

## VLIV POČTU BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ, PROBIOTICKÝCH KULTUR A HODNOTY PH V KYSANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH NA JEJICH SENZORICKÉ HODNOCENÍ

H. Šulcerová, R. Burdychová

Došlo: 7. července 2009

### Abstract

ŠULCEROVÁ, H., BURDYCHOVÁ, R.: *Influence of lactic acid bacteria, probiotic cultures and pH value in fermented yoghurt drink to sensory quality*. Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun., 2009, LVII, No. 5, pp. 291–304

Nowadays, we can see on market mainly fermented milk products with addition of probiotic microorganisms, especially strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. We can meet also other types of probiotic products. It is recommended to consume at least 100 grams of fermented milk products with minimal concentration of  $10^6$  of probiotics in one gram or mililitr of product daily for reaching positive effect on men's health. During fermentation of the carbohydrates, proteins and lipids are disunite and many of aromatic compounds are composed. They give a typical sensory characteristic to fermented milk products. For quality and quantity level of probiotics, changes of pH value and sensory quality of five kinds of fermented milk product Yoghurt Drink with different flavour were analyzed during the whole expiration period (28 days). Obtained results were statistically evaluated via the analysis of variance and the method of multiple comparison according to Tukey test ( $P < 0,010$ ) and ( $P < 0,001$ ). During the minimal endurance time lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* sp. were evaluated and changes of descriptors and pH value were detected. Number of LAB was up to  $10^7$  CFU/ml in all samples during 28 days of analysis. Only at sample 2 the number of LAB was  $10^6$  CFU/ml. *Bifidobacterium* sp. grew about degree. The number of LAB and *Bifidobacterium* sp. of yoghurt drink correspond with public notice number 77/2003 Sb, LAB  $10^7$  nad *Bifidobacterium* sp.  $10^6$  KTJ/ml. During 28 days of storage the pH value decreased. The biggest pH drop was recorded between 21. and 28. days of storage in all samples. The beginning pH value was 4.03–4.07 and the final value was between 3.80–3.95. The results of sensory evaluation processed by analysis of dispersion according to type were statistically conclusive in descriptors thickness, texture, intensity of smell, pleasantness of taste and general impression. The results of sensory evaluation processed by analysis of dispersion according to days of storage were statistically conclusive in descriptor pleasantness of smell.

probiotic microorganisms, lactic acid bacteria, *Bifidobacterium*, fermented milk products, sensory analysis, pH value, health benefits of probiotics

Probiotika můžeme definovat jako živé mikroorganismy přidávané do potravin, které příznivě ovlivňují zdraví konzumenta zlepšením rovnováhy jeho střevní mikroflóry (FULLER, 1989). Ukazuje se však, že nejenom živé mikroorganismy, ale i jejich neživé formy a určité složky buněčných stěn mikroorganismů mohou konzumenta pozitivně ovlivňovat. Navrhuje se proto nová definice probiotik, která

by tuto skutečnost zahrnovala (SALMINEN, 1999; RADA 2008).

Bakterie s probiotickými účinky, které se používají při výrobě mléčných výrobků, patří do skupiny bakterií mléčného kvašení (BMK) a bifidobakterií. Spadají sem druhy rodů *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus* a *Bifidobacterium* (TAMIME, 2005; BURDYCHOVÁ, 2007). Probiotické mikroorganismy musí

být schopny odolávat nepříznivým podmínkám, které panují v celém trávicím traktu (KVASNIČKOVÁ, 2000; GÖRNER a VALÍK, 2004). Pokud jde o výběr vhodných kmenů bakterií, musí se přihlížet k hlediskům, které zahrnují původ, spolehlivou identifikaci, bezpečnost a odolnost probiotik vůči mutacím a stresům vyvolaných prostředím a nepříznivými podmínkami. U probiotického kmene musí být prokázáno, že je humánního původu a že je pro lidský organismus neškodný. Dále se musí přihlížet k funkčním hlediskům, která představují přínos pro konzumenta a v neposlední řadě k technologickým vlastnostem (GIBSON a WILLIAMS, 2000; PLOČKOVÁ 2002).

Během fermentace dochází k mnoha biochemickým reakcím. Tyto jsou ovlivněny druhem mikroorganismu, vlastnostmi suroviny a vnějšími podmínkami jak v průběhu fermentace, tak při skladování. Dochází k částečnému štěpení sacharidů (ALEXSSON, 1998; CUPÁKOVÁ a kol., 2002; WALSTRA a kol., 2006), proteinů (ENGELS a kol., 2002; PERPÈTE a kol., 2003) a lipidů (HOZA a kol., 2006; FERON a WACHÉ, 2006), čímž se zlepšuje vstřebatelnost a využitelnost složek mléka, ale také dochází ke vzniku aromatických sloučenin, které dávají kysaným mléčným výrobkům charakteristické organoleptické vlastnosti (FERON a WACHÉ, 2006; TSAKALIDOU a KOTZEKIDOU, 2006). Dochází ke vzniku mnoha látek, které mohou ovlivnit chuť, vůni i texturu finálního výrobku jak pozitivním, tak i negativním způsobem. Za podstatné senzorycky aktivní látky vznikající během fermentace se považuje etanol, acetoin, 2,3-butandiol, mastné kyseliny s krátkým řetězcem, laktony, metylketony, aldehydy, pyraziny, sirné sloučeniny a estery. Výběr vhodných probiotických kultur závisí i na jejich schopnosti vytvořit příznivé organoleptické vlastnosti potravin (TANNOCK, 2005).

Tato práce se zabývá sledováním změn počtu bakterií mléčného kvašení a počtu probiotických kultur v kysaných mléčných nápojích v průběhu doby použitelnosti (28 dnů) v závislosti na změně hodnot pH a změně senzorycké jakosti. Cílem bylo stanovit počty bakterií mléčného kvašení a bifidobakterií ve vztahu k požadovanému množství dle vyhlášky č. 77/2003 Sb., která udává požadavek na počty bakterií mléčného kvašení  $10^7$  KTJ/ml a bifidobakterie  $10^6$  KTJ/ml a dále stanovit hodnotu pH a jejich vliv na senzoryckou jakost výrobku.

## MATERIÁL A METODY

### Použitý materiál

K mikrobiologickým rozborům, stanovení hodnoty pH a senzorycké analýze byly použity vzorky probiotických kysaných jogurtových mléčných nápojů s probiotickou kulturou *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* a *Bifidobacterium* sp. Nápoje byly po dobu použitelnosti 28 dnů skladovány při teplotě  $6,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (Tab. I). Vzorky byly připraveny dle normy ČSN ISO 8261 (56 0111) Mléko a mléčné

výrobky – Příprava analytických vzorků a ředění pro mikrobiologické zkoušení.

### I: Popis vzorků Jogurtový drink

|                 | Příchuť               | Vzorek č. |
|-----------------|-----------------------|-----------|
| Jogurtový drink | brokev                | 1         |
|                 | černý rybíz           | 2         |
|                 | pomeranč s cereáliemi | 3         |
|                 | višeň                 | 4         |
|                 | jahoda                | 5         |

### Použité metody

Mikrobiologický rozbor, stanovení hodnoty pH a senzorycká analýza byly prováděny ihned po výrobě (v den 0) a dále po 7, 14, 21 a 28 dnech od výroby.

### Mikrobiologický rozbor

Stanovení počtu mezofilních bakterií mléčného kvašení

Mezofilní bakterie mléčného kvašení (BMK) vytvářejí kolonie na tuhé selektivní půdě MRS (Noack, Francie) o pH 5,7 po inkubaci při  $30^\circ\text{C}$  72 hodin za podmínek, které jsou specifikovány v normě ČSN ISO 6610.

Stanovení počtu *Bifidobacterium* sp.

Pro stanovení bakterií rodu *Bifidobacterium* bylo použito médium BSM (Fluka, USA) s přídavkem směsi antibiotik (BSM suplement 0,116 g/l, Fluka, USA) pro selektivní stanovení bifidobakterií v mléčných výrobcích.

### Stanovení hodnoty pH

Měření aktivní kyselosti bylo prováděno běžným laboratorním pH metrem – WTW Microprocessor pH – metr pH 95 (WTW GmbH, Weilheim, Německo).

### Senzorycká analýza

Senzorycká analýza byla prováděna deseti školenými hodnotiteli v senzorycké laboratoři vybavené dle ISO 8589 Ústavu technologie potravin Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. Hodnoceno bylo deset deskriptorů, a to viskozita, textura, příjemnost vůně, intenzita vůně, příjemnost chuti, intenzita chuti, kyselost, přítomnost hořké chuti, intenzita hořké chuti, přítomnost jiných cízích příchutí a celkový dojem (SPAZIANI *et al.*, 2009). Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí programu Unistat Ltd. metodou analýzy rozptylu a následným mnohonásobným porovnáním Tukey testem na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  a  $\alpha = 0,01$  (AYO *et al.*, 2008; BENITO *et al.*, 2004).

## VÝSLEDKY

### Mikrobiologický rozbor

Stanovován byl počet a přítomnost kolonie tvořících jednotek na jeden mililitr výrobku (KTJ/ml).

Výsledky byly statisticky zpracovány na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

U všech vzorků při porovnání počtu BMK a bifidobakterií na začátku a na konci doby použitelnosti ( $P < 0,01$ ) došlo k jejich zvýšení.

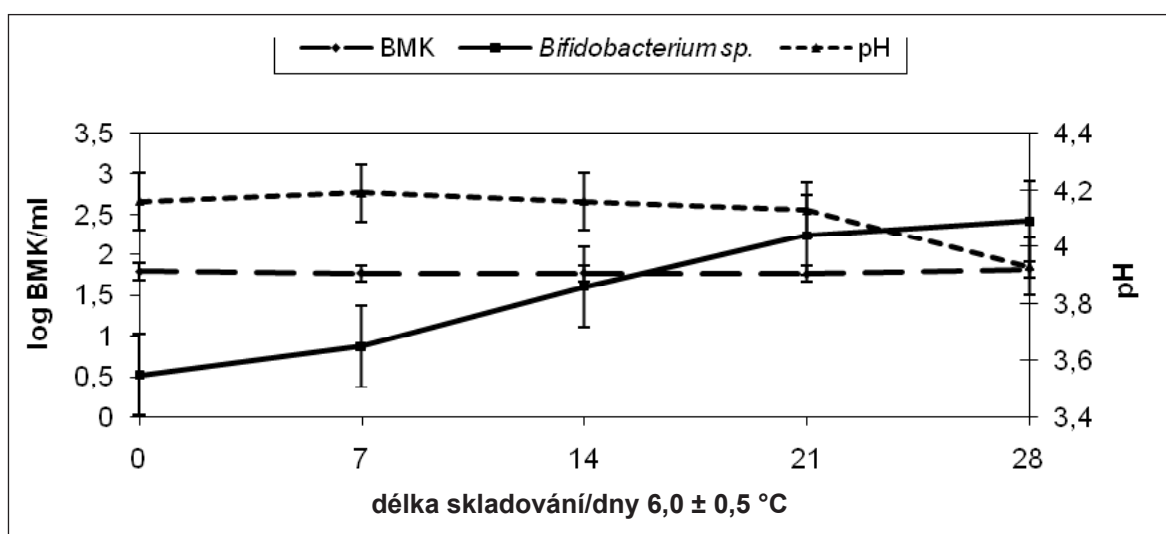
U vzorku č. 1 (Obr. 1) se počet bifidobakterií zvýšil z původních  $3,3 \cdot 10^6 \pm 0,21$  na  $2,68 \cdot 10^8 \pm 0,32$  KTJ/ml a počet BMK se zvýšil z  $6,15 \cdot 10^7 \pm 0,32$  na  $6,56 \cdot 10^7 \pm 0,07$  KTJ/ml během 28 dnů.

U vzorku č. 2 (Obr. 2) se počet bifidobakterií zvýšil z původních  $1,06 \cdot 10^6 \pm 0,23$  na  $4,33 \cdot 10^8 \pm 0,22$  a počet BMK se zvýšil z  $1,29 \cdot 10^8 \pm 0,16$  na  $1,60 \cdot 10^8 \pm 0,12$  KTJ/ml během 28 dnů.

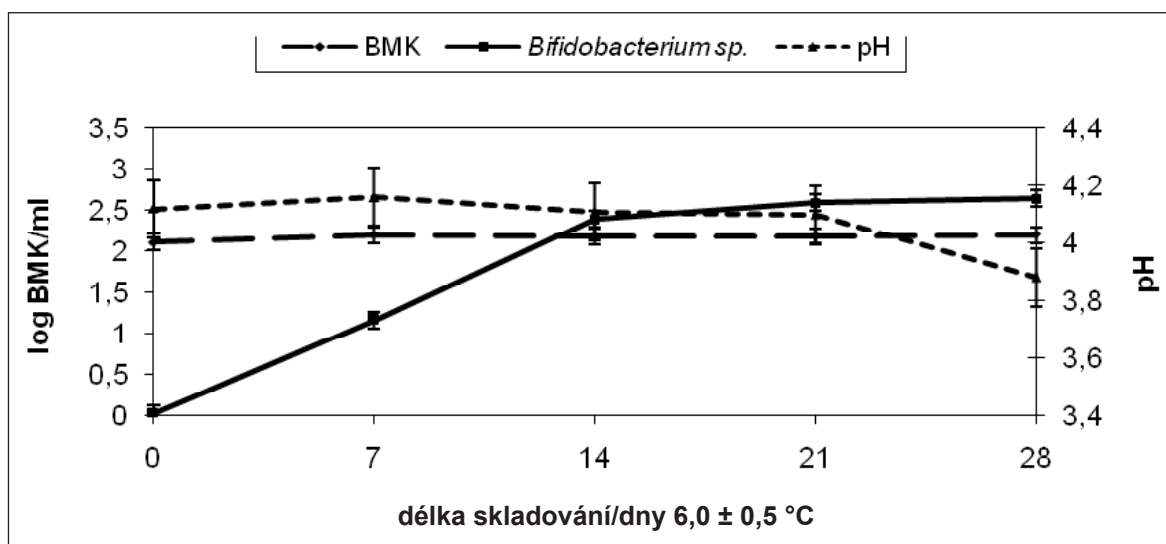
U vzorku č. 3 (Obr. 3) se počet bifidobakterií zvýšil z původních  $4,48 \cdot 10^6 \pm 0,11$  na  $3,00 \cdot 10^8 \pm 0,19$  KTJ/ml během 28 dnů. Počet BMK se zvýšil z  $1,01 \cdot 10^7 \pm 0,15$  na  $1,22 \cdot 10^7 \pm 0,06$  KTJ/ml během sledovaného období.

U vzorku č. 4 (Obr. 4) se počet bifidobakterií zvýšil z původních  $1,03 \cdot 10^6 \pm 0,16$  na  $5,34 \cdot 10^8 \pm 0,35$  KTJ/ml během 28 dnů a počet BMK se zvýšil z  $3,55 \cdot 10^7 \pm 0,12$  na  $8,02 \cdot 10^7 \pm 0,35$  KTJ/ml během sledovaného období.

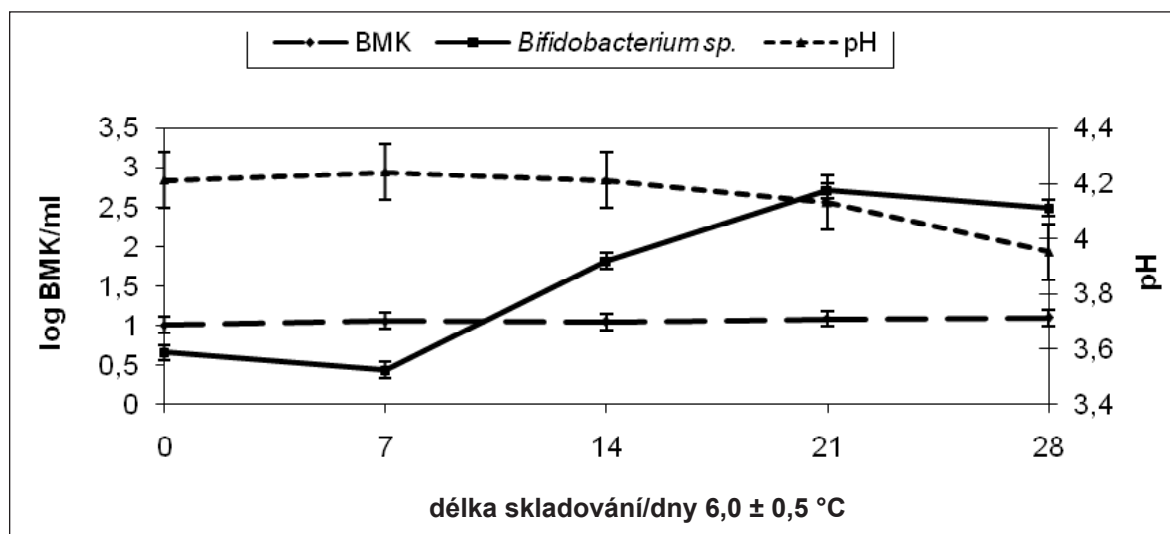
U vzorku č. 5 (Obr. 5) se počet bifidobakterií se zvýšil z původních  $6,00 \cdot 10^6 \pm 0,22$  na  $3,76 \cdot 10^8 \pm 0,25$  KTJ/ml a počet BMK se zvýšil z  $6,64 \cdot 10^7 \pm 0,25$  na  $7,56 \cdot 10^7 \pm 0,25$  KTJ/ml během 28 dnů.



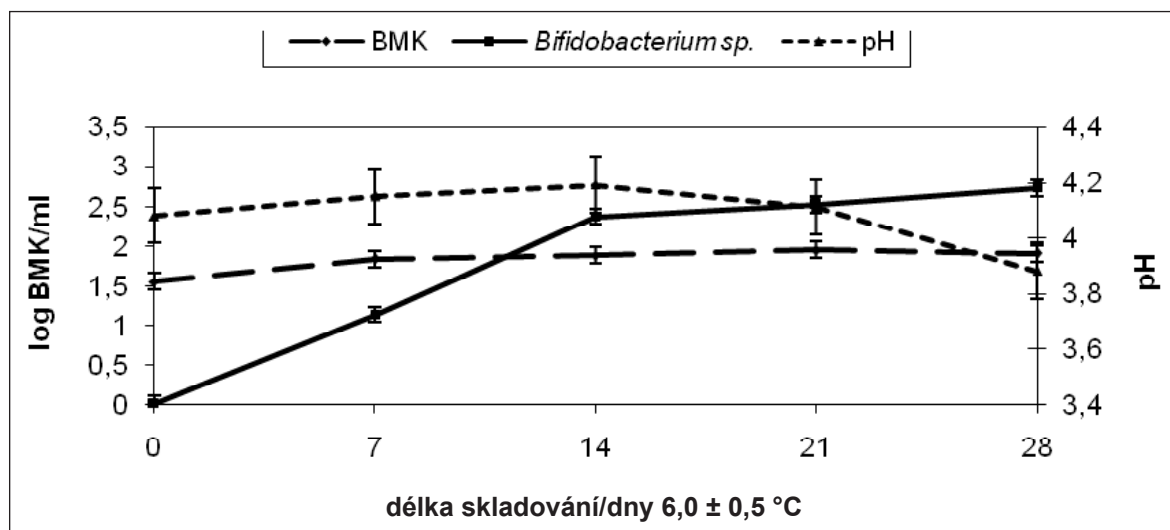
1: Závislost počtu bakterií mléčného kvašení a bifidobakterií na hodnotě pH v průběhu doby použitelnosti 28 dnů u vzorku č. 1



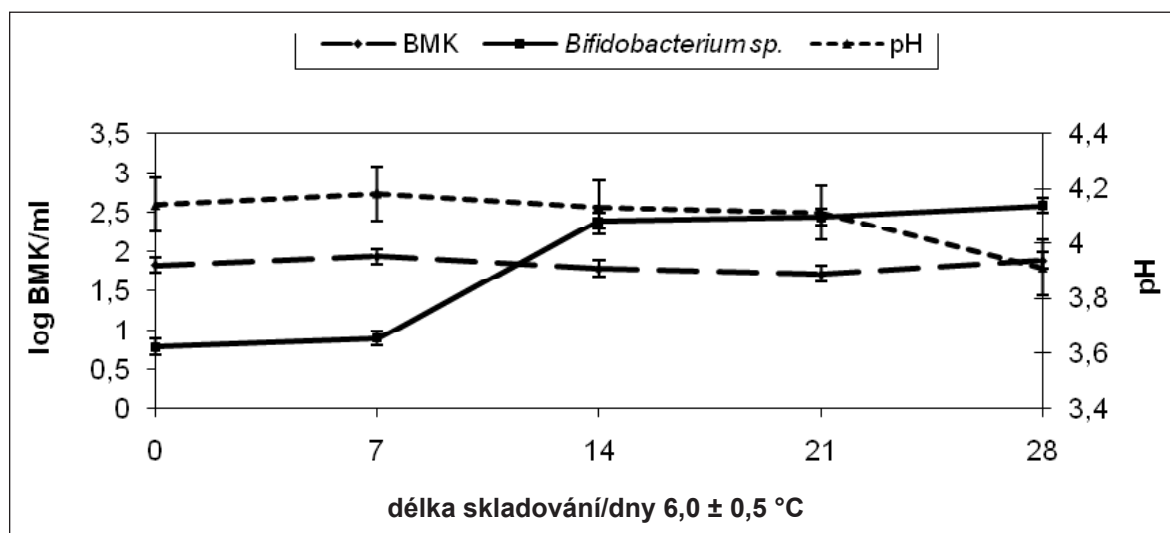
2: Závislost počtu bakterií mléčného kvašení a bifidobakterií na hodnotě pH v průběhu doby použitelnosti 28 dnů u vzorku č. 2



3: Závislost počtu bakterií mléčného kvašení a bifidobakterií na hodnotě pH v průběhu doby použitelnosti 28 dnů u vzorku č. 3



4: Závislost počtu bakterií mléčného kvašení a bifidobakterií na hodnotě pH v průběhu doby použitelnosti 28 dnů u vzorku č. 4



5: Závislost počtu bakterií mléčného kvašení a bifidobakterií na hodnotě pH v průběhu doby použitelnosti 28 dnů u vzorku č. 5

### Stanovení hodnot pH

Počáteční pH vzorků se pohybovalo v rozmezí mezi 4,08–4,21. Mezi 0. a 7. dnem skladování došlo k velmi nepatrnému nárůstu hodnot pH u všech vzorků, dále však již bylo pozorováno snižování pH pod výchozí hodnotu. K největšímu poklesu pH u všech vzorků došlo mezi 21. a 28. dnem. Konečné pH se pohybovalo mezi 3,88–3,95 (Tab. II).

U všech pěti vzorků byl zaznamenán pokles pH a nárůst počtu BMK a bifidobakterií ( $P < 0,01$ ) a byla zjištěna korelace ( $n = -0,32$ ;  $P < 0,05$ ) mezi pH a zvyšujícím se počtem jednotlivých bakteriálních druhů.

kový dojem byl nejlépe hodnocen 0. den skladování, nejhůře pak 21. den.

Nejvyšší viskozita vzorku č. 4 s příchutí višň (Obr. 9) byla zjištěna 14. den skladování, poté se snižovala. Texturní vlastnosti výrobku byly nejlepší 0. a 21. den. Příjemnost vůně byla nejlépe hodnocena 14. den skladování a intenzita vůně byla nejvyšší 28. den. Chuť byla nejpříjemnější 14. den, ale její intenzita se jevila hodnotitelům jako nejvyšší na začátku skladování, kdy byla zjištěna i nejvyšší kyselost. Intenzita hořké chuti byla nejvyšší 7. den hodnocení. Celkový dojem byl nejlépe hodnocen 14. den skladování.

Viskozita vzorku č. 5 s příchutí jahoda (Obr. 10)

II: Hodnoty pH u vzorků jogurtových drinků 1–5 v průběhu doby použitelnosti 28 dnů

| Číslo vzorku | Hodnoty pH  |             |             |             |             |
|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|              | Počet dnů   |             |             |             |             |
|              | 0           | 7           | 14          | 21          | 28          |
| 1            | 4,16 ± 0,05 | 4,19 ± 0,07 | 4,16 ± 0,11 | 4,13 ± 0,06 | 3,93 ± 0,06 |
| 2            | 4,12 ± 0,11 | 4,16 ± 0,13 | 4,11 ± 0,07 | 4,1 ± 0,05  | 3,88 ± 0,09 |
| 3            | 4,21 ± 0,06 | 4,24 ± 0,06 | 4,21 ± 0,05 | 4,13 ± 0,08 | 3,95 ± 0,08 |
| 4            | 4,08 ± 0,05 | 4,15 ± 0,07 | 4,19 ± 0,13 | 4,11 ± 0,04 | 3,88 ± 0,11 |
| 5            | 4,14 ± 0,09 | 4,18 ± 0,08 | 4,13 ± 0,09 | 4,11 ± 0,16 | 3,91 ± 0,06 |

### Senzorická analýza

Vzorek č. 1 s příchutí broskve (Obr. 6) vykazoval vyšší viskozitu 7. den, poté se viskozita snižovala. Textura byla nejlépe vnímána 14. den. Vůně byla nejlépe hodnocena 21. den, avšak její intenzita byla nejvyšší 14. den. Po chuťové stránce byl výrobek nejlépe hodnocen 21. den, kdy byla chuť hodnocena také jako nejvíce intenzivní. Kyselost výrobku byla hodnocena se vzrůstající tendencí v průběhu skladování, v závislosti na klesající hodnotě pH (Obr. 6). Intenzita hořké chuti byla nejvyšší 14. den. Celkový dojem byl nejhorší na začátku skladování, naopak nejlepší byl 21. den skladování.

Nejvyšší viskozita vzorku č. 2 s příchutí černý rybíz (Obr. 7) byla zjištěna na konci doby skladování. Texturní vlastnosti se v průběhu skladování zlepšovaly, nejlépe byly hodnoceny 21. den. Příjemnost vůně a chuti výrobku se jevila nejlepší 14. den, kdy byla i jejich intenzita hodnocena jako nejvyšší. Nejvyšší kyselost byla zjištěna 7. a 21. den skladování. Intenzita hořké chuti byla nejvyšší 7. den. Celkový dojem z tohoto výrobku byl nejlepší 14. den skladování, nejhorší 7. den skladování.

U vzorku č. 3 s příchutí pomeranč s cereáliemi byla nejvyšší viskozita zjištěna na začátku doby skladování (Obr. 8). Texturní vlastnosti byly nejhůře hodnoceny 0. den. Chuť byla nejlépe hodnocena na začátku skladování, kdy její intenzita byla nejvyšší. Vůně byla také nejlépe hodnocena na začátku skladování, avšak její intenzita byla hodnocena jako nejnižší. Nejvyšší kyselost byla zjištěna 7. den, poté se snižovala. Intenzita hořké chuti byla 0. den. Cel-

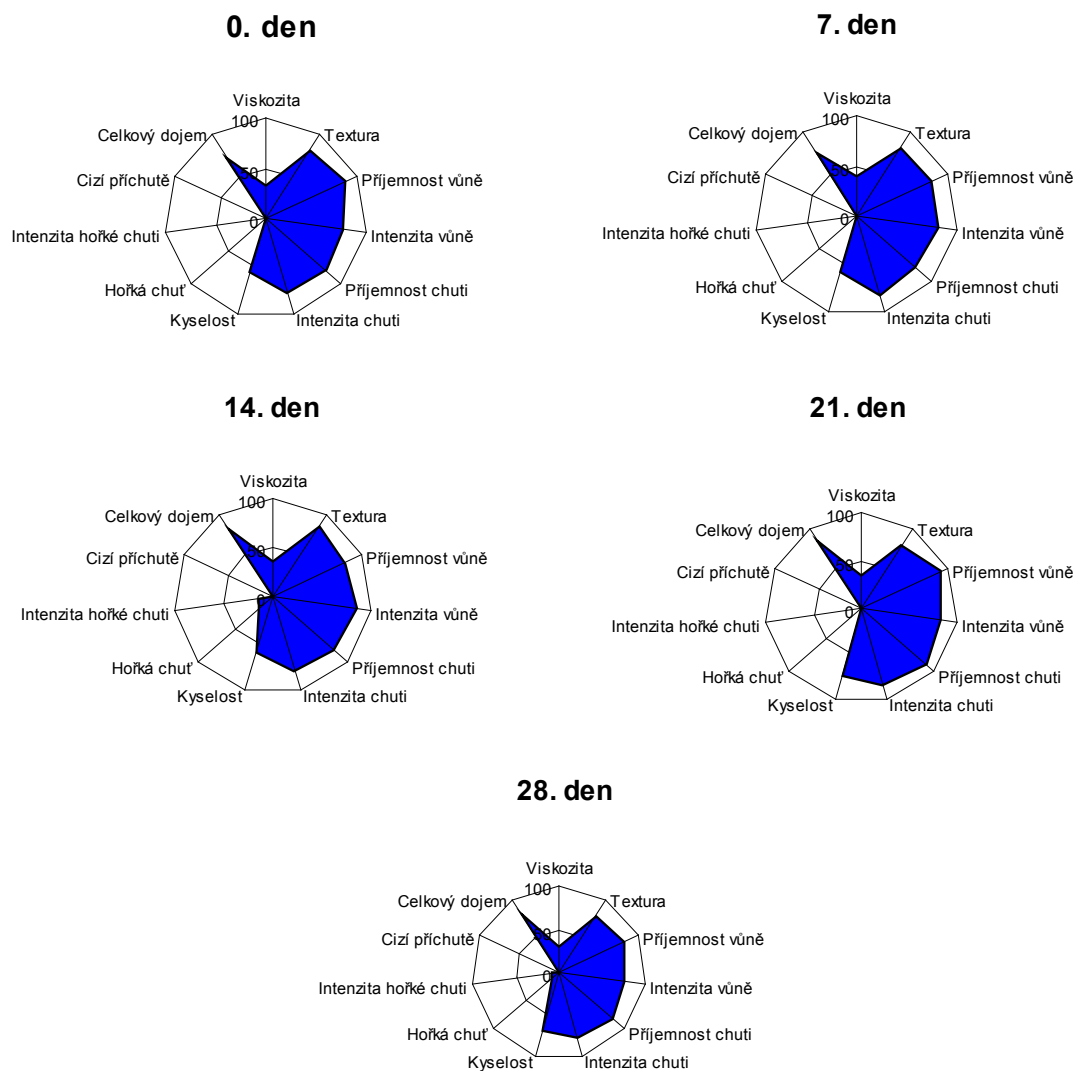
byla nejnižší 14. den skladování. Textura byla nejlépe hodnocena 7. den a výrazně nejhůře na konci doby skladování. Vůně byla hodnotitelům nejpříjemnější na začátku skladování, její intenzita byla hodnocena jako nejvyšší 14. den. Chuťové vlastnosti byly nejlépe hodnoceny 21. den, intenzita chuti byla nejvyšší 14. den. Nejnižší kyselost byla zjištěna na začátku skladování, naopak nejvyšší 21. den. Intenzita hořké chuti byla nejvyšší 21. den. Celkový dojem z tohoto výrobku byl nejlepší 21. den, nejhorší pak 7. den skladování.

Výsledky analýzy rozptylu dle typu vzorku byly statisticky průkazné ( $P < 0,001$ ) u deskriptoru viskozita a textura. Výsledky analýzy rozptylu dle dnů skladování vysoce byly statisticky průkazné ( $P < 0,010$ ) u deskriptoru příjemnost vůně. Ke zjištění rozdílů mezi vzorky bylo použito mnohonásobné porovnávání Tukey testem. U deskriptoru viskozita byl zaznamenán rozdíl ( $P < 0,010$ ) mezi vzorky 1 a 2, 1 a 5, 3 a 5, 4 a 5. Deskriptor textura vykazoval rozdíl mezi vzorky 1 a 3 ( $P < 0,010$ ) a mezi vzorky 2 a 3, 3 a 4, 3 a 5 ( $P < 0,05$ ).

### DISKUSE

Počty bakterií mléčného kvašení byly u všech vzorků po celou dobu použitelnosti nad hodnotou  $10^7$  KJT/ml, s výjimkou vzorku č. 2, u něhož se počty kolonií pohybovaly v řádu  $10^6$ . Počty *Bifidobacterium* sp. vzrostly až o dva řády oproti počáteční hodnotě. V některých studiích byl pozorován pokles počtu bifidobakterií na konci trvanlivosti vý-



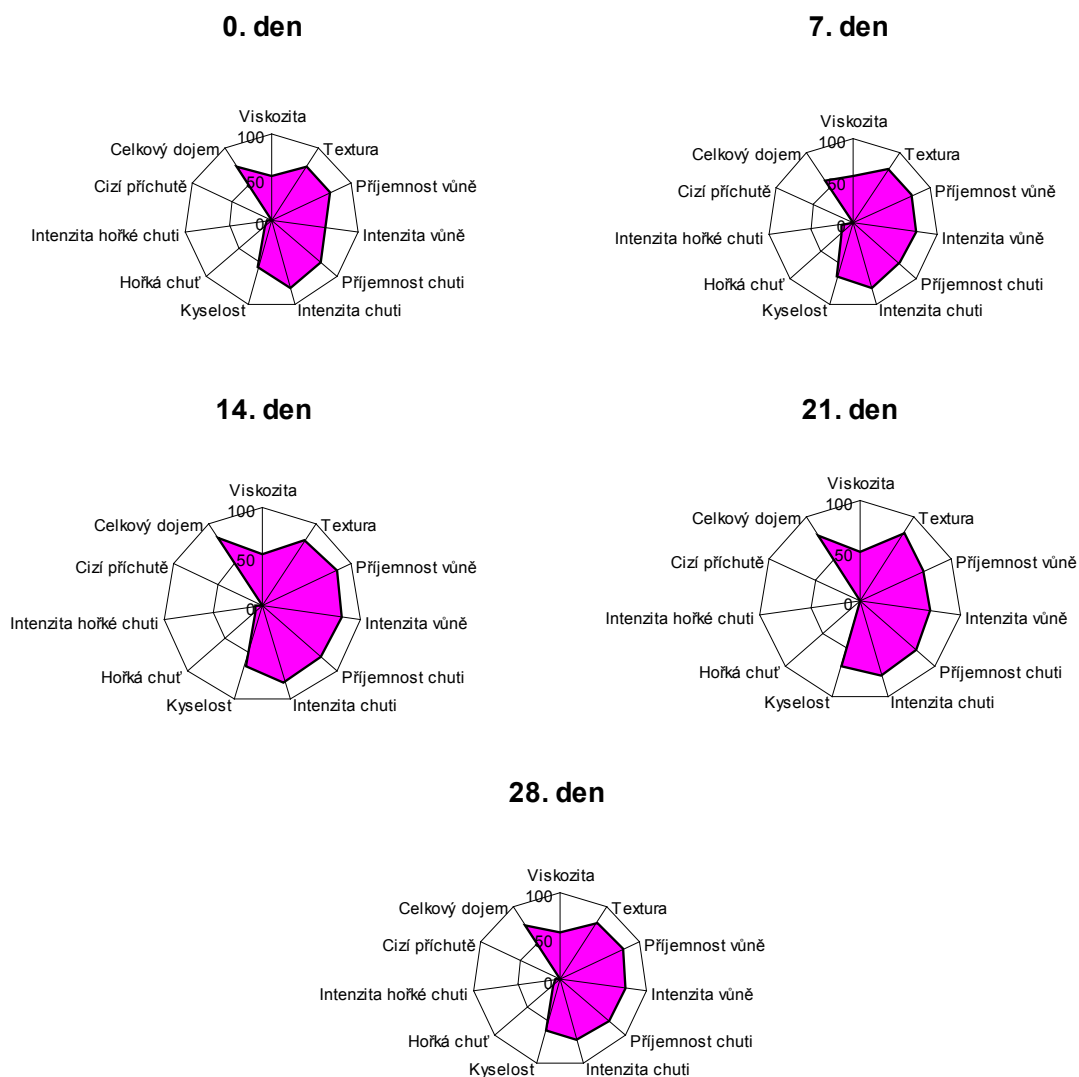


6: Změna senzorické jakosti výrobku č. 1 s příchutí broskve po dobu skladování 28 dnů sledovaná v týdenních intervalech od výroby

robku. Tento jev autoři připisovali tzv. překysání výrobku (LOURENS-HATTINGHA a VILJOENA, 2001; MAXA a RADA, 2002). Je potřeba zvážit i vzájemné ovlivnění jednotlivých druhů. *Lactobacillus acidophilus* tvorbou bakteriocinu acidophilinu potlačuje růst některých jiných kmenů laktobacilů, zatímco na rod *Bifidobacterium* tento bakteriocin vliv nemá. Po potlačení konkurenční flóry tak zůstává více živných látek v substrátu pro růst bifidobakterií (DAVE a SHAH, 2007). U výrobku č. 1, kde byl zaznamenán nejmenší nárůst počtu bifidobakterií, zřejmě hrál roli některý z výše uvedených faktorů. Co se týče typu obalu, jogurtový nápoj je balen v umělohmotném obalu, který nepropouští světlo ani vzduch. Kyslík by mohl negativně ovlivnit bifidobakterie, které jsou striktně anaerobní, ale může být podpořen růst laktobacilů, které jsou mikroaerofilní. Doporučit lze například kombinaci *Bifidoba-*

*cterium bifidum* – *Lactobacillus acidophilus* (LOURENS-HATTINGH a VILJOEN, 2001).

U všech vzorků došlo ke snížení hodnot pH. Tento pokles byl zřejmě dán produkcí acetátu a laktátu, které tvoří rod *Bifidobacterium* ze sacharidů, za současné produkce malého množství ethanolu, sukcinátu a mravenčanu. Vzhledem k tomu, že docházelo k poklesu pH a nárůstu počtu mikroorganismů ve vzorku, můžeme potvrdit negativní korelaci mezi hodnotou pH a počtem probiotických mikroorganismů. Nejvyšší pokles byl zaznamenán mezi 21. a 28. dnem analýzy, kdy se ve vzorcích nacházel největší počet všech mikroorganismů. Nejvyšší pokles byl zaznamenán u vzorků č. 2 a 4 a to až na hodnoty 3,88. Dle MALCATY a GOMESE (1999), aby nedošlo k poklesu populace bifidobakterií, nemělo by konečné pH produktu klesnout pod hodnotu 4,6. V našem experimentu bylo pH stále pod hodnotou 4,6, přesto nebyl zaznamenán pokles počtu bifido-

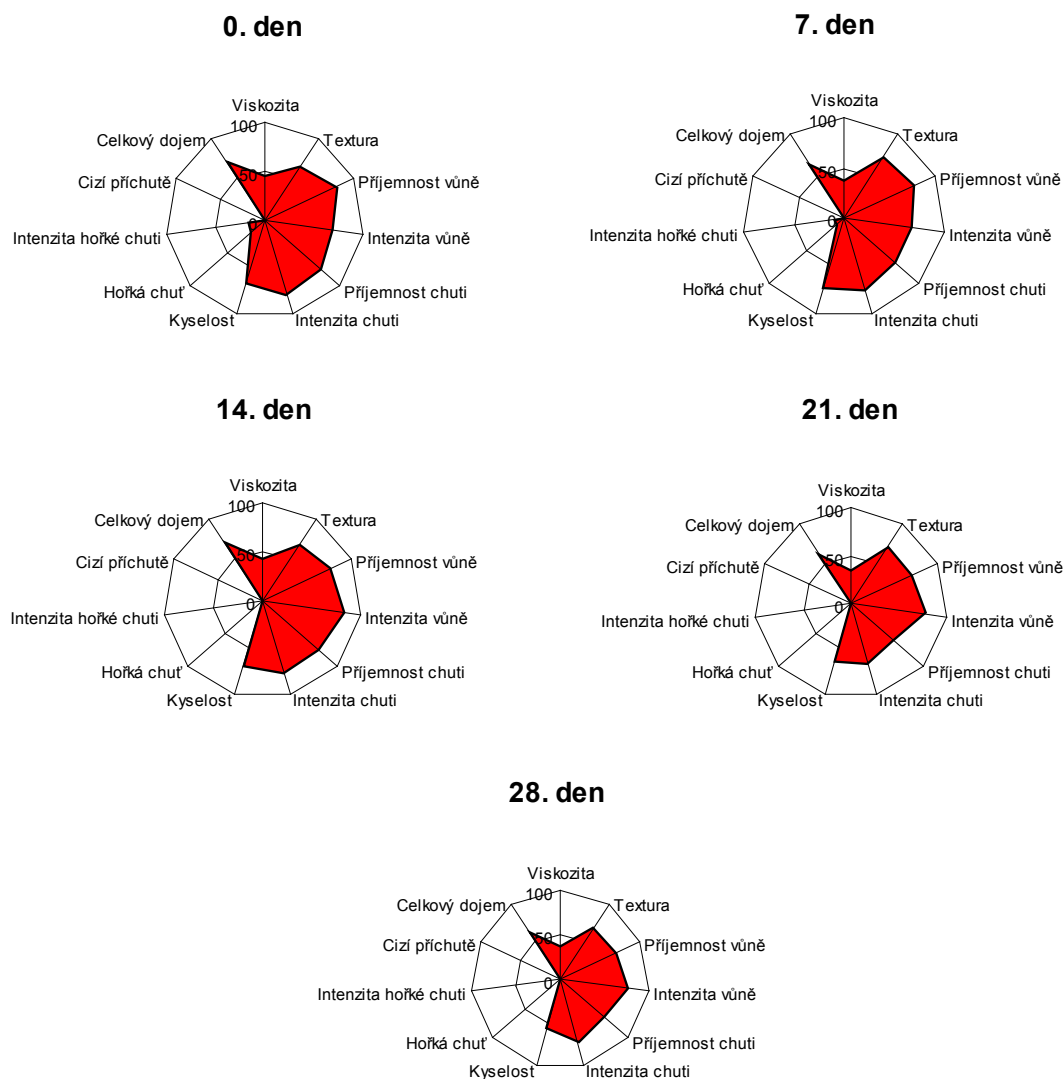


7: Změna senzorické jakosti výrobku č. 2 s příchutí černý rybíz po dobu skladování 28 dnů sledovaná v týdenních intervalech od výroby

bakterií, což je zřejmě způsobeno vlivem dalších faktorů jako např. vzájemné ovlivňování růstu bakterií. Výrobky vyhovovaly vyhlášce č. 77/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. Po celou dobu trvanlivosti byl zachován počet bakterií mléčného kvašení a počet bifidobakterií na přijatelné úrovni. To znamená počet bifidobakterií nad  $10^6$  KTJ/ml a počet bakterií mléčného kvašení nad  $10^7$  KTJ/ml.

Tolerance *Bifidobacterium* sp. ke kyselým podmínkám je druhově specifická (MATTO a kol., 2006). *L. acidophilus* je mnohem tolerantnější ke kyselým podmínkám než *Bifidobacterium* sp. a roste i při pH nižším než 5. Pokles hodnot pH vzorků v průběhu doby skladování (28 dnů) byl způsoben tvorbou organických kyselin. Ihned po výrobě se pH pohybovalo v rozmezí hodnot 4,08–4,21 a po čtyřech týd-

nech skladování jsme docílili hodnot v rozmezí 3,88–3,95. Podobné snížení pH bylo zjištěno ve studii AL-OTAIBI (2009), kdy se počáteční hodnota u probiotických mléčných výrobků pohybovala v rozmezí 4,43–4,76. I zde pH všech testovaných výrobků postupně klesalo během tří týdnů skladování. SHAH *et al.* (1995) také pozorovali výrazné snížení pH u jogurtů s obsahem *B. bifidum* a *L. acidophilus*. Podobně klesla počáteční hodnota pH z 4,33–4,41 v nultém dnu na 4,16–4,22 ve 35. den skladování ve studii provedené DAVEM a SHAHEM (1997). Ve studii DONKORA a kol. (2007) byly jogurty připraveny použitím *S. thermophilus* a *L. delbrückii* ssp. *bulgaricus* s přidavkem třech probiotických druhů, a to *B. animalis* Bb-12, *L. acidophilus* La-5 and *L. rhamnosus* GG. Během 28 dnů skladování došlo také k poklesu pH. Hodnoty pH pod 4,0 byly způsobeny především tvorbou mléčné a octové kyseliny.



8: Změna sensorické jakosti výrobku č. 3 s příchutí pomeranč s cereáliemi po dobu skladování 28 dnů sledovaná v týdenních intervalech od výroby

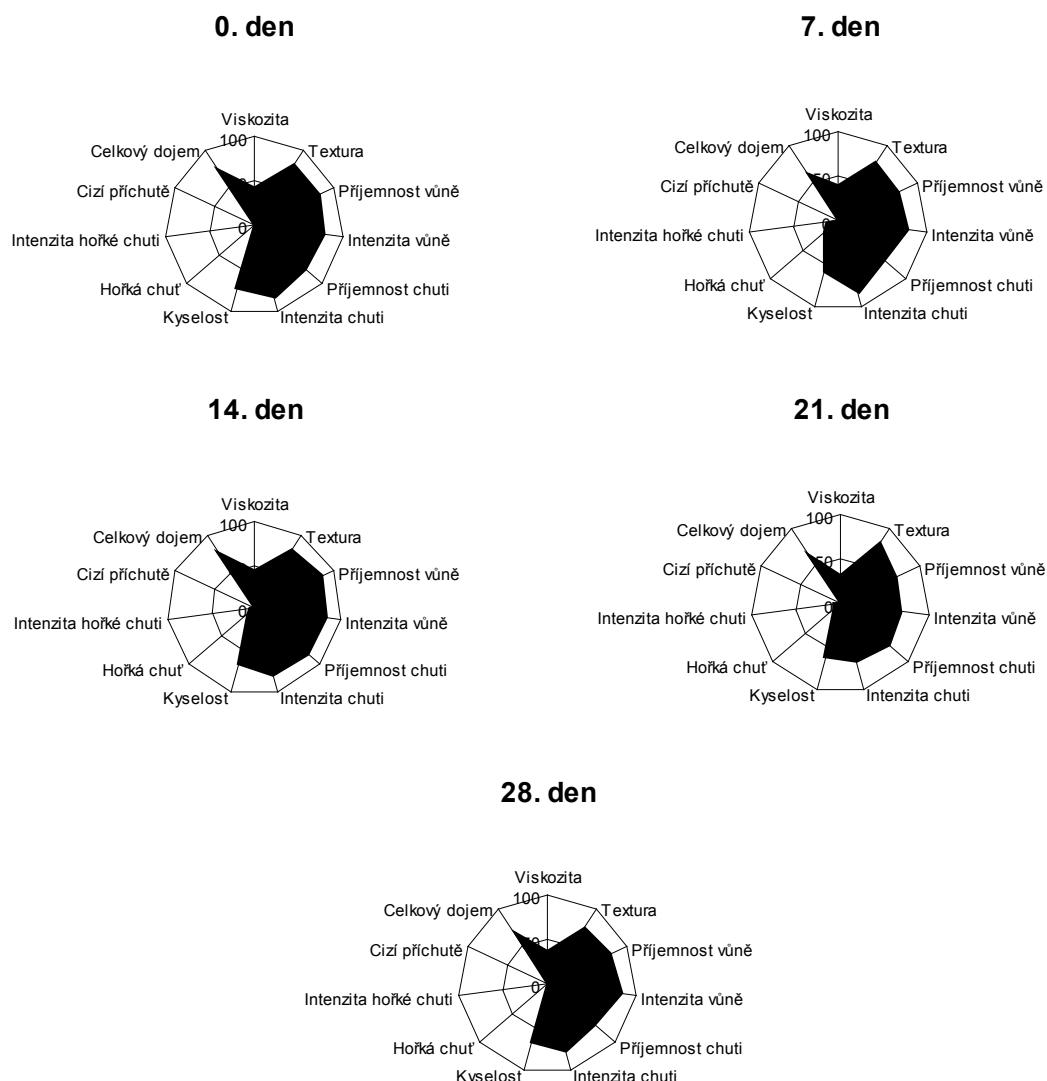
Dle studie DAVE a SHAH (1997) by nemělo být mléko fermentováno pouze probiotickými mikroorganismy, kvůli delší době fermentace a zhoršení chuti výrobku způsobené některými probiotickými kmeny. Probiotické bakterie by proto měly být používány společně se startovací jogurtovou kulturou. Je však nutné brát ohled na interakci mezi probiotickou a tradiční startovací kulturou. Organické kyseliny ve fermentovaných mléčných výrobcích jsou indikátorem metabolické aktivity přidaných kultur. Tyto kyseliny přispívají k charakteristickým sensorickým vlastnostem (ADHIKARI a kol., 2002).

GRIFFIN a kol. (1996) poukázal i na to, že polysacharidy produkované bakteriemi jsou důležité pro texturu a viskozitu výrobků. Viskozita se v průběhu skladování vzorků při  $6,0 \pm 0,5$  °C zvyšovala u vzorku č. 2, naopak k jejímu snížení v průběhu skladování došlo u vzorků č. 1 a 4. Textura byla nejlépe hodno-

cena 7. den u vzorků č. 3 a 5, 14. den u vzorku č. 1 a 21. den u vzorků č. 2 a 4. Exopolysacharidy bakterií mléčného kvašení jsou hlavní příčinou táhlovitosti zakysaných mléčných výrobků. Jejich využití odstraňuje problémy jako je nízká viskozita nebo nadměrná synereze produktu, která se jinak řeší přidávkem mléčné sušiny nebo stabilizátorů. Použitím těchto bakterií mléčného kvašení lze zlepšit konzistenci výrobku, zabránit texturním změnám a vyhnout se použití stabilizátorů (BOUZAR a kol, 1997).

Vůně byla nejlépe vnímána 0. den u vzorku 3, u vzorků č. 2 a 4 14. den skladování a 21. den u vzorku č. 1. Chuť byla nejlépe hodnocena 0. den u vzorku č. 3, 14. den, u vzorků č. 2 a 4 a 21. den u vzorků č. 1 a 5. Dle BOZANICA a kol. (2003) u jogurtů fermentovaného streptokoky a laktobacily bylo po devíti dnech skladování pozorováno sní-





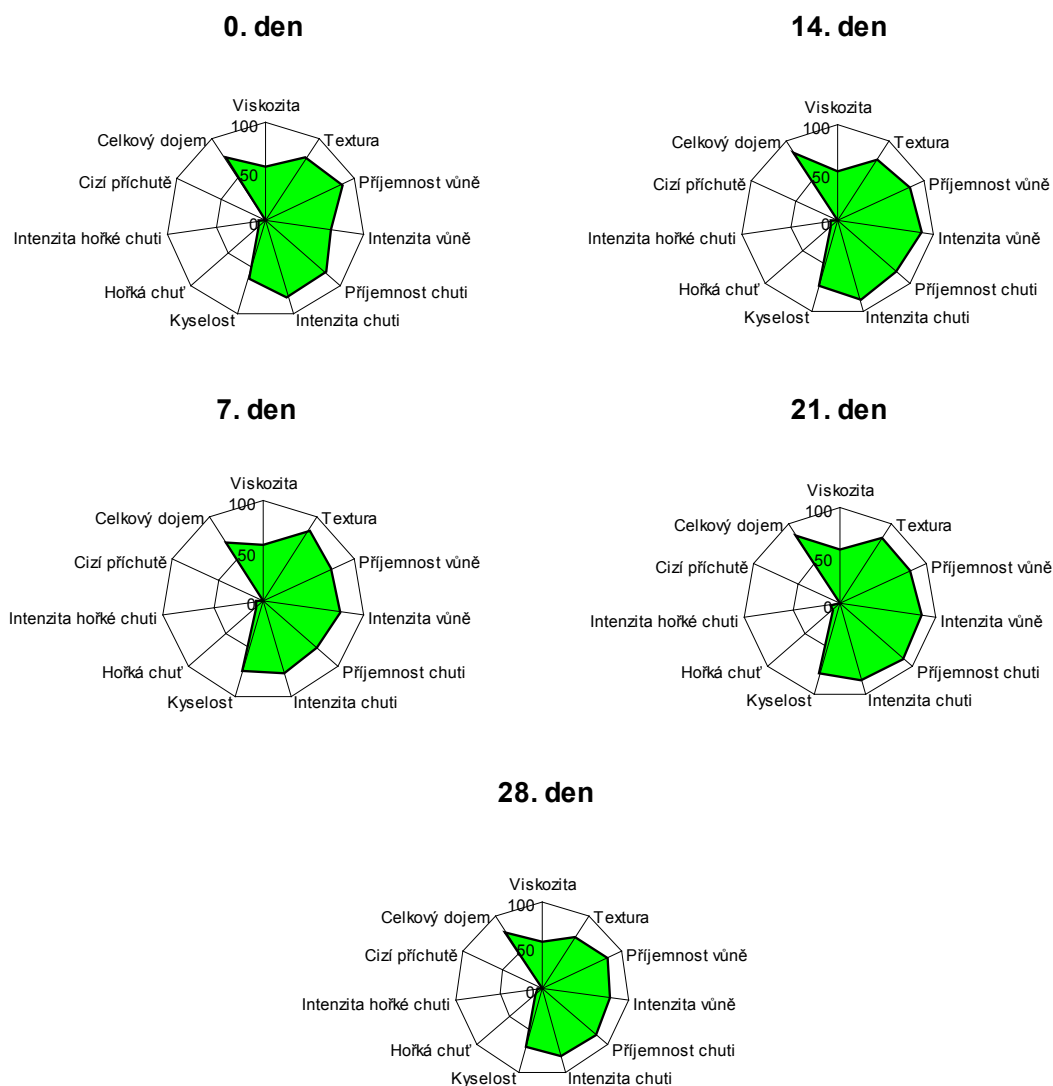
9: Změna senzorické jakosti výrobku č. 4 s příchutí višně po dobu skladování 28 dnů sledovaná v týdenních intervalech od výroby

žení množství acetaldehydu a zvýšení obsahu diacetylu. Stejně tak dle studie VAHČIČE a kol. (2000) se měnila koncentrace aromatických sloučenin během skladování v závislosti na době a teplotě skladování. Obsah acetaldehydu se v průběhu 25 dnů skladování snižoval, zatímco obsah diacetylu a etanolu se zvýšil. Senzorická kvalita výrobku se v průběhu skladování snižovala v závislosti na změnách obsahu aromatických sloučenin.

GOMES a kol. (1999) uvádějí, že bakterie rodu *Bifidobacterium* produkují kyselinu octovou a mléčnou v poměru 3 : 2, proto jejich nadměrný růst může dát fermentovanému mléčnému výrobku octovou chuť a vůni. Kyselost byla senzoricky vnímána jako nejvyšší na konci doby minimální trvanlivosti u vzorku č. 1, 2, a 5, což bylo způsobeno tvorbou organických kyselin. BAIG a PRASAD (1996) studovali vliv přídavku *B. bifidum* do jogurtu. Dle těchto autorů došlo k mírnému snížení chutnosti, což bylo dávano

do souvislosti s produkcí kyseliny octové bifidobakteriemi. Kyselina octová je konzervační látka působící na grampozitivní a gramnegativní bakterie a plísně (CABO a kol., 2002).

U všech vzorků byla v průběhu skladování zjištěna přítomnost hořké chuti. Hořká chuť bývá nejčastěji způsobena proteolýzou vyvolanou mikrobiálními proteázami. Proteolytické probiotické mikroorganismy mohou produkovat peptidy, které udělují produktu sýrovou chuť (TAMIME, 2005). LUCKOW a kol. (2006) uvádějí, že k potlačení některých nežádoucích chuťových vlastností se do probiotických výrobků přidává ovocný koncentrát nebo uměle vytvořené ovocné příchutě. YADAV a kol. (2007) ve své studii použili nízkotučné probiotické fermentované mléko kysnoucí laktokokovou startovací kulturou a dvěma probiotickými mikroorganismy *L. acidophilus* a *L. casei*. Po osmi dnech skladování už vzorky



10: Změna senzorické jakosti výrobku č. 5 s příchutí jahoda po dobu skladování 28 dnů sledovaná v týdenních intervalech od výroby

nebyly hodnotiteli hodnoceny pozitivně. Hodnotitelé uvedli mírnou hořkost.

Celkový dojem byl nejlepší 0. den u vzorku č. 3, 14. den u vzorků č. 2 a 4 a 21. den u vzorků č. 1 a 5. Poslední den skladování nebyl žádný vzorek hodnocen jako nejlepší. Ve studii GOMES a MALCATA (1999) byly rozdílné preference mezi vzorkem fermentovaným streptokoky a fermentovaným streptokoky, laktobacily a bifidobakteriemi způsobeny tvorbou jiných organických kyselin bifidobakteriemi a/nebo laktobacily místo kyseliny mléčné. Snížení senzorického skóre vzorku se *S. thermophilus*, *L. acidophilus* a *B. longum* mezi 7. a 14. dnem skladování mohlo být způsobeno produkcí kyseliny octové.

Výsledky senzorické analýzy rozdílů mezi vzorky dle typu vzorku ( $P < 0,001$ ) byly zaznamenány u deskriptorů viskozita a textura. Ve studii provedené HUSSEIN a kol. (1996) nebyl signifikantní rozdíl ve vzhledu, textuře a vůni výrobků s obsahem bifi-

dobakterií a bifidobakterií společně s *L. acidophilus* během skladování. Autoři uvádějí, že díky tvorbě polysacharidů startovací a probiotickou kulturou došlo k prevenci synergeze a zvýšení viskozity v kombinaci s lepším pocitem v ústech.

Výsledky senzorické analýzy rozdílů mezi vzorky dle dnů skladování ( $P < 0,010$ ) byly zaznamenány u deskriptoru příjemnost vůně. Dle výsledků studie HUSSEIN a kol. (1996) vzorky s bifidobakteriemi vykazovaly signifikantní rozdíl ve vůni, ale také v chuti během třech týdnů skladování. Ve studii ZACARCHENCO a MASSAGUER-ROIG (2006) došlo u fermentovaných mléčných výrobků s obsahem *S. thermophilus*, *B. longum* a *L. acidophilus* během 21 dnů skladování ke statisticky významnému zvýšení hodnot u deskriptoru chuť a kyselost.

## SOUHRN

V současné době jsou probiotika definována jako živé mikroorganismy přítomné v potravě, které když jsou konzumovány v dostatečném množství, působí blahodárně na lidský organismus. Na trhu se nejčastěji setkáváme především s kysanými mléčnými výrobky s přidavkem probiotik, a to zejména s kmeny *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Probiotika mohou být cíleně přidána i do jiných typů výrobků. Spotřebitelům je doporučována pravidelná denní konzumace alespoň 100 g mléčného výrobku s minimálním obsahem  $10^6$  těchto bakterií v 1 ml výrobku pro dosažení pozitivního účinku na lidský organismus.

V pěti zakysaných mléčných výrobcích Jogurtový drink s různou příchutí bylo analyzováno kvalitativní a kvantitativní zastoupení bakterií mléčného kvašení a bifidobakterií, dále byla sledována změna hodnot pH a bylo provedeno senzorické hodnocení po dobu použitelnosti (28 dní). Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny Tukey testem ( $P < 0,010$ ) a ( $P < 0,001$ ).

Počet bakterií mléčného kvašení se u všech vzorků pohyboval po celou dobu analýzy v řádu  $10^7$ . Výjimkou byl vzorek č. 1 a 2, u nichž se počty kolonií pohybovaly v řádu  $10^8$  a  $10^6$ . Počty *Bifidobacterium* sp. vzrostly až o dva řády oproti počáteční hodnotě. Jelikož u žádného vzorku nedošlo k překrytí intervalů spolehlivosti na začátku a na konci stanovení, můžeme konstatovat, že došlo ke statisticky významnému zvýšení počtu jednotlivých stanovovaných druhů bakterií.

V některých studiích byl pozorován pokles počtu bifidobakterií na konci trvanlivosti výrobku. Tento jev autoři připisují tzv. překysání výrobku. Je potřeba zvážit i vzájemné ovlivnění jednotlivých druhů. Po potlačení konkurenční flóry tak zůstává více živných látek v substrátu pro růst bifidobakterií. Co se týče populace bifidobakterií, nemělo by konečné pH produktu klesnout pod hodnotu 4,6.

Výrobky vyhovovaly vyhlášce č. 77/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. Po celou dobu trvanlivosti byl zachován počet bakterií mléčného kvašení a počet bifidobakterií na přijatelné úrovni. To znamená počet bifidobakterií nad  $10^6$  a počet bakterií mléčného kvašení nad  $10^7$ .

Počáteční pH vzorků se pohybovalo v rozmezí mezi 4,08–4,21. Mezi 0. a 7. dnem skladování došlo k velmi nepatrnému nárůstu hodnot pH u všech vzorků, dále však již bylo pozorováno snižování pH pod výchozí hodnotu. K největšímu poklesu pH u všech vzorků došlo mezi 21. a 28. dnem. Konečné pH se pohybovalo mezi 3,88–3,95.

U všech pěti vzorků byl zaznamenán pokles pH a nárůst počtu BMK a bifidobakterií ( $P < 0,01$ ) a byla zjištěna korelace ( $n = -0,32$ ;  $P < 0,05$ ) mezi pH a zvyšujícím se počtem jednotlivých bakteriálních druhů u všech pěti vzorků. Tento pokles pH je zřejmě dán produkcí acetátu a laktátu, které tvoří rod *Bifidobacterium* ze sacharidů, za současné produkce malého množství ethanolu, sukcinátu a mravenčanu. Tolerance *Bifidobacterium* sp. ke kyselým podmínkám je druhově specifická. Aby nedocházelo k poklesu populace bifidobakterií, nemělo by konečné pH produktu klesnout pod hodnotu 4,6. V našem experimentu bylo pH stále pod hodnotou 4,6, přesto nebyl zaznamenán pokles počtu bifidobakterií, což je zřejmě způsobeno vlivem dalších faktorů, jako např. vzájemné ovlivňování růstu bakterií.

Mléko by nemělo být fermentováno pouze probiotickými mikroorganismy, kvůli delší době fermentace a zhoršení chuti výrobku způsobené některými probiotickými kmeny. Probiotické bakterie by proto měly být používány společně se startovací jogurtovou kulturou. Je však nutné brát ohled na interakci mezi probiotickou a tradiční startovací kulturou. Během fermentace dochází k mnoha biochemickým reakcím. Dochází ke štěpení sacharidů, proteinů a lipidů ale také ke vzniku aromatických sloučenin, které dávají kysaným mléčným výrobkům charakteristické organoleptické vlastnosti. Polysacharidy produkované bakteriemi jsou důležité pro texturu a viskozitu výrobků. Viskozita se v průběhu skladování vzorků při  $6,0 \pm 0,5$  °C zvyšovala u vzorku č. 2, naopak k jejímu snížení v průběhu skladování došlo u vzorků č. 1 a 4. Textura byla nejlépe hodnocena 7. den u vzorků č. 3 a 5, 14. den u vzorku č. 1 a 21. den u vzorků č. 2 a 4. Exopolysacharidy bakterií mléčného kvašení jsou hlavní příčinou táhlovitosti zakysaných mléčných výrobků. Jejich využití odstraňuje problémy jako je nízká viskozita nebo nadměrná synereze produktu. Použitím těchto bakterií mléčného kvašení lze zlepšit konzistenci výrobku, zabránit texturním změnám a vyhnout se použití stabilizátorů. Výsledky analýzy rozptylu dle typu vzorku byly statisticky průkazné ( $P < 0,001$ ) u deskriptoru viskozita a textura. Ke zjištění rozdílů mezi vzorky bylo použito mnohonásobné porovnávání Tukey testem. U deskriptoru viskozita byl zaznamenán rozdíl ( $P < 0,010$ ) mezi vzorky 1 a 2, 1 a 5, 3 a 5, 4 a 5. Deskriptor textura vykazoval rozdíl mezi vzorky 1 a 3 ( $P < 0,010$ ) mezi vzorky typy 1 a 3, 2 a 3, 3 a 4, 3 a 5 ( $P < 0,05$ ). Vůně byla nejlépe vnímána 0. den u vzorku 3, u vzorků č. 2 a 4 14. den skladování a 21. den u vzorku č. 1. Výsledky analýzy rozptylu rozdílů mezi vzorky dle dnů skladování ( $P < 0,010$ ) byly zjištěny u deskriptoru příjemnost vůně. Chuť byla nejlépe hodnocena 0. den u vzorku č. 3, 14. den, u vzorků č. 2 a 4 a 21. den u vzorků č. 1 a 5. V závislosti na době a teplotě skladování se mění koncentrace aromatických sloučenin. Obsah acetaldehydu se v průběhu skladování snižuje, zatímco obsah diacetylu a ethanolu se zvyšuje. Bakterie rodu *Bifidobacterium* produkují kyselinu octovou a mléčnou, proto jejich

nadměrný růst může dát fermentovanému mléčnému výrobku octovou chuť a vůni. Kyselost byla senzoricky vnímána jako nejvyšší na konci doby minimální trvanlivosti u vzorku č. 1, 2, a 5, což bylo způsobeno tvorbou organických kyselin, zejména kyseliny octové bifidobakteriemi. U všech vzorků byla v průběhu skladování zjištěna přítomnost hořké chuti. Hořká chuť bývá dle nejčastěji způsobena proteolýzou mikrobiálními protézami. Proteolytické probiotické mikroorganismy mohou produkovat peptidy, které udělují produktu sýrovou chuť. Celkový dojem byl nejlepší 0. den u vzorku č. 3, 14. den u vzorků č. 2 a 4 a 21. den u vzorků č. 1 a 5. Poslední den skladování nebyl žádný vzorek hodnocen jako nejlepší.

probiotika, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, kysané mléčné výrobky, senzorická analýza, hodnota pH, zdravotní účinek probiotik

## SUMMARY

Probiotics are defined as living forms of microorganisms with a positive effect for men's health when consumed regularly. The probiotics begins to be a discussed topic in scientific panels. Nowadays, we can see on market mainly fermented milk products with addition of these microorganisms, especially strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. We can meet also other types of probiotic products. It is recommended to consume at least 100 grams of fermented milk products with minimal concentration of  $10^6$  of these probiotics in one gram or mililitr of product daily for reaching positive effect on men's health. Lactic acid bacteria, *Bifidobacterium* sp., pH value and sensory quality were evaluated at five fermented yoghurt drink with different taste during 28 days. The results were statistically evaluated by Tukey test.

Number of LAB was up to  $10^7$  CFU/ml in all samples during 28 days of analysis. Only at the sample number 2 the number of LAB was  $10^6$  CFU/ml. The number of LAB and *Bifidobacterium* sp. of yoghurt drink corresponded with public notice number 77/2003 Sb. (the number of LAB  $10^7$  nad number of *Bifidobacterium* sp.  $10^6$  KTJ/ml).

The decline of *Bifidobacterium* sp. were determinated at the end of minimal endurance time in some studies. It is presented as a great sour of product. We must take into consideration the influence between microorganisms. The most nutrient continue in substrate after suppress of competition microflora.

The initiative pH value of samples were 4,08–4,21. Between 0. and 7. days of storage pH grew vera slowly and then it was dropped wery rapidly under the initiative value. The biggest decreased of pH in all samples were between 21. and 28. days of storage. The find pH value was 3,88–3,95. The negative correlation ( $n = -0,32$ ;  $P < 0,05$ ) between pH and growth of bacterial strains was detected. The decrease of pH was caused due to production of acetate and lactate from carbohydrates by *Bifidobacterium* with the production of ethanol, succinate and formiate. Toleration of *Bifidobacterium* sp. to acids is species specific. The find pH value of fermented product for *Bifidobacterium* sp. should not decline under value 4,6. In our experience, pH decline under 4,6 was not realized.

Milk should not be fermented only by probiotic microorganisms for reason long time of fermentation and downgrade of taste. Probiotic microorganisms should be used together with starter yoghurt culture. It is necessary take into consideration the interaction between probiotic and traditional starter culture. During fermentation the carbohydrates, proteins and lipids are disunite and many of aromatic compounds are composed. They give a typical sensory characteristic to fermented milk products. Polysaccharides which are produce by probiotics are wery important for texture and thickness of fermented milk products. During the storage at  $6,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  the thickness of sample 2 growth and at sample 1 and 4 decline. The best evaluation of texture was at 7. days of storage at samples 3 and 5, at 14. days at sample 1 and at 21. days at samples 2 and 4. Exopolysaccharides produced by LAB are the main reason of textural defects of fermented milk products. By using probiotics we can improve consistence, prohibit textural defects and avoid to use stabilizer. In descriptor thickness were recorded differences ( $P < 0,010$ ) between samples 1 and 2, 1 and 5, 3 and 5, 4 and 5 in descriptor texture between samples 1 and 3, 2 and 3, 3 and 4 ( $P < 0,010$ ), 3 and 5 ( $P < 0,05$ ). The best evaluation of descriptor smell was at 0. day at sample 3, at 14. days at samples 2 and 4 and at 21. days at sample. The best evaluation of descriptor taste was 0. day at sample 3, 14. days at samples. 2 and 4 and at 21. days at samples 1 and 5. Concentration of aromatic substances changes depending up to time and temperature of storage. *Bifidobacterium* sp. produce acetic acid and lactic acid and their excessive growth causes acetic taste and smell. The acidity was perceived at the end of storage at the samples 1, 2 and 5. It was induced by production of organic acid, mainly acetic acid produced by *Bifidobacterium* sp. The bitter taste was detected at all samples during storage. It was due to proteolysis of microbial protease. Proteolytic microorganisms can produce proteolytic peptides which can evoke cheese taste. The best evaluation of descriptor general appearance was detected at 0. day at sample 3, 14. days at samples 2 and 4 and at 21. days ad samples 1 and 5.



## LITERATURA

- ADHIKARI, K., GRUN, I. U., NUSTAPHA, A., FERNANDO, L. N., 2002: Changes in the profile of organic acids in plain set and stirred yogurts during manufacture and refrigerated storage, *Journal of Food Quality*, Vol. 25, p. 435–451.
- AL-OTAIBI, M. M., 2009: Evaluation of some probiotic fermented milk product from Al-Ahsa markets, *American Journal of Food Technology*, Vol. 4, p. 1–8.
- ALEXSSON, L., 1998: Lactic acid bacteria: classification and physiology, *Lactic acid bacteria, Microbiology and Functional aspects*, New York: Marcel Dekker, p. 1–72.
- BAIG, M. I., PRASAD, V., 1996: Effect of incorporation of cottage cheese whey solids and *Bifidobacterium bifidum* in freshly made yoghurt, *Journal of Dairy Research*, Vol. 63, p. 467–473.
- BOUZAR, F., CERNING, J., DESMAZEAUD, M., 1997: Exopolysaccharide Production and Texture-Promoting Abilities of Mixed-Strain Starter Cultures in Yogurt Production, *Journal of Dairy Science*, Vol. 80, p. 2310–2317.
- BOZANIC, R., TRATNIK, L., HRUSKAR, M., 2003: Influence of culture activity on aroma components in yoghurts produced from goat's and cow's milk, *Acta Alimentaria*, Vol. 32, p. 151–160.
- BURDYCHOVÁ, R., 2007: Identifikace a charakterizace bakterií rodu *Enterococcus* určených pro výrobu funkčních potravin, *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, roč. LV, č. 2, s. 9–14, ISSN 1211-8516.
- CABO, M. L., BRABER, A. F., KOENRAAD, M. F. J., 2002: Apparent antifungal activity of several lactic acid bacteria against *Penicillium discolor* is due to acetic acid in the medium, *Journal of Food Protection*, Vol. 65, p. 1309–1316.
- CUPÁKOVÁ, Š., JANŠTOVÁ, B., NAVRÁTILOVÁ, P., NECIDOVÁ, L., 2002: Úloha probiotik v kysaných mléčných výrobcích, *Veterinářství*, č. 52, s. 66–68.
- DAVE, R. J., SHAH, N. P., 1997: Effect of cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures, *International Dairy Journal*, Vol. 7, p. 537–545.
- DONKOR, O. N., TSANGALIS, D., SHAH, N. P., 2007: Viability of probiotic bacteria and concentrations of organic acids in commercial yoghurts during refrigerated storage, *Food Austria*, No. 4, Vol. 59, p. 121–126.
- ENGELS, W., FLORIS, E., VAN KRANENBURG, R., VAN HYLCKAMA Vlieg, J., NOORDMAN, W., SMIT, G., 2002: Enzymatic conversion of methionine reset in the formation of sulphur compounds, *Proceedings of the 10th Weurman Flavour Research Symposium*, Beaune, p. 326–331.
- FERON, G., WACHÉ Y., 2006: *Mikrobia Biotechnology of Food Flavour Production*, In SHETTY, K. et al., Food Biotechnology-second edition, Taylor and Francis Group, 1903 p., ISBN 978-0-8247-5329-0.
- FULLER, R., 1989: Probiotic in man and animals, *Journal of Applied Bacteriology*, Vol. 66, p. 365–78.
- GIBSON, R. G., WILLIAMS, CH. M., 2000: Functional food, *Woodhead publishing limited*, p. 287–293, ISBN 1-85573-5032-2.
- GOMES, A. M. P., MALCATA, F. X., 1999: *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biochemical, technological and therapeutic properties relevant for use as probiotics, *Trends Food Science Technology*, Vol. 10, p. 139–157.
- GÖRNER, F., VALÍK, L., 2004: *Aplikovaná mikrobiologie potravin*, Mladé centrum: Bratislava, 527 s., ISBN 80-967064-9-7.
- GRIFFIN, A. M., MORRIS, M. J., GASON V. J., 1996: The cps ABCDE genes involved in polysaccharide production in *Streptococcus salivarius* sp. *thermophilus* strain NCB2393, *Gene*, Vol. 183, p. 23–27.
- HUSSEIN, A. N., FRANK, J. F., SCHMIDT, K. A., SHALABI, S. I., 1996: Textural properties of yogurt made with encapsulated non-ropy lactic cultures, *Journal of Dairy Science*, Vol. 79, p. 2098–2103.
- KVASNIČKOVÁ, A., 2002: *Sacharidy pro funkční potraviny, probiotika – prebiotika – symbiotika*, ÚZPI Praha, 82 s., ISBN 80-7271-001-X.
- LOURENS-HATTINGH, A., VILJOEN, B. C., 2002: Survival of probiotic bacteria in South African commercial bio-yogurt, *South African Journal of Science*, Vol. 98, p. 298–300.
- LUCLOW, T., DELAHUNTY, C., FITZGERALD, G., SHEENHAN V., 2006: Exposure, health information and flavour-masking strategies for improving the sensory duality of probiotic juice, *Appetite*, Vol. 47, p. 315–323.
- MATTO, J., ALAKOMI, H. L., VAARI, A., VIRKAR, K., SAARELA, M., 2006: Influence of processing conditions on *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* functionality with a special focus on acid tolerance and factors affecting it, *International Dairy Journal*, Vol. 16, p. 102–1037.
- MAXA, V., RADA, V., 2002: *Význam bifidobakterií a bakterií mléčného kvašení pro výživu a zdraví*, 2. vydání, Praha: ÚZPI, s. 10–36, ISBN 80-85120-57-7.
- PERPÈTE, P., GIJS, L., COLLIN, S., 2003: Methionine: a key amino acid for flavon biosynthesis in beer, *Brewing Yeast Fermentation Performance*, Oxford: Blackwell.
- PLOCKOVÁ, M., 2002: Fermentovaná mléka, probiotika, prebiotika, In Kadlec, P. *Technologie potravin II*, VŠCHT Praha, s. 52–62, ISBN 80-7080-510-2.
- SALMINEN, S., 1999: Probiotics: how should they be defined?, *Trends in Food Science and Technology*, Vol. 3, p. 107–110.
- SHAH, N. P., LANKAPUTHRA, W. E. V., BRITZ, M. L., KYLE, W. S. A., 1995: Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yogurt during refrigerated storage, *International Dairy Journal*, Vol. 5, p. 515–521.
- TAMIME, A. Y., 2005: *Probiotic dairy products*. Oxford, UK: Blackwell Pub., 216 s., ISBN 1-4051-2124-6.
- TANNOCK, G. W., 2005: Probiotics and prebiotics, *Scientific Aspects*, Norwich: Caister Academic Press, p. 230, ISBN 1-904455-01-8.
- TSAKALIDOU, E., KOTZEKIDOU, P., 2006: *Fermentation Biotechnology of Animal Based Traditional*

- Foods of the Middle East and Mediterranean Region*, In: SHETTY, K. *et al.*, Food Biotechnology – second edition, Taylor and Francis Group, 1903 p., ISBN 978-0-8247-5329-0.
- VAHČIČ, N. A HRUŠKAR, M., 2000: Slovenian fermented milk with probiotics, *Zootecnika*, Vol. 76.
- WALSTRA, P., WOUTERS, J. T. M., GEURTS, T. J., 2006: *Dairy science and technology*, CTR Press, sec. ed., 782 s., ISBN 0-8247-2763-0.
- YADAV, H., JAIN, S., SINHA, P. R., 2007: Evaluation of changes during storage of probiotic dahi at 7 degrees C, *International Journal of Dairy Technology*, No. 3, Vol. 60, p. 205–210.
- ZACARCHENCO, P. B., MASSAGUER-ROIG S., 2006: Properties of *Streptococcus thermophilus* fermented milk containing variable concentrations of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus*, *Brazilian Journal of Microbiology*, Vol. 37, No. 3.

#### Adresa

Ing. Hana Šulcerová, Ph.D., Ing. Radka Burdychová, Ph.D., Ústav technologie potravin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, e-mail: hana.sulcerova@seznam.cz