

RENTERGHEM (1982) a stejně i SCHMIDT-HEBBEL (1983), popsali přeměnu kyseliny hippurové na kyselinu benzoovou při výrobě jogurtu. Bylo prokázáno, že štěpení kyseliny hippurové na kyselinu benzoovou a glycin je způsobeno přítomností laktobacilů, streptokoků a některých druhů rodu *Leuconostoc* (NISHIMOTO *et al.* 1969).

Štěpení kyseliny hippurové bakteriemi mléčného kysání používanými při výrobě jogurtů prokázali RENTERGHEM (1982) a BERTLING (1985).

Kyselina benzoová může v jogurtech vznikat i při degradaci fenylalaninu a autooxidaci benzaldehydu (MOORE *et al.* 1968; BLANC *et al.* 1983; SIEBER *et al.* 1985).

Testovali jsme vliv jogurtových kultur na hladinu kyseliny benzoové v jogurtech. Všechny modelové jogurty byly připraveny stejnou technologií a ze stejného výchozího materiálu (kravského mléka) a byly zaočkovány osmi nejfrekventovanějšími jogurtovými kulturami MILCOM a. s. Laktoflora. Jeden modelový jogurt byl připraven z kozího mléka za použití jogurtové kultury WV2. Byl stanoven obsah kyseliny benzoové i v kmenech mikroorganismů MILCOM a. s. Laktoflora, z kterých se připravují uvedené jogurtové kultury. Statistické vyhodnocení experimentů ukázalo v některých případech signifikantní rozdíly v hladinách kyseliny benzoové ve vztahu k použitým jogurtovým kulturám.

## MATERIÁL A METODA

K výrobě modelových jogurtů bylo použito mléko dojnic holštýnské plemene tepelně ošetřené záhřevem na 84–85 °C. Takto tepelně upravené mléko bylo zahuštěno sušeným mlékem (přídavkem 0,5 % sušiny) a zaočkováno do 24 hodin po výrobě 1 % čisté mlékařské jogurtové kultury MILCOM a. s. Laktoflora (označení J22, WV2, JK, T767 + T, J2, RX, JOB, a WV3). Kultivace probíhala 3,5 hodiny při teplotě 43 °C.

Stejným postupem byl připraven modelový jogurt z mléka plemene koz bílá krátkosrstá zaočkovaný jogurtovou kulturou WV2 MILCOM a. s. Laktoflora.

Vzorek o hmotnosti cca 20 g byl v souladu se standardní metodikou IDF (Provisional IDF Standard 139, 1987) mírně zahřát a promícháním zhomogenizován. Tuky a proteiny byly vysráženy ze slabě alkalického vodného roztoku za použití hexakvanoželeznanu draselného (Carrezovo činidlo I) a octanu zinečnatého (Carrezovo činidlo II). Přídavkem methanolu byla extrahována kyselina

benzoová a po membránové filtraci byl supernatant použit ke stanovení metodou HPLC v isokratickém režimu na koloně s reversní fází (SGX C18, 250 × 4 mm, 7 μm), při vlnové délce 235 nm a s mobilní fází ethanol–0,02M acetátový pufr, pH 4,5 (80 : 20 [v : v]). Průtok mobilní fáze byl 1,2 ml/min. Hladiny kyseliny benzoové byly vyhodnoceny z výšky píku na chromatogramech získaných na přístroji Waters.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Každý modelový jogurt byl ve třech paralelních opakováních připraven k analýze, kyselina benzoová byla stanovena ze dvou nástřiků. Výsledky stanovení kyseliny benzoové v kmenech mikroorganismů MILCOM a. s. Laktoflora a v modelových jogurtech jsou přehledně uvedeny v tab. 1–3.

Statistické zhodnocení hladin kyseliny benzoové v jogurtech zaočkovaných rozdílnými jogurtovými kulturami bylo realizováno metodou ANOVA – jednofaktorovou analýzou rozptylu s opakováním, technikou vícenásobného porovnávání na hladině významnosti 0,05.

Získané výsledky vedou k následujícím závěrům:

- Hladiny kyseliny benzoové v kmenech mikroorganismů se statisticky významně liší.

Obsah kyseliny benzoové v modelových jogurtech vyrobených z kozího mléka, zaočkovaných jogurtovou kulturou WV2, je statisticky významně vyšší v porovnání se všemi ostatními testovanými modelovými jogurty.

- Podle obsahu kyseliny benzoové v modelových jogurtech zaočkovaných nejfrekventovanějšími mléčnými kulturami lze rozdělit sledované kultury do tří skupin:

1. skupina: J22, RX, WV3 – průměrný obsah kyseliny benzoové 23,31 mg/kg;
2. skupina: WV2, JK – průměrný obsah kyseliny benzoové 18,52 mg/kg;
3. skupina: T767 + T, J2, JOB – průměrný obsah kyseliny benzoové 13,49 mg/kg.

Jogurtové kultury první skupiny produkují největší množství kyseliny benzoové, zatímco kultury třetí skupiny nejméně. Toto tvrzení dokládá i statisticky prokázaný významný rozdíl vztážený na produkci kyseliny benzoové.

Kultury v jednotlivých skupinách se od sebe vzájemně významně neliší. Statisticky významně se liší kultury skupiny 1 od kultur skupiny 3. Rozdíly mezi skupinou 2 a skupinami 1 a 3 nejsou ve všech případech statisticky významné.

Tab. 1. Obsah kyseliny benzoové [mg/kg] v kmenech mikroorganismů MILCOM a. s. Laktoflora – Benzoic acid content [mg/kg] in the strains of MILCOM a. s. Laktoflora microorganisms

Kmen mikroorganismů <sup>1</sup>	Titrační kyselost <sup>2</sup> [°SH]	Stanovení <sup>3</sup>			Průměr <sup>4</sup>	σ*	S <sub>R</sub> **
		1.	2.	3.			
<i>Lbc. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	51,6	9,80	9,45	9,77	9,47	0,286	3,02
<i>Str. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>	41,9	1,21	0,98	1,13	1,11	0,117	10,52

\*směrodatná odchylka – standard deviation [mg/kg]; \*\*relativní směrodatná odchylka – relative standard deviation[%]

<sup>1</sup>microorganism strain; <sup>2</sup>titratable acidity (°SH); <sup>3</sup>determination; <sup>4</sup>mean



Tab. 2: Obsah kyseliny benzoové [mg/kg] v modelových jogurtech vyrobených z kravského mléka a zaočkovaných rozdílnými jogurtovými kulturami MILCOM a. s. Laktoflora – Benzoic acid content [mg/kg] in model yoghurts produced from cow milk and inoculated with different yogurt cultures of MILCOM a. s. Laktoflora

Kultura <sup>1</sup>	J22	WV2	JK	T767+T	J2	RX	JOB	WV3
Titrační kyselost <sup>***2</sup>	42	45	33,6	42,1	45	43	42	45
1.	22,33	17,26	18,00	13,02	13,22	23,05	14,02	22,60
2.	24,84	17,60	20,80	13,45	13,22	22,25	14,47	23,32
3.	25,13	18,30	19,17	12,87	13,87	23,42	13,27	22,82
Průměr <sup>3</sup>	24,10	17,72	19,32	13,11	13,44	22,91	13,92	22,91
$\sigma^*$	1,540	0,530	1,406	0,301	0,375	0,598	0,606	0,369
$S_R^{**}$	6,39	2,99	7,28	2,30	2,79	2,61	4,36	1,61

\*směrodatná odchylka – standard deviation [mg/kg]; \*\*relativní směrodatná odchylka – relative standard deviation [%]; \*\*\*hodnoty titrační kyselosti jsou uvedeny ve °SH – values of titratable acidity are given in °SH

<sup>1</sup>culture; <sup>2</sup>titratable acidity; <sup>3</sup>mean

Tab. 3: Obsah kyseliny benzoové [mg/kg] v modelovém jogurtu vyrobeném z kozího mléka a zaočkovaném jogurtovou kulturou WV2 MILCOM a. s. Laktoflora<sup>\*\*\*</sup> – Benzoic acid content [mg/kg] in model yoghurts produced from goat milk and inoculated with yogurt culture WV2 MILCOM a. s. Laktoflora

1.	2.	3.	Průměr <sup>1</sup>	$\sigma^*$	$S_R^{**}$
34,80	33,67	34,25	34,24	0,565	1,65

\*směrodatná odchylka – standard deviation [mg/kg]

\*\*relativní směrodatná odchylka – relative standard deviation [%]

\*\*\*titrační kyselost jogurtové kultury WV2 MILCOM a. s. Laktoflora byla 42,8 °SH – titratable acidity of yoghurt culture WV2 MILCOM a. s. Laktoflora was 42.8 °SH

<sup>1</sup>mean

### Závěr

Na základě statistického hodnocení jednofaktorovou analýzou rozptylu s opakováním byl prokázán vliv jednotlivých jogurtových kultur na obsah kyseliny benzoové v jogurtech. Současně byla prokázána statisticky významná odlišnost v obsahu kyseliny benzoové ve sledovaných kmenech mikroorganismů. Přestože se obsahy kyseliny benzoové v modelových jogurtech vlivem použité kultury mění, jsou všechny stanovené hodnoty pod platným hygienickým limitem (30 mg/kg – platný od listopadu 1997).

Jogurt z kozího mléka se statisticky významně liší v obsahu kyseliny benzoové od všech modelových jogurtů vyrobených z kravského mléka. Orientační pokus s modelovým jogurtem, připraveným z kozího mléka, ukazuje na vyšší obsahy kyseliny benzoové (průměrná hodnota 34,24 mg/kg) přesahující hygienický limit. Problematice hladin kyseliny benzoové v kozím mléce a ve výrobcích z něj se budeme věnovat v další práci.

### Literatura

- BERTLING L. K. (1985): Free of preservatives but still positive for benzoic acid? Ohne Konservierungstoffe – aber Benzoësäure positiv? Dtsch. Milchwirtsch. Forsch., **36**: 135–136.
- BLANC B., BOSSET J. O., MARTIN B., JIMENO J. (1983): Echanges gazeux à la surface du fromage de gruyers en cours de maturation. Schweiz. Milchwirtsch. Forsch., **12**: 359–362.
- HORÁK V., CUHRA P., DOLEJŠKOVÁ J., LOUDA F., DRAGONOVÁ H., NEUHYBEL P. (1996): Kyselina hippurová a benzoová v mléce a mléčných výrobcích. Živočiš. Vyr., **41**: 277–279.
- KARLSON P., GEROK W., GROSS W. (1987): Pathobiochemie. Academia, Praha.
- MOORE K., SUBBA RAO P. V., TOWERS G. H. N. (1968): Degradation of phenylalanine and tyrosine by *Sporobolomyces roseus*. Biochem. J., **106**: 507–514.
- NISHIMOTO T., UYETA M., TAUE S. (1969): Precursor of benzoic acid in fermented milk. J. Food Hyg. Soc. Jap., **10**: 410–413.
- OBENTRAUT S. (1982): Der natürliche benzoësäuregehalt in österreichischen sauremilchprodukten. Milchwiss. Ber., **72**: 187–189.
- RENTERGHEM R. van (1982): Het natuurlijke benzoëzuurgehalte van yoghurt. Belg. Arch. Soc. geneesk. Gyg. Arbeids-gen. Ger. Geneesk., **40**: 530–583.
- SCHMIDT-HEBBEL H. (1983): Natural benzoic acid formation in milk products. Alimentos., **42**: 35–42.
- SIEBER S., BUTIKOFER U., BOSSET J. O. (1985): Benzoic acid as a natural compound in cultured dairy products and cheese. Int. Dairy J., **5**: 227–246.

Došlo 18. 2. 1999

Přijato k publikování 24. 6. 1999

### Kontaktní adresa:

Ing. ALENA HEJTMÁNKOVÁ, Česká zemědělská univerzita v Praze, Agronomická fakulta, 165 21 Praha 6-Suchbát, Česká republika, tel.: + 420 2 24 38 27 15, fax: + 420 2 24 38 27 15, e-mail: hejtmank@af.czu.cz