



VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE



3. seminář

PIVOVARSTVÍ A KVASNÉ TECHNOLOGIE 2006

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství

30. a 31. března 2006



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

3. seminář

PIVOVARSTVÍ A KVASNÉ TECHNOLOGIE 2006

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství

30. a 31. března 2006

Pořádající instituce:

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství

Fakulta potravinářské a biochemické technologie
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Sponzoři:



IMMUNOTECH a.s.
DRINKS UNION a.s.
Pivovar Náchod a.s.
Budějovický Budvar n.p.
Pivovar Nymburk s.r.o.
Pivovar Holba, a.s.
Pivovar Litovel, a.s.
Top Brew s.r.o.
Pivovary Staropramen a.s.
Plzeňský Prazdroj a.s.

Přípravný a organizační výbor:

Předseda: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D., e-mail: jaromir.fiala@vscht.cz

Členové: Ivana Dušková, e-mail: ivana.duskova@vscht.cz

Rudolf Jung, e-mail: rudolf.jung@vscht.cz

doc. Ing. Karel Melzoch, CSc., e-mail: karel.melzoch@vscht.cz

Dr. Ing. Petra Patáková, e-mail: petra.patakova@vscht.cz

Dr. Ing. Leona Paulová, e-mail: leona.paulova@vscht.cz

Editor: Fiala J.

Vydavatel: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Technická 5, 166 28 Praha 6

Rok vydání: 2006

ISBN 80-7080-622-2

Publikace neprošla jazykovou ani odbornou úpravou. Za obsah příspěvků odpovídají autoři.

Program:

Čtvrtek 30. března 2006 - Konferenční centrum VŠCHT Praha, kolej Sázava, areál vysokoškolských kolejí Praha 4 – Kunratice

8:00 – 9:00 Registrace účastníků

Přednášková sekce

9:00 – 9:10 Fiala J.: **Zahájení semináře**

9:10 – 9:30 Basařová G.: **Pivo, lidová tvořivost a umění**

9:30 – 9:40 Dvořáková M., Benismail N., Dostálek P.: **Stanovení antioxidační kapacity sladu – porovnání metod**

9:40 – 9:50 Dundrová D., Kaukovirta-Norja A., Fiala J.: **Nové analytické metody stanovení proteinů v technologickém řetězci od ječmene k pivu**

9:50 – 10:00 Bílá K., Brož A., Čížková H., Moravec J., Kolouchová I.: **Vliv kvality sladů na průběh kvašení a vlastnosti piva**

10:00 – 10:10 Košín P., Šavel J., Čížková H., Brož A., Kolouchová I.: **Využití moderních metod pro kontrolu aktivity kvasnic v pivovaru**

10:10 – 10:20 Kuřec M., Lehnert R., Brányik T.: **Vliv aerace na kontinuální kvašení nealkoholického piva**

10:20 – 10:30 Lehnert R., Faria M., Brányik T.: **Kontinuální fermentace v syntetickém mediu**

10:30 – 10:50 *Přestávka*

10:50 – 11:00 Spáčil J., Kuncová G., Brányik T.: **Optické senzory v pivovarství**

11:00 – 11:10 Šindelářová J., Karabín M., Dostálek P.: **Využití SPE a HPLC pro stanovení karbonylových sloučenin v pivu**

11:10 – 11:20 Dvořák J., Štěrba K., Dostálek P.: **Elektrochemické stanovení oxidu siřičitého v pivu**

11:20 – 11:30 Hulín P., Dostálek P.: **Proteiny a peptidy piva**

11:30 – 11:40 Moravcová L., Harmatha J., Čížková H., Kolouchová I.: **Fotochemické transformace resveratrolu a jeho analogů**

11:40 – 11:50 Heřman J., Klišová T., Patáková P.: **Obrazová analýza kvasinek I**

- 11:50 – 12:00 Klišová T., Heřman J., Patáková P.: **Obrazová analýza kvasinek II**
- 12:00 – 12:10 Horáková K., Sekavová B., Melzoch K.: **Studium bakterií rodu *Thermus* s využitím obrazové analýzy**
- 12:10 – 12:20 Najralová V., Sekavová B., Paulová L.: **Studium vlivu kultivačních podmínek na fyziologický stav kvasinek**
- 12:20 – 12:30 Dušková D., Paulová L.: **Studium kinetiky růstu kvasinek při kultivaci v laboratorním bioreaktoru**
- 12:30 – 14:00 *Přestávka na oběd*
- 14:00 – 14:20 Dvořák J., Lapišová K., Moravec J., Rychtera M.: **Zvýšení účinnosti degradace organických látek v bioreaktoru s recyklem mikroorganismů**
- 14:20 – 14:30 Šmardová A., Jelínková M., Patáková P.: **Identifikace termofilních mikroorganismů pomocí PCR**
- 14:30 – 14:40 Staněk O., Šimšová M., Šebo P., Melzoch K.: **Konstrukce, fermentační příprava a purifikace rekombinantních toxoidů ACT nesoucích antigeny *Mycobacterium tuberculosis***
- 14:40 – 14:50 Kasper J., Kyslík P., Melzoch K.: **Purifikace a charakterizace nové epoxidhydrolasy z kvasinky *Rhodotorula mucilaginosa* M002**
- 14:50 – 15:00 Šúchová E., Dvořák M., Chumchalová J.: **Sledování stability bakterií mléčného kvašení v sójových fermentovaných výrobcích v průběhu skladování**
- 15:00 – 15:20 *Přestávka*

Prezentace firem

- 15:20 – 16:00 Presentace firem
- 16:00 – 16:30 Diskuse
- 16:30 Společné setkání účastníků semináře – místo bude upřesněno (není zahrnuto v konferenčním poplatku)

Pátek 31. března 2006 - Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Posterová sekce

Diskuse v prostorách Ústavu kvasné chemie a bioinženýrství

Možnost návštěvy vybraných laboratoří a technologické haly ÚKCHB

Sraz účastníků 9:00 hodin před knihovnou ÚKCHB, VŠCHT Praha - budova A, Technická 5, Praha 6, 1. patro

Od 12:00 hodin možnost návštěvy výstavy „**Kde se pivo vaří**“ v Národním zemědělském muzeu

Sraz účastníků 11:30 hodin před budovou A, VŠCHT Praha, Technická 5, Praha 6.

Souhrny příspěvků

Pivo, lidová tvořivost a umění

Basařová Gabriela

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Pivo je po staletí oblíbeným nápojem obyvatel našeho státu a není proto divu, že se stalo námětem řady národních a znárodnělých písniček, pořekadel, básní, o pivě se zpívá i v operách. Také mistři štětce, karikaturisté, řezbáři, mědikovci a další múzami obdaření tvůrci nacházeli zalíbení v pivovarských motivech. Zásahu na soustředění písniček s pivovarskou tematikou má mnoho našich známých literátů jako K.J.Erben, J. Kollár, J.V. Sládek, C. Holas a j., stejně jako tvůrci zpěvníků J. Němeček, Č. Zíbrt a mnoho dalších. Pivovarským písničkám patří :“Kde je sládek...” považovaná za hymnu českých pivovarníků a pocházející z roku 1820 zřejmě od J. Němečka..Pivovarské motivy se najdou i ve vážné hudbě, např. v naší ryze národní opeře B. Smetany „Prodaná nevěsta“ zpěv „to pivečko je věru nebeský dar....“). Existuje i rukopis opery z počátku 19.století „Opera praxatoria (přeloženo Sladovnická opera)“.

Velké množství pivovarských pořekadel skrývá v sobě mnoho moudrých rad, popisy významu surovin, výroby piva, pokání i furianství pijáků, vyjadřují lásku k tomuto oboru i úctu k těm, kteří dali sládkovi život či se zasloužili o jeho vzdělání.

Pivovarské motivy provázely českou beletrii a prózu od pradávna. Najdeme je v dílech J.K.Erbena. Z. Wintra, S. Čecha, J. Haška, B. Hrabala a mnoha dalších literátů.

Rovněž v dílech mnoha malířů se vyskytují pivovarské motivy. Z nichž především M. Aleš je použil nejen ve svých obrazech, ale i na sgrafitech domů na př. v Plzni. Pivovarské motivy se najdou v dílech V. Rady, V.H.Brunnera, A. Muchy a pochopitelně hlavně v dílech karikaturistů jako je V. Renčín, J. Vyčítal aj. Pochopitelně pivovarská tematika pronikla i do řady divadelních her a filmů. V neposlední řadě je uznávat jako umění i krásné řezbářské práce, které vyšly přímo z dílen českých pivovarů.

Stanovení antioxidační kapacity sladu – porovnání metod

Dvořáková Markéta^{1,2}, Benismail Nizar², Dostálek Pavel¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²IFBM, Institute Francais des Boissons de la Malterie et Brasserie, Nancy, Francie

Cílem práce bylo porovnat různé druhy sladu z hlediska jejich antioxidační kapacity a dále také z hlediska obsahu jednotlivých polyfenolů. Bylo porovnáváno 10 různých vzorků sladů ze dvou pěstebních oblastí, z oblasti francouzské a české. Pro stanovení antioxidační kapacity byly použity následující metody: ABTS, FRAP a DPPH. Nejcitlivější metodou byla metoda ABTS. Nejvyšší antioxidační kapacitu vykazovala odrůda Regalia z pěstební oblasti Francie (3,5 μmol kyseliny galové/ g_{dw} – metoda ABTS), na druhém místě se umístily odrůdy Esterel (Francie, 3 μmol kyseliny galové / g_{dw}) a Prestige 185 (ČR, 3 μmol kyseliny galové / g_{dw}).

Jednotlivé polyfenoly byly stanovovány metodou HPLC s UV detekcí (detektor diodového pole). Katechin byl nejvíce obsažen u všech odrůd, jeho obsah se pohyboval od 5 do 20 mg/kg sladu. Dále byly ve vysokých koncentracích nalezeny tyto fenolové sloučeniny: epikatechin, rutin, kyselina galová, ferulová, p-kumarová a skořicová. Všechny tyto sloučeniny přispívají 1-10 % k celkové antioxidační kapacitě sladu.

Nové analytické metody stanovení proteinů v technologickém řetězci od ječmene k pivu

Dundrová Dagmar^{1,2}, Kaukovirta-Norja Anu², Fiala Jaromír¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²VTT Biotechnology, Finland

Pivo je populární nápoj na celém světě. Výběr přírodních surovin, vody, kvasnic, přísad a podmínek procesu, to vše má vliv na kvalitu piva.

Mezi látky, které mají vliv na kvalitu piva řadíme i proteiny. Proteiny jsou polymery, které jsou tvořeny z různých aminokyselin. Ječmen obsahuje několik typů proteinů, např. funkční proteiny - enzymy a zásobní proteiny - hordeiny. Proteiny hrají důležitou roli v pěnovosti, barvě, chuti a koloidní stabilitě piva. Proteiny piva jsou konečným produktem přeměny proteinů ječmene během technologického procesu sladování a vaření piva. V pivovarství bývají proteiny analyzovány tradičními metodami zahrnujícími stanovení celkového obsahu proteinů, rozpustného dusíku a volného amino dusíku. Komplexní studium reakce proteinů během pivovarského procesu však vyžaduje dokonalejší citlivé metody.

Cílem této práce byla aplikace moderních metod stanovení proteinů v ječmeni v rámci technologického řetězce. Proteiny, peptidy a aminokyseliny byly analyzovány v ječmeni, sladu a mladině. Pro detekci a analýzu proteinů byly použity metody SDS-PAGE a dvourozměrná elektroforéza (2D-PAGE). Pro separaci a detekci peptidů byla použita kapilární elektroforéza. Aminokyseliny byly analyzovány vybranou metodou.

Tři frakce hordeinů (B, C, D hordein) jsme získali SDS-PAGE elektroforézou. B-hordein byl hlavní frakcí ve vzorcích ječmene a sladu, přestože rozsáhlá část hordeinů byla degradována během sladování. Dvourozměrná elektroforéza byla použita k porovnání všech vzorků rozpustných proteinových frakcí ječmene, sladu a mladiny. Nejnížší množství peptidů bylo detekováno v ječmeni kapilární elektroforézou a nejvyšší množství peptidů bylo stanoveno ve sladu. Hlavní aminokyselinou ve všech vzorcích byl prolin.

Vliv kvality sladů na průběh kvašení a vlastnosti piva

Bílá Klára¹, Brož Adam^{1,2}, Čížková Hana¹, Moravec Josef¹, Kolouchová Irena¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Budějovický Budvar, n.p., České Budějovice

Cílem práce na téma „Vliv kvality sladů na průběh kvašení a vlastnosti piva“ bylo ověření významu kritérií jakosti charakterizujících jednotlivé odrůdy sladů. Zvýšená pozornost byla věnována souvislosti mezi sledovanými parametry meziproduktů a hotového piva a mírou rozluštění sladu. Ověřovanými slady byly slady z odrůd ječmenů Kompakt, Scarlett a Bio slad. Formou čtvrtprovozních pokusných várek bylo připraveno devět várek (z každého sladu tři), vedených do stadia hotového piva. Základní kvalitativní a kvantitativní parametry, příslušející použitému sladu byly porovnávány v průběhu hlavního kvašení a dokvašování. U ověřovaných sladů Kompakt, Scarlett a Bio byly potvrzeny rozdíly v rychlosti úbytku extraktu a hloubce prokvašení vyplývající z charakteristiky sladů. Obsah celkových a jednotlivých aminokyselin se výrazně nelišil a do určité míry potvrdil vyšší proteolytické rozluštění sladu Scarlett. Větší rozdíly byly se stejnou tendencí zaznamenány v obsahu aminodusíku. Stanovení sacharidů a oligosacharidů ukázalo na jejich rozdílné zastoupení ve sladině, mladíně, mladém a hotovém pivu. Tendenci k vyšším hodnotám oligosacharidů vykazoval slad z odrůdy Kompakt a Bio. Slad z odrůdy ječmene Scarlett měl vyšší podíl sacharidů fruktosy, glukosy a maltosy. Zvolené metody senzorické analýzy hotových výrobků určily jako pivo s nejlepším senzorickým profilem pivo z odrůdy Scarlett, při celkovém dobrém hodnocení ostatních piv.

Využití moderních metod pro kontrolu aktivity kvasnic v pivovaru

Košín Petr¹, Šavel Jan², Čížková Hana¹, Brož Adam^{1,2}, Kolouchová Irena¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Budějovický Budvar, n.p., České Budějovice

Stav kvasnic nasazovaných v provozním kvašení má zásadní vliv na výslednou kvalitu produktu, proto je jeho kontrola nedílnou součástí každodenní pivovarské praxe. Metody používané k rutinní kontrole musejí splňovat základní požadavky jako je rychlost a spolehlivost stanovení. V odborné literatuře lze nalézt moderní metody, které vedle těchto požadavků nabízejí oproti klasickým metodám vyšší přesnost výsledků.

Úkolem této práce bylo ověření moderních metod kontroly kvasnic přímo v pivovarském provozu, dále pak s využitím vybraných metod prověřit různé vlivy na kvašení a zhodnotit stav kvasnic při hlavním kvašení a dokvašování.

Metody kontroly kvasnic se rozdělily do tří skupin na metody pro stanovení viability, testy vitality a metody pro určení koncentrace kvasnic. U metod stanovení viability se prověřovaly výhody fluorescenčních barviv oproti methylenové modři, u testů vitality se hledala schopnost předpovídat průběh kvašení a pro metody stanovení koncentrace se hledala korelace s přímým počítáním buněk.

Z ověřovaných metod stanovení viability se žádná neukázala pro rutinní využití výhodnější než klasické barvení methylenovou modří a výsledky testů aktivity nasazovaných kvasnic nekorelovaly s délkou provozního kvašení. Rychlé metody stanovení koncentrace kvasnic se ukázaly jako vhodné pro provozní využití.

Vliv aerace na kontinuální kvašení nealkoholického piva

Kuřec Michal, Lehnert Radek, Brányik Tomáš

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Cílem této práce byla optimalizace provozních podmínek kontinuálního kvašení nealkoholického piva, zejména pak množství kyslíku dodaného do reaktoru. Vliv kyslíku na tvorbu organolepticky aktivních látek jako vicinálních diketonů, esterů, vyšších alkoholů a aldehydů byl sledován během kontinuálního kvašení modelového syntetického média simulujícího složení pivovarské mladiny. Součástí práce bylo určit celkový přísun kyslíku do reaktoru, aby mohla být tvorba výše uvedených látek vztažena na přesné množství kyslíku.

Pro určení množství vstupujícího kyslíku prostřednictvím plynu sloužícího k promíchávání bylo nutné změřit rychlost přestupu kyslíku z plynu do kapaliny, která je charakterizována objemovým koeficientem přestupu kyslíku $k_L a$. Znalost hodnoty $k_L a$ nám pak umožňuje dávkovat do reaktoru požadované a kontrolovatelné množství kyslíku. Hodnoty $k_L a$ byly sledovány v závislosti na množství nosiče v reaktoru.

K experimentu byl použit air-lift reaktor s vnitřní cirkulací o pracovním objemu 2,9 litrů a jako nosič pro kvasinky přečištěné mláto. Kontinuální fermentace probíhala při 8°C a při pracovní zředovací rychlosti okolo 0,21 h⁻¹. V průběhu fermentace byl měněn celkový přísun kyslíku od 0,6 do 16,61 mg_{O₂}/l.h.

Přímý vliv kyslíku na tvorbu vicinálních diketonů nebyl potvrzen. Nicméně koncentrace vicinálních diketonů se pohybovaly v hodnotách pod prahem vnímání. Tvorba vyšších alkoholů se zvyšovala s růstem kyslíku, při maximální aeraci ovšem došlo k poklesu. U esterů byl potvrzen trend jejich klesající tvorby s vyšším přísunem kyslíku. Jejich hladina však byla celkově velmi nízká, což mělo negativní vliv na poměr vyšších alkoholů k esterům (A/E), který pak byl vysoký. U aldehydů nebyl pozorován vliv kyslíku na rychlost jejich redukce, tato rychlost byla ovšem plně srovnatelná s výsledky z jiných kontinuálních systémů na výrobu nealkoholického piva.

Kontinuální fermentace v syntetickém mediu

Lehnert Radek, Faria Marta, Brányik Tomáš

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Výhody kontinuální fermentace jsou z hlediska inženýrského poměrně dlouho známé. Ať už se jedná o méně časté manipulační práce a sanitace mezi jednotlivými fermentacemi v porovnání se vsádkovou fermentací nebo o zkrácení doby fermentace v důsledku zintenzivnění sdílení hmoty při použití promíchávaného reaktoru. V naší práci zvolený reaktor, gas-lift reaktor u něhož dochází k homogenizaci jeho obsahu probubláváním proudem hnacího plynu, tuto druhou výhodu má. Vhodnou volbou nosiče lze dále zvýšit koncentraci biomasy uvnitř reaktoru a tím zvýšit produktivitu systému. V průběhu fermentace byla kontrolována koncentrace glukosy a ethanolu a také byla měřena koncentrace senzoricky aktivních látek v produktu (vicinální diketony, estery a vyšší alkoholy). Současně byla sledována viabilita jednotlivých buněk (volně rozptýlené i imobilizované) průtokovou cytometrií za použití fluorescenčních barviv.

Z výsledků koncentrací jednotlivých látek na výstupu z reaktoru na zředňovací rychlosti (D) v ustáleném stavu systému vyplývá, že zvýšení D má za následek pokles koncentrace glukosy a naopak zvýšení koncentrace ethanolu na výstupu z reaktoru. Dalším měněným parametrem v průběhu fermentace byla teplota. Byly porovnány stacionární stavy fermentací při 2°C, 5°C, 10°C a 15°C a dosažení koncentrace ethanolu na výstupu 0,5 % objemových. Z výsledků vyplývá, že s rostoucí teplotou roste obsah vicinálních diketonů a zkracování dob prodlení v reaktoru pro stejnou koncentraci ethanolu.

Optické senzory v pivovarství

Spáčil Jaroslav¹, Kuncová Gabriela², Brányik Tomáš¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Ústav chemických procesů AV ČR

Standardní metody ke stanovení důležitých složek během biotechnologických výrob, včetně výroby piva, zahrnují celou řadu metod od titračních až po chromatografické.

V dnešní době je snaha o on-line monitorování biologických procesů. Pro toto monitorování by se dalo využít optických senzorů. Mezi jejich výhody patří rychlá odezva, malá velikost a snadná manipulace.

Tato práce je zaměřena na vývoj optických biosenzorů a možnost jejich využití v pivovarnictví. Princip tohoto optického senzoru je založen na monitorování intenzity fluorescence rutheniového komplexu v ORMOCERU[®] s imobilizovaným enzymem. Intenzita fluorescence komplexu je zhasena kyslíkem, který využívá enzym pro oxidaci detekované látky.

Experimentální část zahrnuje přípravu citlivé vrstvy senzoru, sledování vlivu jednotlivých složek senzoru, vliv vnějších podmínek a měření reálných vzorků.

Obsah glukózy zjištěný off-line měřením optickým biosenzorem byl porovnán s komerčním enzymovým testem a HPLC.

Byly provedeny testy s biosenzorem pro stanovení etanolu, ale pro optimální měření s tímto biosenzorem je třeba dalších experimentů.

Využití SPE a HPLC pro stanovení karbonylových sloučenin v pivu

Šindelářová Jana, Karabín Marcel, Dostálek Pavel

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Obsah karbonylových sloučenin v pivu byl stanovován s využitím HPLC ve formě 2,4-dinitrofenylhydrazonů příslušných karbonylových sloučenin. Použit byl systém HPLC s gradientovou elucí s dvosložkovou mobilní fází acetonitrilem a vodou (rostoucí podíl organické fáze). Látky byly detekovány pomocí detektoru diodového pole, proměřováno bylo spektrum od 220 do 280 nm. Kvantifikace proběhla při 254 nm.

Karbonylové látky byly z piva uvolňovány buď probubláváním vzorku piva inertním plynem (dusík) nebo destilací vzorku s vodní parou.

Vlastní 2,4-dinitrofenylhydrazony vznikly reakcí s 2,4-dinitrofenylhydrazinem buď přímo na SPE kolonce nebo v destilátu.

Stanovovány byly následující látky: acetaldehyd, diacetyl, 2-furaldehyd, 2-methylpropanal, 2-methylbutanal, 3-methylbutanal, pentanal, hexanal a *E*-2-nonenal.

Elektrochemické stanovení oxidu siřičitého v pivu

Dvořák Josef, Štěrbá Karel, Dostálek Pavel

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

V této práci je popsána chronopotenciometrická metoda pro stanovení celkového oxidu siřičitého v pivu. Volné a vázané siřičitany jsou alkalizací vzorku přeměněny na siřičitanový anion. Po okyselení roztoku je uvolněný oxid siřičitý separován přes semipermeabilní membránu a transportován elektrolytem do měřicí cely, kde je měřen rozpouštěcí chronopotenciometrií. Navrhovaná metoda byla validována a porovnána s třemi EBC (European Brewery Convention) metodami, 9.25.1. – Celkový oxid siřičitý v pivu: Destilační metoda, 9.25.2 – Celkový oxid siřičitý v pivu: Enzymová metoda (archivovaná metoda) a 9.25.3 – Celkový oxid siřičitý v pivu: *p*-rosanilinová metoda. Relativná směrodatná odchylka opakovatelnosti je 8,6% pro běžnou hladinu SO₂ v pivu (3,0 mg/l). Výsledky chemického měření byly ve shodě s výsledky z porovnávaných EBC metod. Přípravovaná metoda je mnohem rychlejší a jednodušší než EBC metody. Dalším cílem této práce bylo ověřit vliv kmene pivovarských kvasinek na tvorbu oxidu siřičitého. Během modelových fermentací s pěti kvasničnými kmeny v laboratorních podmínkách byla prokázána významná rozdílnost mezi testovanými kmeny. Tvorba oxidu siřičitého během fermentace byla výrazně ovlivněna teplotou a tlakem kvašení, koncentrací rozpuštěného kyslíku v zakvašované mladině a koncentrací mladiny. Vliv zákvasné dávky a koncentrace síranů v mladiny byl nevýznamný.

Závěrečná část této práce je věnována monitorování obsahu oxidu siřičitého v rozdílných značkách pív, studiu ztráty oxidu siřičitého během skladování lahvových pív a zkoumání vlivu oxidu siřičitého na zlepšení staré chuti piva.

Proteiny a peptidy piva

Hulín Petr, Dostálek Pavel

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Do piva přecházejí rozpustné proteiny a peptidy sladu a kvasnic, které jsou zároveň dostatečně stabilní vůči aktivitě proteolytických enzymů, teplotě a pH prostředí v průběhu pivovarského procesu. Technologický význam těchto látek spočívá v ovlivnění tvorby a stability pěny, možnosti vzniku koloidních zákalů a podpoře plnosti chuti piva. Mezi zákalotvorné peptidy patří především hordeinové peptidy, které se vyznačují vysokým obsahem glutaminu a prolinu. Vlastnosti pивní pěny ovlivňují protein Z, dále pak níže- i výšemolekulární deriváty hordeinů.

Analytické metody se zaměřují buď na stanovení celkových proteinů piva (metoda Bradfordové, absorbance při 280 nm, Lowryho metoda apod.) , nebo na stanovení jednotlivých bílkovinných frakcí. Pro frakcionaci a následnou detekci proteinů a peptidů se využívá elektroforetických, chromatografických, případně imunochemických metod.

Tato práce se konkrétněji zabývá možnostmi imunochemické detekce hordeinové frakce bílkovin ječmene a případných štěpných derivátů, respektive charakterizací monoklonálních protilátek připravených za účelem vývoje rychlého, specifického a citlivého stanovení hordeinových derivátů v pivu.

Fotochemické transformace resveratrolu a jeho analogů

Moravcová Lenka¹, Harmatha Juraj², Čížková Hana¹, Kolouchová Irena¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²ÚKCHB AV ČR

Fenolová látka *trans*-resveratrol (3,4',5-trihydroxystilben) patří mezi hlavní antioxidanty obsažené ve víně. Už několik let je předmětem intenzivního studia, protože vykazuje řadu pozitivních účinků na lidské zdraví.

Předložená práce se zabývá fotochemickou transformací *trans*-resveratrolu, jejímiž produkty jsou *cis* izomer resveratrolu a jeho dehydroderivát 3,5,7-trihydroxyfenantren, dále dimery, trimery a další oligomery. Produkty vzniklé touto cestou měly poskytnout látky obsažené v botrytických vínech, kde vznikají biotransformací ušlechtilou plísní *Botrytis cinerea*. Měly umožnit získání těchto vzácných přírodních látek přístupnější syntetickou cestou.

Stanovení těchto látek a produktů fototransformace probíhalo metodou HPLC s UV detekcí a metodou HPLC-MS. U některých již izolovaných látek byla provedena identifikace metodou NMR.

Bylo zjištěno, že fototransformací dochází ke vzniku velkého množství dimerů, trimerů i tetramerů, ale z dosavadních výsledků za našich podmínek nedochází ke vzniku látek identických s látkami v běžných a botrytických vínech. Převážně jde o strukturní analogy přírodních látek vhodných k dalšímu biologickému testování a k vzájemnému porovnání jejich biologických vlastností.

Obrazová analýza kvasinek I

Heřman Jakub, Klišová Tereza, Patáková Petra

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Cílem této práce bylo ověření možnosti použití metody obrazové analýzy v oborech, ve kterých se tato metoda zatím příliš neuplatňuje. Jednalo se o sledování kultivace obrovských kolonií kvasinek na povrchu tuhých substrátů, dále potom o submerzní vsádkovou kultivaci kvasinek ve třepaných baňkách za různých kultivačních podmínek a nakonec byla tato metoda použita při kontinuálních kultivacích kvasinek v laboratorním bioreaktoru. V průběhu měření byla vypracována metoda zpracování naměřených dat.

Při kultivacích obrovských kolonií kvasinek *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae* a *Pichia anomala* na tuhých substrátech byl sledován vliv teploty. Kolonie byly kultivovány souběžně při laboratorní teplotě a při konstantní teplotě 30°C. Hlavními parametry k posouzení průběhu kultivace byla změna plochy kolonie v závislosti na čase a s tím související hodinový nárůst kolonie, které umožnily určit rychlost růstu kolonie za daných podmínek a také barevná změna ΔE .

Dalším prováděným experimentem byla submerzní vsádková kultivace ve třepaných baňkách. Jejím cílem bylo zjistit, jak se mění morfologie a tvorba shluků kvasinek *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Pichia anomala* a *Pichia pastoris* v závislosti na přítomnosti odlišných zdrojů uhlíku, v našem případě glukózy, glycerolu a methanolu. Kontrola průběhu kultivací byla prováděna běžnými metodami, jako je vážkové určení sušiny, počítání buněk či analýza zbytkového substrátu pomocí HPLC. Dále byly kultivace vyhodnocovány pomocí analýzy obrazu. Byla popsána časová závislost tvorby shluků buněk a byl vytvořen postup k identifikaci a digitální separaci objektů jiných tvarů a velikostí od kultivovaných buněk.

Další částí této práce byla kontinuální kultivace kvasinky *Pichia pastoris* v bioreaktoru. Použití metody analýzy obrazu opět doplňovalo konvenční metody sledování kultivací. Při vyhodnocování bylo postupováno analogicky jako při kultivacích ve třepaných baňkách. Zvláště se zde uplatnila možnost identifikace odlišných objektů, a to při zjišťování přítomnosti jiných morfologických forem kultivovaných kvasinek, které se při těchto pokusech vyskytovaly.

Obrazová analýza kvasinek II

Klišová Tereza, Heřman Jakub, Patáková Petra

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Cílem naší práce je sledování obrovských kolonií kvasinek *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Saccharomyces cerevisiae* a *Pichia pastoris*.

Kvasinky byly kultivovány na Sabouradově agaru po dobu 14dnů za různých kultivačních podmínek: teploty 10, 20 nebo 25°C; přídavek 1 nebo 2% NaCl do kultivačního média. V pravidelných časových intervalech byly snímány obrazy kolonií, které byly následně zpracovány a vyhodnoceny v programu pro obrazovou analýzu LUCIA (Laboratory Imaging s.r.o., ČR). Hlavními sledovanými parametry byly: plocha kolonie, ekvivalentní průměr, obvod, cirkularita, vlnová délka barvy kolonie a hodnoty L, a, b, ze kterých byla vypočtena změna barvy kolonie v průběhu kultivace(ΔE). Změna v barevnosti kolonie u kvasinek *Rhodotorula* byla porovnána s obsahem karotenoidních pigmentů. Plocha a průměr kolonie byly porovnány se sušinou biomasy a počtem buněk v kolonii.

Studium bakterií rodu *Thermus* s využitím obrazové analýzy

Horáková Květoslava, Sekavová Barbora, Melzoch Karel

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Předmětem práce bylo studium morfologických a fyziologických změn bakterií rodu *Thermus* s využitím optických metod. Byly studovány mikrobiální druhy *Thermus species*, *Thermus ruber* a *Thermus aquaticus* z České sbírky mikroorganismů.

Ke studiu morfologických změn byla využita světelná mikroskopie s následnou počítačovou analýzou obrazu. Mikroskopická pozorování byla zaznamenávána ve formě digitálních fotografií, které byly dále zpracovány softwarem Lucia Imagine pro obrazovou analýzu. U jednotlivých buněk byly měřeny změny délky, šířky, plochy a cirkularity v závislosti na stáří populace a na změně teploty. Mezi nejvýznamnější morfologické změny bakterií rodu *Thermus* patřilo prodlužování analyzovaných částic vlivem stoupající teploty a nárůst plošného obsahu během exponenciální fáze růstu.

Studium fyziologických změn se opíralo o barvení buněk fluorescenčními barvivy a následnou detekci fluorescence průtokovou cytometrií a fluorescenční mikroskopií. Byla využita barviva, která detekují membránovou integritu, membránový potenciál a aktivitu buněčných esteráz. Ke sledování změn integrity cytoplazmatické membrány byla aplikována barviva propidium jodid, ethidium bromid a SYTOX. Aktivita buněčných esteráz byla detekována fluorescein diacetátem, 5(6)-karboxyfluorescein diacetátem a kalcein acetoxymethyl esterem. Ke studiu potenciálu na cytoplazmatických membránách buněk byl využit rhodamin 123, 3,3'-diethyloxakarbokyanin jodid a bis-(1,3-dibutylbarburic acid) trimethine oxonol. Dále bylo používáno barvivo SYTO k detekci všech buněk. K nejvýznamnějším fyziologickým změnám patřil pokles zastoupení životaschopných buněk se zvýšením teploty kultivace a při přechodu buněk do stacionární fáze růstu.

Pro jednotlivá barviva a příslušné kmeny byly nejprve zavedeny metody barvení, při kterých byl sledován například vliv koncentrace barviva a doby inkubace na výslednou fluorescenci, rychlost úniku barviva z buněk za čas, či byla mapována účinnost jednotlivých barviv v různých fázích buněčného růstu.

Kultivace mikroorganismů probíhaly 5 dnů při teplotách 50°C a 75°C v Luria-Bertani médiu. Bylo ověřeno, že počítačová analýza obrazu a průtoková cytometrie jsou objektivní a rychlé metody, které lze s výhodou využít pro studium morfologických a fyziologických charakteristik v průběhu kultivací.

Studium vlivu kultivačních podmínek na fyziologický stav kvasinek

Najralová Veronika, Sekavová Barbora, Paulová Leona

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Práce byla zaměřena na sledování vlivu kultivačních podmínek na fyziologický stav rekombinantní kvasinky *Pichia pastoris*. Ke studiu byly použity optické metody, konkrétně světelná a fluorescenční mikroskopie a průtoková cytometrie. V první části práce byl proveden screening vhodných barviv a současně byly optimalizovány podmínky barvení. Ke sledování fyziologického stavu *Pichia pastoris* byla použita fluorescenční barviva, která lze z hlediska jejich působení na buňky rozdělit do 3 skupin: barviva pro sledování membránové integrity, barviva ke studiu membránového potenciálu a ke stanovení esterasové aktivity buněk. Ze skupiny pro studium membránové integrity byl zkoumán propidium jodid, ethidium bromid a Sytox Green. Ze skupiny pro studium membránového potenciálu bis-(1,3-dibutylbarbiturová kyselina) trimethin oxonol (dále jen bis-oxonol), 3,3'-diethyloxakarbokyanin jodid ($\text{DiOC}_2(3)$) a Rhodamin 123 a z barviv k určení esterasové aktivity byl zkoumán fluorescein diacetát a 5(6)-karboxyfluorescein diacetát. U všech barviv byla provedena optimalizace podmínek značení, kde byly barveny jak vitální buňky, tak buňky fixované ethanolem, varem a přídavkem metabolického rozpojovače oxidativní fosforylace karbonylkyanid-m-chlorofenylhydrazonem (CCCP). Z těchto fluorescenčních sond byly vybrány jako nejvhodnější barviva propidium jodid a bis-oxonol k monitorování fyziologického stavu kvasinky *P.pastoris*.

Ve druhé části práce byl sledován vliv podmínek kultivace na fyziologický stav rekombinantní kvasinky *Pichia pastoris* produkující rekombinantní protein při kontinuální kultivaci v laboratorním bioreaktoru. Nejprve byl sledován fyziologický stav buněk populace v ustáleném stavu kontinuální kultivace v uspořádání chemostatu pro různé zřed'ovací rychlosti a poté byl sledován vliv různých podmínek (snížení teploty a pH) na fyziologii *Pichia pastoris*. Byla též sledována fyziologická odezva populace na produkci proteinu po indukci exprese methanolem. Bylo zjištěno, že produkce proteinu nesnižuje životaschopnost populace kvasinky *Pichia pastoris*, ale na fyziologický stav buněk má negativní vliv zvyšující se zbytková koncentrace methanolu v médiu.

Studium kinetiky růstu kvasinek při kultivaci v laboratorním bioreaktoru

Dušková Dana, Paulová Leona

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Předmětem práce bylo sledování vlivu kultivačních podmínek na kinetické parametry růstu kvasinky *Pichia pastoris* a kinetiku tvorby produktu v laboratorním bioreaktoru za podmínek kontinuální kultivace v uspořádání chemostatu. Kultivace byly prováděny na směsném substrátu, kde jedním ze zdrojů uhlíku a energie byl metanol. Byl použit rekombinantní Mut⁺ kmen kvasinky *Pichia pastoris* produkující po indukci metanolem extracelulární rekombinantní protein.

V práci byly proměřovány ustálené stavy kontinuální kultivace, kdy kultura rostla za podmínek limitace zdrojem uhlíku a energie a kdy byly zaručeny definované podmínky kultivace. Během ustáleného stavu dosáhly všechny měřené parametry týkající se růstu a metabolismu ustálených hodnot. Ustáleného stavu vzhledem k tvorbě produktu se však dosáhnout nepodařilo. Koncentrace produktu během ustáleného stavu kontinuální kultivace klesala. Tento jev byl způsoben zřejmě degradací produktu vlivem proteolýzy a autokatalytické degradace. Nejvyšší koncentrace produktu 121 mg.l⁻¹ a nejvyšší specifické rychlosti produkce 0,66 mg.g_{suš}⁻¹.h⁻¹ bylo dosaženo pro zřed'ovací rychlost 0,15 h⁻¹.

Při vyplavovacích (wash – out) experimentech byla zjištěna maximální specifická růstová rychlost buněk na daném směsném substrátu (0,270±0,003) h⁻¹ a maximální výtěžnost biomasy na celkový uhlík obsažený v médiu (1,62±0,07) g.g_{suš}⁻¹.h⁻¹.

Zvýšení účinnosti degradace organických látek v bioreaktoru s recyklem mikroorganismů

Dvořák Jan, Lapišová Kateřina, Moravec Josef, Rychtera Mojmír

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Předložená práce se zabývá zvýšením účinnosti degradace organických látek v bioreaktoru s recyklem mikroorganismů.

Pro všechny experimenty byla použita směsná termofilní aerobní bakteriální populace získaná z čistírny odpadních vod. Termofilní aerobní mikroorganismy se vyznačují velmi malým nárůstem biomasy a vysokou degradační účinností. Cílem práce bylo zjistit, zda při vyšší koncentraci mikroorganismů lze docílit vyšší degradace organických látek. Zvýšená koncentrace mikroorganismů byla dosažena úplným recyklem mikroorganismů.

Veškeré kultivace byly prováděny v bioreaktoru MBR–BIOREACTOR, AG, Švýcarsko. Pro kontinuální kultivace s recyklem biomasy byla k bioreaktoru připojena membránová separační jednotka ARNO 600 – BIO (výrobce Mikropur s.r.o, Hradec Králové). Kultivace probíhaly při teplotě 55 °C a pH 6,5. Glycerol v mediu simuloval odpadní vodu o vysoké hodnotě CHSK. Průběh kultivací byl monitorován „on–line“ (koncentrace rozpuštěného kyslíku, koncentrace CO₂ v odcházejících plynech) a „off–line“ (CHSK, koncentrace glycerolu, koncentrace suché biomasy).

Vsádkové kultivace měly za cíl zjistit základní charakteristiky procesu a vlastnosti směsné populace pro dané polosyntetické médium. Kontinuální kultivace s recyklem biomasy byly realizovány při různých hodnotách zředovací rychlosti a koncentrace uhlíkatého zdroje v mediu. Celkem byly provedeny dvě vsádkové kultivace a čtyři kontinuální kultivace s recyklem biomasy. Pro navržené médium byl nalezeny optimální podmínky kultivace s úplným recyklem biomasy.

Identifikace termofilních mikroorganismů pomocí PCR

Šmardová Anna, Jelínková Markéta, Patáková Petra

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Tato práce byla zaměřena na aplikaci metod PCR-RFLP a RAPD pro identifikaci bakterií ze směsí.

Prvním krokem pro zavedení těchto metod je úspěšná izolace dostatečného množství čisté DNA z bakteriálních kultur. Při izolaci bylo vyzkoušeno celkem 5 metod, z toho 2 komerční kity (od firmy Roche, USA a Sigma, Německo). Podle naměřených výsledků byly vybrány právě kity jako nejvhodnější metoda pro izolaci genomické DNA a to jak z hlediska její čistoty, tak i získaného množství. Dále bylo zjištěno, že při izolaci DNA z termofilních bakterií je třeba buněčnou stěnu permeabilizovat pro lytické činitele. Jako nejvhodnější způsob pro permeabilizaci byl zvolen roztok lysozymu (15 mg/ml).

U metody PCR-RFLP byla prvním krokem úspěšná amplifikace úseku kódujícího 16S rRNA. K tomuto účelu byly použity specifické primery 160B7 a 160B4. Získané fragmenty měly velikost 1500 bp.

Produkt PCR reakce byl dále podroben RFLP analýze za použití 4 restričních endonukleáz: *Alu I*, *Cfo I*, *Hae III* a *Taq I*. Při této analýze byly vyzkoušeny různé teplotní i časové profily, avšak ani v jednom případě nedošlo k vizualizaci výsledku. To bylo nejspíše způsobeno nízkou koncentrací fragmentů, která se pohybovala pod detekčním limitem používaného gelu.

Při aplikaci RAPD analýzy s použitím primerů OPR13 a OPI07 se povedlo sestavit elektroforetické profily pro všechny bakterie použité v této práci. Výsledky jsou i přes charakter této metody víceméně porovnatelné s literárními zdroji.

Konstrukce, fermentační příprava a purifikace rekombinantních toxoidů ACT nesoucích antigeny *Mycobacterium tuberculosis*

Staněk Ondřej¹, Šimšová Marcela², Šebo Peter², Melzoch Karel¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²MBÚ AV ČR Praha

Tuberkulóza (TBC), obávané plicní onemocnění, je v současné době opět na vzestupu a to nejen v chudých zemích třetího světa, ale i v chudinských čtvrtích průmyslových západoevropských měst. Aktuální rozšíření TBC zdaleka nedosahuje rozměrů epidemie, ale přesto je tento jev více než znepokojující. V dnešní době je TBC dostupně léčitelná, nicméně před objevem antibiotik byla úmrtnost na TBC přibližně padesátiprocentní. Po zavedení léků proti TBC ve čtyřicátých letech se úmrtnost na tuto chorobu v Evropě snížila na pouhých dvě procenta a masové očkování tuberkulózu téměř vymýtilo.

V současné době se však ukazuje, že vedle dostatečné léčby je potřebná především včasná diagnostika TBC. Dostupné a standardně prováděné diagnostické metody nejsou z mnoha důvodů dostatečně spolehlivé a specifické, proto se hledají nové, účinné možnosti. Jako nová diagnostická metoda se stále slibněji jeví prezentace *M. tuberculosis* specifických antigenů CFP-10 a ESAT-6 na povrchu antigen prezentujících buněk (APC), které jsou přítomné v krvi infikovaných pacientů, a indukují tak specifickou imunitní odpověď T-lymfocytů v podobě uvolněného cytokinu interferonu-gama (IFN- γ).

Pro zlepšení této metody byl využit adenylát cyklázový toxin (ACT) bakterie *Bordetella pertusis*, který je schopen dopravovat antigeny přímo do cytozolu APC, čímž se výrazně snižuje nebezpečí nežádoucích křížových reakcí, množství přidaných antigenů pro navození stejně účinné CD4⁺ i CD8⁺ T-buněčné odpovědi. V neposlední řadě bylo publikováno, že použití ACT ovlivňuje lepší detekci latentní tuberkulózy.

Metodami genového inženýrství byly připraveny expresní vektory pro přípravu rekombinantních adenylát cyklázových toxoidů nesoucích antigeny ESAT-6 nebo CFP-10, které byly společně s volnými antigeny fermentovány a posléze purifikovány. Získané proteiny byly odeslány do Kapského Města (JAR), kde budou pod vedením Prof. Roberta J. Wilkinsona sloužit ke klinické studii diagnostiky latentní TBC.

Další část práce je zaměřena na přípravu expresních vektorů pro společnou expresi ESAT-6 a CFP-10 antigenů, díky nimž se podařilo zčásti potvrdit tvorbu vyšších proteinových struktur, které byly detekovány pomocí elektroforézy v nativním polyakrylamidovém gelu (BN-PAGE) a Western blotu.

Purifikace a charakterizace nové epoxidhydrolasy z kvasinky *Rhodotorula mucilaginosa* M002

Kasper Jozef¹, Kyslík Pavel², Melzoch Karel¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²MBÚ AV ČR Praha

Kvasinka *Rhodotorula mucilaginosa* M002 byla kultivována ve vsádkovém míchaném bioreaktoru za použití následujících komponentů: pepton, kvasinkový extrakt, sladový extrakt a glukosa. V průběhu kultivace byly sledovány parametry: koncentrace glukosy, koncentrace buněk ve formě optická density a suchá hmotnost buněk, koncentrace rozpustných proteinů a aktivita epoxidhydrolasy. Kultivace byla ukončena 19 hodin po inokulaci na základě poklesu optické density kultury. Stanovení specifické aktivity ukázalo, že přechod kultury do stacionární fáze je charakterizován její nejvyšší hodnotou (0,074 mU/mg_{suš}).

Kvůli nedostatečně vysoké hodnotě specifické aktivity stanovené při vsádkové kultivaci byla provedena optimalizace kultivačního média metodou Plackett – Burmana. Celkově bylo testováno dvanáct faktorů. Vliv jednotlivých faktorů na růst kultury a specifickou aktivitu byl vyhodnocen v grafech. Nejvíce pozitivní vliv měl kvasinkový extrakt chlorid amonný a pepton, faktor glukosa měla na produkci epoxidhydrolasy negativní vliv. Specifická aktivita byla zvýšena 6,9 krát.

U dvou kmenů *E. coli*, TOP10 a BL21 nesoucí plastid pEPHA1, kódující epoxidhydrolasový gen z *Aspergillus niger* M200 byly zkoušeny jejich aktivity. Oba kmeny byly kultivovány na LB a minerálním médiu při 28°C. Oba kmeny na minerálním médiu dosahovali nižších hodnot specifické aktivity. Při teplotě 37°C byly kultivovány oba kmeny jen na komplexním médiu. Specifické aktivity byly i v tomto případě nevyhovující. Nejvyšší hodnota specifické aktivity byla stanovena u kmenu *E. coli* TOP10 (pEPHA1) kultivovaného při 28°C.

Purifikace epoxidhydrolasy byla provedena srážením síranem amonným a použitím čtyřech FPLC kolon: Phenyl – Sepharosa, Mimetic green, Mono P, Superdex 200. Maximální dosažená specifická aktivita rekombinantní epoxidhydrolasy vztažena na bílkoviny byla stanovena po kroku s Mimetic green a její hodnota byla 8076mU/mg. Poté specifická aktivita klesla, enzym v čisté formě změnou iontové síly pufru částečně denaturoval. Výsledná specifická aktivita byla nižší: 4609mU/mg.

Sledování stability bakterií mléčného kvašení v sójových fermentovaných výrobcích v průběhu skladování

Šůchová Eva, Dvořák Milan, Chumchalová Jana

Ústav technologie mléka a tuků, VŠCHT Praha

Výrobky s jogurtovými a probiotickými kulturami obecně patří mezi potraviny s kladnými účinky na lidský organismus. Proto je důležité, aby buňky obou kultur přežily nepříznivé podmínky skladování v co nejvyšším počtu až do chvíle konzumace výrobku.

V této práci byla sledována stabilita jogurtové a probiotické kultury *Bifidobacterium bifidum* CCDM94 v sestaveném sójovém médiu v týdenních intervalech po dobu čtyř týdnů. Kultury byly zaočkovány a kultivovány odděleně za příslušných kultivačních podmínek v sójovém médiu stejného složení. Po dokončení fermentace byla média smíchána v různých poměrech a skladována po dobu čtyř týdnů při teplotě 4 °C.

Výsledkem zkoumání bylo zjištění, že kultury jsou vhodné pro přípravu fermentovaného sójového výrobku daného složení. Počty *B. bifidum* CCDM94 se po kultivaci a v průběhu skladování stabilně udržely na průměrné hodnotě v řádu 10^8 JTK·g⁻¹, která odpovídá terapeutickým požadavkům pro fermentované výrobky s probiotickou kulturou. U laktobacilů klesly počty v průběhu skladování o půl až dva řády, konečné hodnoty se pohybovaly v rozmezí řádu 10^4 - 10^6 JTK·g⁻¹. U streptokoků se stabilně udržely počty vyšší než 10^7 JTK·g⁻¹.