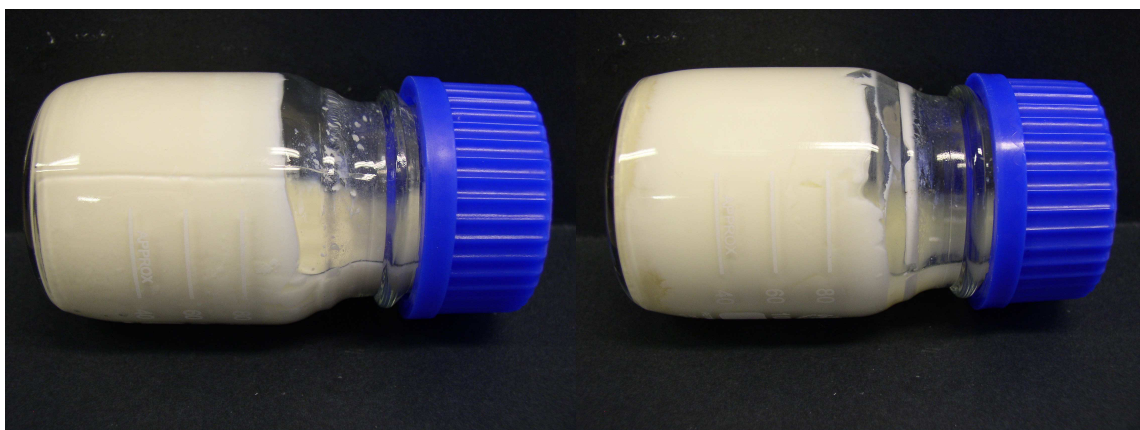
Obr. 13 Modelové vzorky jogurtů bez karagenanů při teplotě 37 °C (vlevo), 42°C (vpravo)



Obr. 14 Modelové vzorky jogurtů s použitím ióta (vlevo) a kappa (vpravo) karagenanů bez přítomnosti mikroorganismů



Obr. 15 Modelové vzorky jogurtů s použitím íóta karagenanu při 37 °C (vlevo) a 42 °C (vpravo)



Obr. 16 Modelové vzorky jogurtů s použitím kappa karagenanu při 37 °C (vlevo) a 42 °C (vpravo)

PŘÍLOHA PXII: MODELOVÉ VZORKY JOGURTŮ S KONCENTRACÍ KARAGENANŮ 0,0096 %



Obr. 17 Modelové vzorky jogurtů bez karagenanů při teplotě 37 °C (vlevo), 42°C (vpravo)



Obr. 18 Modelové vzorky jogurtů s použitím ióta (vlevo) a kappa (vpravo) karagenanů bez přítomnosti mikroorganismů



Obr. 19 Modelové vzorky jogurtů s použitím íóta karagenanu při 37 °C (vlevo) a 42 °C (vpravo)



Obr. 20 Modelové vzorky jogurtů s použitím kappa karagenanu při 37 °C (vlevo) a 42 °C (vpravo)