

# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

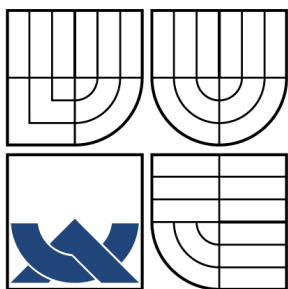
VLIV AROMATICKY AKTIVNÍCH LÁTEK NA CHUTNOST OVOCNÝCH  
JOGURTŮ

DIPLOMOVÁ PRÁCE  
DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE  
AUTHOR

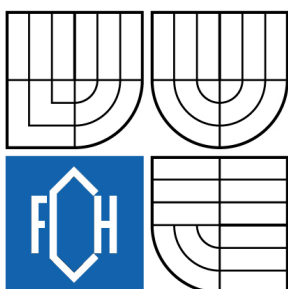
LUKÁŠ MALINA

BRNO 2008



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

## VLIV AROMATICKY AKTIVNÍCH LÁTEK NA CHUTNOST OVOCNÝCH JOGURTŮ

INFLUENCE OF AROMA ACTIVE COMPOUNDS ON FLAVOUR OF FRUIT YOGURTS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

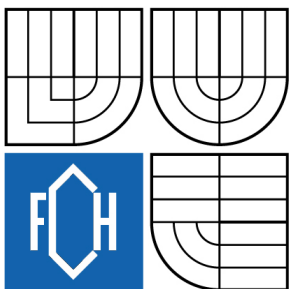
LUKÁŠ MALINA

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. EVA VÍTOVÁ, Ph.D.

BRNO 2008



## Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce	<b>FCH-DIP0167/2007</b>	Akademický rok: <b>2007/2008</b>
Ústav	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka)	<b>Malina Lukáš</b>	
Studijní program	Chemie a technologie potravin (M2901)	
Studijní obor	Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)	
Vedoucí diplomové práce	<b>Ing. Eva Vítová, Ph.D.</b>	
Konzultanti diplomové práce		

### Název diplomové práce:

Vliv aromaticky aktivních látek na chutnost ovocných jogurtů

### Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled zaměřený na:
  - chemické složení, strukturu jednotlivých složek jogurtů
  - stručný technologický postup výroby ovocných jogurtů
  - vznik a vývoj aroma a chuti v průběhu výroby
2. Identifikujte sloučeniny typické pro chutnost ovocných jogurtů pomocí metody SPME-GC
3. Vyberte vhodné metody pro sensorické hodnocení jejich chutnosti
4. Sledujte vliv vybraných látek na chutnost různých typů ovocných jogurtů

### Termín odevzdání diplomové práce: 16.5.2008

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

---

Lukáš Malina  
student(ka)

---

Ing. Eva Vítová, Ph.D.  
Vedoucí práce

---

Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.9.2007

---

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.  
Děkan fakulty

## ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá určením aromaticky aktivních látek v ovocných jogurtech. Tyto látky jsou klíčové pro chutnost těchto mlékárenských výrobků. Byly analyzovány dva typy jogurtů, smetanové (8 % tuku) a nízkotučné (obsah tuku menší než 0,1 %), s různými příchutěmi, vyrobené v Mlékárně Valašské Meziříčí, spol. s r.o. Analýza byla provedena s použitím plynové chromatografie s extrakcí analytů pomocí SPME - mikroextrakce na tuhé fázi.

V rozdílných množstvích bylo zjištěno šest skupin různých aromatických látek: ketony, aldehydy, organické kyseliny a jejich estery, alkoholy a sulfidy. Tyto sloučeniny mají většinou mikrobiální původ (*Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* jsou mlékařské jogurtové kultury běžně používané pro výrobu jogurtů), menší množství jsou obsažena v kravském mléce nebo v mlékařských aditivech.

Pro zjištění přijatelnosti a chutnosti byly jogurty zároveň sensoricky hodnoceny pomocí pořadové zkoušky, stupnicové metody a párového preferenčního testu. Hodnotitelé byli vybráni z řad studentů a zaměstnanců fakulty.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Jogurt, chutnost, SPME, GC, sensorická analýza

## ABSTRACT

This diploma thesis deals with the determination of aroma compounds in fruit yoghurts. These compounds are crucial for flavour of these dairy products. Two types of fruit yoghurts were analyzed, creamy (8 % of fat) and light (less than 0,1 % of fat), with various fruit ingredients, produced in dairy Mlékárna Valašské Meziříčí, spol. s r.o. Analysis was carried out by gas chromatography with extraction of analytes by SPME - solid phase microextraction.

Six groups of different aromatic compounds such as ketones, aldehydes, organic acids and their esters, alcohols and sulfides in different amounts were determined. These compounds have mostly microbiological origin (*Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* are dairy yoghurt cultures usually used for yoghurt production), less amounts are present in cow's milk or in dairy additives.

Yoghurts were simultaneously sensory evaluated using ranking test, scale test and pair test for determination of acceptability and flavour. The assessors were students and staffs faculty of chemistry BUT.

## KEYWORDS

Yoghurt, flavour, SPME, GC, sensory analysis

*MALINA, L. Vliv aromaticky aktivních látek na chutnost ovocných jogurtů. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008, 81 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.*

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis diplomanta

*Poděkování:*

*Děkuji všem, kteří se jakýmkoli způsobem podíleli na vzniku této diplomové práce.*

## OBSAH

1. Úvod.....	7
2. Současný stav řešené problematiky.....	8
2.1. Mléko jako základní výrobní surovina jogurtů.....	8
2.1.1 Chemické složení mléka.....	8
2.1.2 Inhibiční látky v mléce.....	8
2.2 Jogurt.....	9
2.2.1 Kysané mléčné výrobky a jejich význam.....	9
2.2.2 Chemické složení a výživová hodnota.....	10
2.2.2.1 Sacharidy.....	10
2.2.2.2 Lipidy.....	10
2.2.2.3 Proteiny.....	11
2.2.2.4 Kyselina mléčná.....	12
2.2.2.5 Vitaminy.....	13
2.2.2.6 Minerální látky a stopové prvky.....	13
2.2.3 Výrobní proces jogurtů.....	13
2.2.3.1 Výběr suroviny.....	16
2.2.3.2 Chlazení.....	16
2.2.3.3 Pasterace 1.....	16
2.2.3.4 Standardizace.....	16
2.2.3.5 Pasterace 2.....	17
2.2.3.6 Homogenizace.....	18
2.2.3.7 Zakysání a zrání.....	18
2.2.3.8 Jogurtové kultury.....	21
2.2.3.9 Ochucování, balení a skladování.....	22
2.3 Senzorická analýza.....	23
2.3.1 Senzorická laboratoř.....	23
2.3.2 Nástroje smyslového vnímání.....	24
2.3.2.1 Chuťový smysl.....	24
2.3.2.2 Čichový smysl.....	25
2.3.2.3 Smysl zrakový.....	26
2.3.2.4 Sluchový smysl.....	27
2.3.2.5 Taktilní smysl.....	27
2.3.2.6 Kinestetický smysl.....	28
2.3.2.7 Smysl pro teplo.....	29
2.3.2.8 Smysl pro chlad.....	29
2.3.2.9 Smysl pro bolest.....	29
2.3.3 Hodnotitelé.....	30
2.3.4 Podávání a zkoušení vzorků.....	30
2.3.5 Vyhodnocení výsledků sensorické analýzy.....	31
2.3.6 Metody sensorické analýzy.....	31
2.3.6.1 Metody rozlišovací.....	32
2.3.6.2 Pořadové metody.....	33
2.3.6.3 Hodnocení srovnáním se standardem.....	33
2.3.6.4 Hodnocení s použitím stupnic.....	34
2.3.6.5 Poměrové (magnitudové) metody.....	35
2.3.6.6 Metody slovního popisu, stanovení sensorického profilu.....	36

2.4 Metody stanovení aromatických látek	36
2.4.1 Plynová chromatografie	36
2.4.1.1 Plynová chromatografie s izolací analytů metodou SPME	38
2.4.1.2 Plynová chromatografie – olfaktometrická GC/O	40
2.4.1.3 Plynová chromatografie se sorpční extrakcí na mřížkovém míchadle SBSE	40
2.4.1.4 Plynová chromatografie s extrakcí analytu na sorbent v nerezové trubici (trap) a následnou kryofokusací	41
2.4.2 Destilace s vodní parou a kolorimetrie	41
3. Experimentální část	42
3.1 Vybavení analytické laboratoře	42
3.1.1 Standardy pro určení aromatických látek technikou SPME – GC	42
3.1.2 Plyny	42
3.1.3 Přístroje	42
3.1.4 Pomůcky	43
3.2 Analýza aromatických látek v ovocných jogurtech technikou SPME – GC	43
3.2.1 Vzorky	43
3.2.2 Podmínky izolace těkavých látek technikou SPME	44
3.2.3 Podmínky chromatografické analýzy	44
3.2.4 Statistické vyhodnocení výsledků	44
3.3 Vybavení senzorické laboratoře	45
3.3.1 Přístroje a pomůcky	45
3.3.2 Senzorická laboratoř	45
3.4 Senzorická analýza	45
3.4.1 Vzorky	45
3.4.2 Podmínky při převozu a podávání vzorků při hodnocení	45
3.4.3 Označení vzorků	45
3.4.4 Dotazník pro senzorické hodnocení a hodnotitelé	46
3.4.5 Statistické vyhodnocení výsledků	46
3.4.5.1 Friedmanův test	46
3.4.5.2 Kruskal-Wallisův test	47
3.4.5.3 Párová zkouška s určením směru rozdílnosti (jednostranný test)	47
4. Výsledky a diskuse	49
4.1 Stanovení aromatických látek v ovocných jogurtech pomocí standardů	49
4.1.1 Standardy aromatických látek a jejich retenční časy	49
4.1.2 Identifikace a kvantifikace aromatických látek v ovocných jogurtech	50
4.1.3 Porovnání obsahu aromatických látek v různých typech ovocných jogurtů	51
4.2 Výsledky senzorické analýzy	57
4.2.1 Vyhodnocení četnosti konzumace jogurtů u hodnotitelů a jejich vztah k nim	58
4.2.3 Vyhodnocení pořadové zkoušky	59
4.2.4 Vyhodnocení stupnicových metod	62
4.2.4 Vyhodnocení párové (preferenční) zkoušky	66
5. Závěr	68
6. Seznam použitých zdrojů	70
7. Seznam použitých zkratk a symbolů	72
8. Seznam příloh	73

# 1. ÚVOD

Lidé znají jogurt již více než 7000 let, kdy byl poprvé vyroben zkvašením mléka díky mikroorganismům, které se v mléce přirozeně vyskytují. V dnešní době je výroba jogurtů velmi podrobně popsána a technologie je celosvětově rozšířená na všech kontinentech. K dalším mlékárenským výrobkům patří máslo, kysaná smetana, sýry, kyšky, smetanové krémy, mléko s prodlouženou trvanlivostí a mnoho dalších. Jogurty patří po celém světě k potravinám, jež jsou běžnou součástí našeho jídelníčku. Pro svou lahodnou chuť, vysoký obsah vápníku, bílkovin a probiotických kultur, jež blahodárně působí na lidský zažívací trakt, se řadí mezi vyhledávané potraviny.

Jogurt se v dnešní době průmyslově vyrábí kysáním pasterovaného kravského mléka pomocí specifických mikroorganismů a to *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, jež jsou komerčně dodávány a svou činností přeměňují původní surovinu na výsledný produkt tedy jogurt. Tento proces zahrnuje několik kroků, jež budou podrobněji popsány a vysvětleny v následujících kapitolách.

Veškeré vzorky zpracované v experimentální části této práce byly poskytnuty firmou Mlékárna Valašské Meziříčí spol. s r.o., která vznikla privatizací Beskydských mlékáren roku 1992. První zmínka o mlékárně ve Valašském Meziříčí pochází už z roku 1936. Od té doby prošla řadou rekonstrukcí a modernizací. Výrobní sortiment mlékárny dnes obsahuje kromě jogurtů také čerstvé mléko, acidofilní a keřírové mléko, jogurtové nápoje, bio zákys, čerstvou smetanu a kyšku.

Cílem práce je posoudit, jak se aromatické látky v jogurtech podílejí na celkové chutnosti sledovaných vzorků a jejich preferenci u koncových spotřebitelů. Dále také vyhodnocení oblíbenosti jednotlivých vzorků z hlediska organoleptických vlastností a to především dvou základních - chuti a vůně s využitím metod senzorické analýzy. V poslední fázi budeme pomocí vhodné separační metody (plynové chromatografie) analyzovat obsah aromatických látek u jednotlivých druhů jogurtů a to jak smetanových (jahoda, jahoda s vanilkou, višně, višně s vanilkou, malina s vanilkou, broskev, borůvka) s obsahem tuku 8 % , tak nízkotučných (jahoda, malina, broskev) s obsahem tuku nepřekračujícím 0,1 %. Během průběhu vypracování této diplomové práce by také měla být zřízena speciální laboratoř pro senzorickou analýzu, která může ulehčit situaci se senzorickým hodnocením daných vzorků.



## 2. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

### 2.1. Mléko jako základní výrobní surovina jogurtů

Mléko je jednou ze základních složek výživy člověka. V tomto směru mělo mléko prvořadý význam již v počátcích civilizace a s vývojem lidské společnosti tento jeho význam ještě stoupá. Ke stavbě těla a k zajištění životních funkcí organismu potřebuje člověk přísun všech hlavních složek potravy. Právě mléko obsahuje všechny tyto důležité látky, bílkoviny, cukry, tuky, ale i vitamíny, minerální látky a stopové prvky. Přitom jsou tyto látky v mléce obsaženy ve vyváženém poměru, mají vysokou biologickou hodnotu a jsou snadno vstřebatelné [1].

#### 2.1.1 Chemické složení mléka

Množství jednotlivých hlavních složek mléka může kolísat jak u krav z rozdílných chovů tak také u krav, které pocházejí ze stejných chovů [2].

Mléko je velmi složitý polydisperzní systém, v němž se jednotlivé složky různě uplatňují a ovlivňují jeho fyzikální vlastnosti a nutriční hodnotu.

Ve vodném roztoku jsou sacharidy a část minerálních látek, v koloidní suspenzi jsou bílkoviny a část minerálních látek. Lipidy jsou ve formě emulze, ve zchlazeném mléku částečně i suspenze [1].

Podrobnější obsah a charakteristika všech látek bude popsán v kapitole jogurt.

#### 2.1.2 Inhibiční látky v mléce

V této souvislosti přicházejí do úvahy bakteriofágy, dále nekulturní mikroorganismy (laktokoky) produkující bakteriociny a také chemická rezidua, hlavně antibiotika a jiná léčiva používaná na léčbu dojnic.

Surové mléko na výrobu fermentovaných mléčných výrobků se může infikovat fagy už v polnohospodářské prvovýrobě. Na výrobu fermentovaných mléčných výrobků se obvykle používají složené směsné kultury. Jejich výhodou je větší odolnost vůči bakteriofágům v porovnání s monokulturami.

Kontaminace výrobního mléka antibiotiky používanými při léčbě zápalu vemena dojnic je zvlášť nebezpečná při výrobě jogurtů. *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* patří mezi bakterie nejcitlivější na antibiotika. Jogurt a přípravky s jogurtovou kulturou je možné vyrobit jen z mléka zdravých dojnic, které neobsahuje stanovitelné množství inhibičních látek.

Rozšířený je názor, že mezi významné inhibiční látky je třeba počítat také rezidua detergentních, dekontaminačních a desinfekčních látek v mléku. Z povahy věci vyplývá, že se jedná o velmi reaktivně antimikrobiálně působící látky.

Na minimalizaci rizika snížení účinku mikrobiálních kultur v mlékárenské výrobě, kde se nejčastěji používají, se doporučuje příslušnými testy preventivně kontrolovat mléko dodávané do závodu, dodržovat parametry technologických procesů a nedostatky operativně odstraňovat ve smyslu principů systému HACCP (systém kritických kontrolních bodů) [3].

Není pochyb o tom, že moderní zemědělství se neobejde bez chemizace a biologizace, které zajišťují zejména lepší podmínky pěstování rostlin. Používání velkého množství nejrůznějších chemických přípravků však celosvětově vede ke kontaminaci některých zemědělských a potravinářských výrobků, takže výskyt reziduí používaných chemických látek se musí trvale sledovat, aby se z hlediska zdravotní zavadlosti nestal neřešitelným problémem.

Pojem pesticidy je hromadné označení pro různé přípravky používané v boji proti škůdcům v zemědělské prvovýrobě nebo ve zpracovatelském průmyslu. Tato široká skupina látek se podle způsobu a druhu aplikace dělí na insekticidy, herbicidy, fungicidy a některé další menší podskupiny [1].

Moderním trendem je v dnešní době maximální možné snižování použití pesticidů.

## 2.2 Jogurt

Nejrozšířenějšími a nejoblíbenějšími kysanými mléčnými výrobky jsou v celosvětovém měřítku jogurty. Rozšíření jejich výroby přineslo s sebou i řadu odlišných výrobních technologií a rozmanitost v charakteristických znacích finálních výrobků. Podle charakteru výroby i požadovaných organoleptických vlastností se řídí výběr vhodných čistých mlékařských kultur pro zajišťování biochemických pochodů. Vyrábí se z mléka s různým obsahem tuku i tukoprosté sušiny [4,5].

### 2.2.1 Kysané mléčné výrobky a jejich význam

Kysaným mléčným výrobkům se nejen v populárních publikacích, ale i v odborné literatuře někdy říká zakysané mléčné výrobky nebo kyšky. Stejná nejednotnost jako v názvu této skupiny mlékařských výrobků je i v obsahu tohoto pojmu. V širším pojetí se zvláště v zahraničí zahrnují pod název fermentované mléčné výrobky všechny mlékařské výrobky, při jejichž výrobě byly ke koagulaci použity čisté mlékařské kultury bez ohledu na to, zda samotné nebo v kombinaci s přidavkem sýřivých enzymů v podobě syřidlových preparátů. Potom je do této skupiny zahrnována i výroba tvarohů a sýrů. V užším pojetí jsou do kysaných mléčných výrobků zahrnovány jen ty mlékařské výrobky, které vznikají zakysáním mléčné a smetanové směsi pomocí specifických mikroorganismů. Kysané mléčné výrobky jsou v podstatě biologicky aktivní mléka. V některých zemích jsou nejoblíbenější a nejrozšířenější formou konzumování mléka [4].

Jogurt je jednou z nejlépe známých potravin, které obsahují probiotika. Podle Kodexu Alimentarius 1992 je jogurt fermentovaný mléčný produkt, který vzniká srážením mléka kyselinou mléčnou produkovanou mikroorganismy *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Kysané mléčné výrobky vykazují antagonistické účinky vůči některým druhům mikroorganismů. Dieteticko – léčebné účinky byly těmto výrobkům přisuzovány odedávna. Tento efekt je dán rozdílnou biochemickou aktivitou na základě tvorby metabolických produktů mikroorganismů použitých k výrobě kysaných mléčných výrobků. Vůči senzitivním mikroorganismům působí inhibičně vytvářena mléčná kyselina i ostatní organické kyseliny, produkovaný peroxid vodíku i přirozená antibiotika. Tak například *Lactobacillus bulgaricus* vytváří bulgaricin. Tvorba bakteriocinů je z větší části omezená jen na některé kmeny určitého druhu. Dávno je známý též produkt některých kmenů *Lactococcus lactis* – nisin [3,4,6].

Publikace o antimikrobiálním vlivu se z větší části zaměřují na vztah k vytvářené mléčné kyselině, která změnou pH prostředí omezuje nebo znemožňuje růst rozmanité mikroflóry. Tvorba mléčné kyseliny přispívá k aciditě žaludečního obsahu a dále udržuje zdravou rovnováhu střevní mikroflóry tím, že je schopna potlačovat některé patogenní mikroorganismy. V tom pak spočívá hlavní terapeutický význam kysaných mléčných výrobků, neboť tak napomáhají k udržení zdravé funkce trávicí soustavy, která jinak s přibývajícím věkem ochabuje. Octová, propionová a mravenčí kyselina, které vznikají i při

homofermentativním mléčném kvašení v malém množství, podporují antimikrobiální efekt mléčné kyseliny [4].

## **2.2.2 Chemické složení a výživová hodnota**

Výživová hodnota kysaných mléčných výrobků je závislá na složení mléka použitého k jejich výrobě. Výchozí surovinou bývá mléko s upraveným obsahem nejen tuku, ale také sušiny, případně s upraveným obsahem bílkovin v sušině. Nutričně fyziologické hodnoty kysaných mléčných výrobků se však od hodnot mléka použitého k výrobě výrazně liší. Přitom dochází také k určitým změnám chemického složení mléka [4].

### **2.2.2.1 Sacharidy**

Ze sacharidů obsahuje mléko především laktosu. Laktosa (mléčný cukr) je disacharid, jehož molekula obsahuje monosacharidy glukosu a galaktosu. Laktosa se nachází pouze v mléce a její průměrný obsah je 4,8 %. Vyznačuje se nízkou sladivostí. Je například 30 krát méně sladká než třtinový cukr. Vyskytuje se ve dvou základních formách,  $\alpha$  a  $\beta$ -forma, jejichž rozdílnost je dána různým prostorovým uspořádáním vodíkových a hydroxylových skupin v molekule při stejném počtu atomů uhlíku. Toto uspořádání má vliv na fyzikální vlastnosti laktosy, zejména na specifickou otáčivost polarizovaného světla a rozpustnost laktosy ve vodě [2,5].

Při průchodu gastrointestinálním traktem se laktosa prakticky neresorbuje. Specificky dráždivým účinkem laktosy na sliznici tenkého střeva se vyvolává vylučování enzymu laktasy ( $\beta$ -galaktosidasy), který štěpí laktosu v tenkém střevě na glukosu a galaktosu. Tyto hexosy se resorbují [5].

Částečné odbourání laktosy bakteriálními enzymy však stačí k tomu, aby kysané mléčné výrobky mohli konzumovat lidé, jejichž trávicí trakt má nedostatek  $\beta$ -galaktosidasy, potřebné k přeměně na jednodušší sacharidy, a kteří proto nemohou pít sladké mléko. Proto je jogurt vhodnou potravinou i pro lidi trpící laktosovou intolerancí [4,7].

Vedle laktosy obsahuje mléko řadu dalších sacharidů v malých koncentracích, a to jednak ve volné formě, jednak vázané na bílkoviny, lipidy nebo fosfáty. Z monosacharidů obsahuje mléko glukosu a galaktosu a některé oligosacharidy v malých koncentracích [5].

### **2.2.2.2 Lipidy**

Mléčný tuk je z větší části rozdělen v mléčném séru ve formě emulze tukových kuliček. Veliký povrch (asi  $1000 \text{ cm}^2/\text{ml}$ ) tvoří předpoklad pro mimořádně velkou reakční schopnost mléčného tuku. Tato schopnost se zvyšuje ještě umístěním enzymů a katalyticky účinných stopových prvků v membráně tukových kuliček [5].

Mléčný tuk se skládá především z triglyceridů, di- a monoglyceridů, mastných kyselin, sterolů, karotenoidů, které dávají tuku žlutou barvu a vitamínů (A, D, E, K). Stopové prvky jsou zastoupeny minimálně. Membrána tukové kuličky se skládá z fosfolipidů, lipoproteinů, cerebrosidů, proteinů, nukleových kyselin, enzymů, stopových prvků a vázané vody. Mléčný tuk je směsí různých esterů mastných kyselin nazývaných triglyceridy, které se skládají z glycerolu a různých mastných kyselin. 98 – 99 % lipidů v tukových kuličkách je tvořeno triglyceridy. Mastné kyseliny tvoří 90 % mléčného tuku [2,5].

Mezi nejdůležitější mastné kyseliny mléčného tuku patří v sestupném pořadí dle množství kyseliny olejová, palmitová, stearová, myristová, máselná, linolová, laurová, kaprinová,

kapronová, kaprylová, arachidonová a linolenová. Glycerol nekolísá, kdežto kvantitativní i kvalitativní složení mastných kyselin se mění s řadou faktorů. Největší vliv na variabilitu mastných kyselin má způsob krmení [5].

Mléčný tuk vykazuje ve srovnání s jinými tuky živočišného a rostlinného původu nejlepší stravitelnost. Příčinou dobré stravitelnosti mléčného tuku jsou jeho fyzikální vlastnosti a specifické složení mastných kyselin. Mléčný tuk je ve formě přirozené tukové emulze. Mléčný tuk je lépe stravitelný také pro relativně vysoký obsah mastných kyselin s krátkým řetězcem, neboť délka řetězce mastných kyselin ovlivňuje rychlost jejich oxidace. Výživová hodnota mléčného tuku u kysaných mléčných výrobků je stejná jako u sladkého mléka, avšak jeho stravitelnost se zvyšuje homogenizací, která se u mléka pro výrobu kysaných mléčných výrobků pravidelně provádí [4,5].

### 2.2.2.3 Proteiny

Mléko obsahuje stovky typů proteinů, většinu z nich ve velmi malém množství. Proteiny mohou být klasifikovány rozdílnými způsoby, závislými na jejich chemických a fyzikálních vlastnostech a jejich biologických funkcích. Starý způsob řazení rozděluje proteiny na kasein, albumin a globulin. Tyto tři skupiny proteinů se odlišují svým chováním a formou existence. Kaseiny se jednoduše vysrážejí z mléka několika možnými způsoby, zatímco sérové proteiny (syrovátkové) zůstávají v roztoku [2].

Tabulka 1: Koncentrace proteinů v mléce [2]

Kasein	Koncentrace v mléce (g.kg <sup>-1</sup> )	Celkové zastoupení (%)
$\alpha_{s1}$ -kasein	10,0	30,6
$\alpha_{s2}$ -kasein	2,6	8,0
$\beta$ -kasein včetně $\gamma$ -kaseinu	10,1	30,8
$\kappa$ -kasein	3,3	10,1
Celkový kasein	26,0	79,5
<b>Syrovátkové proteiny</b>		
$\alpha$ -laktalbumin	1,2	3,7
$\beta$ -laktoglobulin	3,2	9,8
Albumin krevního séra	0,4	1,2
Imunoglobuliny	0,7	2,1
Různorodé proteiny včetně peptonů	0,8	2,4
Celkové syrovátkové proteiny	6,3	19,3
<b>Membránové proteiny tukových globulí</b>	0,4	1,2
Celkové proteiny	32,7	100

Kravske mléko obsahuje průměrně 3,3 % proteinů. Z toho kasein tvoří asi 80 % mléčných proteinů a syrovátkové proteiny 20 %.

Kasein je dominantní druh proteinů v mléce. Je schopen lehce tvořit polymery obsahující několik identických či rozdílných typů molekul. Díky hojnosti ionizovatelných skupin a

hydrofobních a hydrofilních míst v kaseinové molekule jsou molekulární polymery vytvářené z kaseinu velice speciální. Polymery jsou vystavěny ze stovek a tisíců individuálních molekul a vytváří koloidní roztok, který dává mléku typický bělavě modrý nádech. Kasein se v mléce vyskytuje ve formě komplexu, kaseinových micel, které obsahují kromě proteinů kalcium kaseinát a fosfát, vápník, hořčík a citrát. Takové micely mohou být veliké asi 0,4 mikronů a mohou být pozorovány pouze pod elektronovým mikroskopem. Stabilita tohoto systému závisí z velké části na  $\kappa$ -kaseinové frakci, která přispívá k ochraně kaseinové micely před agregací.

Sérové (syrovátkové) proteiny zůstávají v roztoku, pakliže je kasein z mléka odstraněn nějakou srážecí metodou.  $\alpha$ -laktalbumin je obsažen ve všech mlékách, která obsahují laktosu, poněvadž je nezbytný pro její biosyntézu. Je proto považován za typický syrovátkový protein.  $\beta$ -laktoglobulin je obsažen pouze v mléce kopytnatců a je hlavním proteinem syrovátky v kravském mléce.

Další proteinovou frakci obsaženou v mléce je komplex proteinů a enzymů na povrchu tukových globulí v mléce, zpravidla takzvané membránové proteiny tukových globulí. Tyto proteiny vytvářejí ochrannou vrstvu kolem tukových globulí a tím stabilizují emulzi.

Mléčné proteiny obsahují poměrně velké množství esenciálních aminokyselin. Syrovátková frakce má vyšší koncentraci esenciálních aminokyselin než frakce kaseinová [2,5].

Stravitelnost mléčných proteinů v kysaných mléčných výrobcích závisí na technologii výroby, především na délce a výšce tepelného záhřevu mléčné směsi, na druhu použitých bakterií mléčného kvašení a s tím souvisejících proteolytických enzymů a na organických kyselinách produkovaných při kvašení.

Mléčné proteiny se při biologickém zrání vysrážejí ve formě jemných vloček, které se lehčeji a rychleji tráví než proteiny sladkého mléka i proteiny vysrážené syřidlovým enzymem. Tyto vločky jsou pak lépe dostupné pro trávicí šťávy, které je mohou zasáhnout na větším povrchu. U jogurtu se zjistilo asi desetkrát více neproteinového dusíku než v mléce. Přitom u kysaných mléčných výrobků tvoří převážnou část tohoto dusíku volné aminokyseliny. Organismus potřebuje denně určité množství esenciálních aminokyselin a dostatečné množství neesenciálních aminokyselin popřípadě neesenciálních dusíkatých látek. Obsah proteinů se v kysaných mléčných výrobcích zvyšuje obohacováním mléka použitého k výrobě přídavkem sušeného odtučněného mléka, proteinových koncentrátů, kaseinátů, ultrafiltrací nebo odpuštěním části syrovátky po uzrání koagulátu [4,5].

#### **2.2.2.4 Kyselina mléčná**

Čerstvé sladké mléko obsahuje zanedbatelné množství mléčné kyseliny. Vyprodukovaná mléčná kyselina v kysaných mléčných výrobcích jim dodává jemně kyselou osvěžující chuť, chrání je a zvyšuje jejich trvanlivost. Sráží mléčné bílkoviny do jemných vloček, zlepšuje využití vápníku, fosforu a železa. Vyvolává sekreci žaludečních šťáv a působí příznivě na aktivitu pepsinu.

Mléčná kyselina se vyskytuje v kysaných mléčných výrobcích ve dvou optických izomerech: jako pravotočivá L (+) a jako levotočivá D (-) mléčná kyselina. Oba izomery jsou absorbovány v trávicím traktu, ale jejich přeměna je rozdílná. Pravotočivá mléčná kyselina se kompletně přeměňuje v respiračním procesu nebo je syntetizována na glukosu či glykogen. Levotočivá mléčná kyselina se transformuje jen omezeně a pozvolna. Tím, že ji organismus jen slabě asimiluje, přechází v určitém množství až do tlustého střeva, kde okyseluje prostředí

a brzdí tak rozvoj především hnilobné mikroflory. Tím omezuje škodlivý účinek hnilobných produktů na organismus.

U kojenců však může levotočivá mléčná kyselina vyvolat acidosu. Doporučuje se proto, aby kysané mléčné výrobky pro kojence obsahovaly převážně pravotočivou mléčnou kyselinu. Dospělí sice snáší levotočivou mléčnou kyselinu dobře, přesto však světová zdravotnická organizace (WHO – světová zdravotnická organizace) doporučuje to, aby se nepřekročilo množství 100 mg levotočivé mléčné kyseliny na 1 kg tělesné hmotnosti a den.

Poměr mezi izomerickými formami mléčné kyseliny je v kysaných mléčných výrobcích dán použitými čistými kulturami, způsobem kultivace, skladováním, případně ochucováním [4].

#### **2.2.2.5 Vitaminy**

Jsou esenciálními sloučeninami pro lidské životní pochody a tělo si je neumí samo syntetizovat. Mléko je bohatým zdrojem vitaminů, které se v něm vyskytují v různých množstvích. Jsou to hlavně vitamin A, C, D a vitaminy skupiny B. Dále biotin, kyseliny pantotenová a nikotinová a  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E). Kolísání obsahu jednotlivých látek lipofilních a hydrofilní povahy je ovlivněno jak plemenem dojnic, tak způsobem ustájení, zdravotním stavem či ročním obdobím. Původní obsah vitaminů v mléce se často cestou ke spotřebiteli snižuje, a to asi o 50 % i více vlivem nešetrného ošetření při skladování nebo technologického zpracování [2,5].

#### **2.2.2.6 Minerální látky a stopové prvky**

Mléko obsahuje množství minerálů. Celková koncentrace je menší než 1 %. Minerální soli se vyskytují v roztoku v mléčném séru nebo v kaseinových sloučeninách. Nejdůležitější soli jsou vápenaté, sodné, draselné a hořečnaté. Vyskytují se v podobě fosfátů, chloridů, citrátů a kaseinátů. Draselné a vápenaté soli jsou nejvíce zastoupeny v normálním mléce. Množství obsažených solí není konstantní [2].

Stopové prvky jsou v mléce obsaženy z větší části v organické formě. Měď, zinek, mangan a železo jsou obsaženy v membráně tukových kuliček. Železo se váže z poloviny na lipidy, z poloviny na proteiny; měď, jod, selen a zinek převážně pak na mléčné proteiny. Selen souvisí s obsahem síry v proteinech. Jod a zinek se vyskytují částečně také v anorganické formě. Kobalt je složkou vitamínu B<sub>12</sub> [5].

#### **2.2.3 Výrobní proces jogurtů**

Jogurt je nejznámější ze všech zakysaných mléčných výrobků a je celosvětově populární. Konzumace jogurtů je nejvyšší ve Středozeří, Asii a centrální Evropě.

Konsistence, chuť a aroma se liší od daného území. V některých oblastech je produkován jogurt jako vysoce viskosní kapalina, zatímco v jiných oblastech ve formě jemného gelu. Jogurt je také produkován ve zmrazené formě jako dezert nebo jako nápoj. Chuť a aroma jogurtu se liší kvůli různému obsahu produktů kysání a také těkavých aromatických látek včetně malého množství octové kyseliny a acetaldehydu.

Jogurty se dělí dle typů:

- Set type – jogurt zrající a chlazený ve spotřebitelském balení
- Stirred type – jogurt zrající v tancích a chlazený před balením

- Drinking type – koagulát je štěpen na kapalinu před balením
- Frozen type – zrající v tancích a zmrazený jako zmrzlina
- Concentrated – zrající v tancích, zkoncentrovaný a zchlazený před balením [2]

V celosvětovém měřítku je produkováno mnoho druhů jogurtů a tyto komerční produkty jsou rozděleny do několika různých kategorií založených na následujících aspektech:

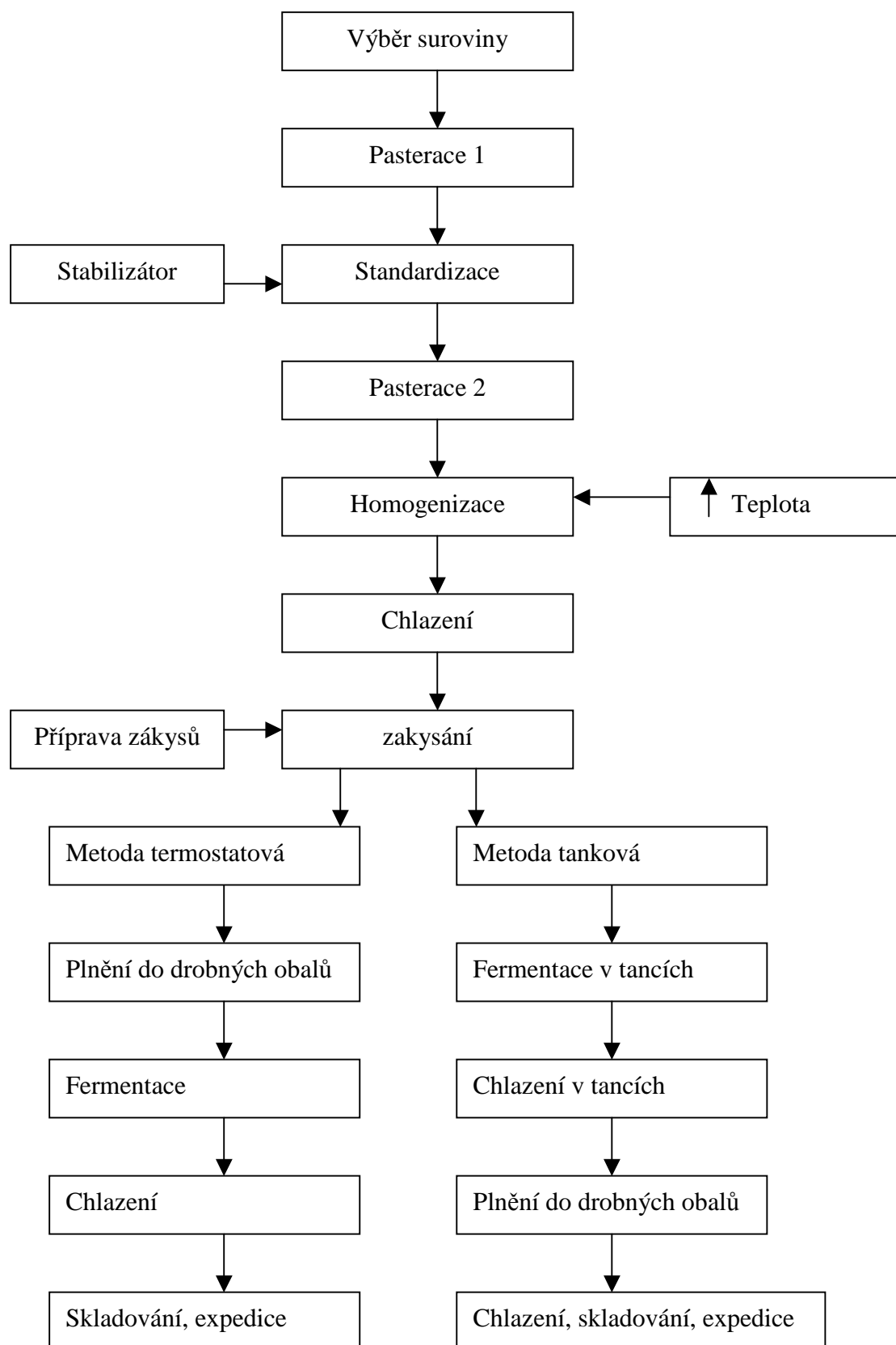
- Chemické složení (plnotučné, polotučné a nízkotučné)
- Chuť (přírodní, ovocné nebo ochucené)
- Rozdílné post-fermentační procesy jako tepelné ošetření či fortifikace vitamíny
- Nahrazení živočišného tuku rostlinným olejem [8]

Během výrobního procesu musí být pečlivě kontrolováno několik faktorů, abychom dosáhli výrobku vysoké kvality s požadovanou chutí, aromatem, viskositou, konsistencí, vzhledem, chráněného před uvolňováním syrovátky a s dlouhou dobou trvanlivosti.

Faktory ovlivňující kvalitu jogurtů:

- Výběr mléka
- Standardizace mléka
- Mléčná aditiva
- Deaerace
- Homogenizace
- Tepelné ošetření
- Výběr kysacích kultur
- Příprava kultur
- Struktura výrobního zařízení [2]

Na obr. 1 jsou schematicky znázorněny dva základní způsoby výroby jogurtů. Já se zabývám tankovým způsobem výroby (stirred type). Ten se používá při výrobě jogurtů v mlékárně Valašské Meziříčí.



Obr. 1: Schéma výroby jogurtů fermentovaných ve spotřebitelských obalech a v tancích [7]



### **2.2.3.1 Výběr suroviny**

Mléko určené pro výrobu jogurtů musí mít vysokou bakteriologickou kvalitu. Musí mít nízký obsah bakterií a látek, které mohou bránit rozvoji jogurtové kultury. Mléko také nesmí obsahovat antibiotika, bakteriofágy, residua CIP (čistící technika) roztoků nebo desinfekční prostředky. Mlékárna by měla získávat mléko pro výrobu jogurtů od vybraných a prověřených producentů. Mléko by mělo být velmi důsledně po příjezdu do mlékárny analyzováno [2].

Výběr mléka je jedním z kritických kontrolních bodů [9].

### **2.2.3.2 Chlazení**

Mléko má po nadojení teplotu, která velice vyhovuje růstu různých druhů bakterií, kvasinek a plísní. Množení většiny druhů bakterií lze omezit, nebo zastavit ochlazením mléka. Ukázalo se, že rychlý pokles teploty vyvolává u bakterií silný útlum, po kterém se i v příznivých podmínkách pomaleji rozmnožují.

Při hlubokém chlazení mléka je veliký podíl tuku v krystalické formě. Struktura membrány se mění, což způsobuje oslabení její pevnosti. Silné mechanické vlivy, např. čerpání nebo intenzivní míchání, mohou vyvolat poškození membrán a uvolnění tekutého podílu tuku z tukových kuliček.

Kaseinové micely se při hlubokém chlazení rozpadají na submicely. Rozpad trvá několik hodin a také zpětná syntéza nebo zpětné vybudování micel vyžaduje mnoho času.

pH mléka stoupá při zchlazení z teploty 35 °C na 4 °C z 6,5 na 6,8 a na rozdíl od uvedených, ne zcela reverzibilních změn v mléce je reverzibilní, to znamená, že při ohřevu zchlazeného mléka klesá na původní hodnotu, nenastaly-li mezitím nějaké bakteriologické změny [5].

### **2.2.3.3 Pasterace I**

Pro prodloužení trvanlivosti mléka se používá při jeho ošetření pasteračního nebo sterilačního záhřevu. Výše i délka ohřevu při pasteraci se řídí hlavně předpisy, které platí v jednotlivých státech. Pasterace probíhá při teplotě 85 °C po dobu 40s. Nebo jinou kombinací teploty a času. Po pasteraci se toto mléko vychladí na teplotu vhodnou k dalšímu zpracování a napouští se do nádrže, v níž se upravuje mléčný tuk tak, aby mělo po zahuštění požadovaný obsah tuku i sušiny [4,5,9].

### **2.2.3.4 Standardizace**

Obsah tuku a sušiny v mléce se normálně standardizuje vzhledem ke kodexu a principům FAO (organizace OSN pro výživu a zemědělství) /WHO. Jogurt může obsahovat 0 – 10 % tuku, nejběžnější je obsah tuku mezi 0,5 – 3,5 %.

- Smetanový jogurt-min. 3 % tuku
- Polotučný jogurt-min.>0,5 % a max.<3 % tuku
- Nízkotučný jogurt-max. 0,5 %. Nově modifikované škroby nabízejí zvýšení výkonu při výrobě nízkotučných jogurtů, říká Stephanie Wang. Náhračky tuků založené na modifikovaném škrobu jsou přírodního původu a jsou také přijatelné pro zákazníky hledající produkty bez přídavku aditiv [2,10]

Zvýšením obsahu celkové sušiny, především podílu kaseinu a sérových proteinů dosáhneme pevnějšího jogurtového koagulátu a tendence k oddělování syrovátky se poté sníží. Je několik způsobů jak tento podíl zvýšit.

- Odpařením (10 – 20 % objemu mléka je odpařeno)
- Přidáním odstředěného mléka nebo práškových proteinů, obvykle 1 – 3 %. Od roku 1970 se několik studií zabývalo použitím mléčné syrovátky při výrobě jogurtů. Přidáním sušené syrovátky se dosáhne zvýšení celkové sušiny a důsledkem je lepší konzistence (textura) a krémovitost produktu. V praxi se běžně využívá přísadku sušeného mléka, avšak přísadka sušené syrovátky nebo její směs se sušeným mlékem se jeví jako vynikající alternativa. Výsledky dokazují, že se tvoří více acetaldehydu, roste viskozita a synereze klesá, zatímco sensorické atributy se zlepšují.
- Přidáním mléčného koncentráту [2,11]

Dále se přidávají stabilizátory. Jsou to hydrofilní koloidy, které váží vodu. Zvyšují viskozitu a pomáhají předcházet oddělování syrovátky z jogurtu. Typ a vzájemný poměr stabilizátorů, které se mají přidat si experimentálně určí každý výrobce zvlášť. Produkt může získat gumovou, tvrdou konzistenci, pakliže použijeme špatný stabilizátor či jeho přebytek. Dobře vyrobený, přírodní jogurt nevyžaduje žádné přísadky stabilizátorů, neboť pevný, dobrý gel s vysokou viskozitou se vyskytuje normálně. Stabilizátory mohou být použity u ovocných jogurtů a musí být použity u pasterovaných a šlehaných jogurtů. Nejběžněji se používají želatina, pektin, škrob a agar-agar v množství 0,1 – 0,05 % [2].

### **2.2.3.5 Pasterace 2**

Zahuštěné mléko se znovu pasteruje při teplotě 95 °C po dobu 40 s. Při pasteraci mléka se ničí patogenní mikroby. Viry se při zvýšených teplotách rychle inaktivují a obvykle nepřežijí pasteraci mléka [5,9].

Používané způsoby ohřevu neovlivňují negativně vlastnosti mléčného tuku z hlediska fyziologie výživy. V zahřátém tuku se vyskytují v malém množství laktony, které se pravděpodobně tvoří z mastných hydroxykyselin. Některé tyto kyseliny přispívají k chuti mléčných výrobků. Pasterace mléka nemá vliv na obsah polynenasycených a esenciálních mastných kyselin v mléčném tuku [5].

Tyto vysoké teploty denaturují velkou část sérových proteinů, především  $\beta$ -laktoglobulin. A pak zvláště  $\beta$ -laktoglobulin, který je základní syrovátkovým proteinem, reaguje s  $\kappa$ -kaseinem, což pomáhá vytvořit stabilní strukturu jogurtu. Mléčné proteiny, denaturované ohřevem za relativně různých podmínek vykazují lepší stravitelnost než jejich nativní forma. Můžeme tedy předpokládat, že dochází k takovým konformačním změnám, které umožňují enzymům lepší přístup k aktivním skupinám proteinů. Záhřevem mléka nedochází k podstatným změnám ve složení aminokyselin. Jednou z nejlépe zjištěných chemických změn, které doprovázejí denaturaci, je změna koncentrace SH – skupin. Aktivace těchto skupin působením tepla zřejmě působí vznik připálené chuti zahřátého mléka. Uvolňování těchto skupin je vcelku zanedbatelné při ohřevu do 70 °C. Nad tuto teplotu se obsah SH – skupin zvyšuje až do 120 °C, kdy dochází ke snížení obsahu těchto skupin. Maillardova reakce je iniciována tepelným záhřevem a pokrčuje během skladování výrobku. Reakční kinetika je

závislá na teplotě záhřevu a teplotě během skladování. Při tomto procesu reagují proteiny s laktosou a vznikají hnědé produkty [2,5].

Enzymy v mléce pocházejí jak z vemene krávy tak od bakterií. Mezi nejdůležitější patří peroxidasa, katalasa, fosfatasa a lipasa. Všechny tyto enzymy spolehlivě záhřev nad 80 °C zničí kromě lipasy, která je velmi termostabilní [2].

Lipofilní vitaminy A, D, E a vitaminy B-komplexu, riboflavin, kyselina pantotenová, biotin a niacin, jsou poměrně termorezistentní, takže u nich ohřevem mléka obvykle nedochází k velkým ztrátám. Vitaminy thiamin, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> jsou na ohřev citlivější [5].

### **2.2.3.6 Homogenizace**

Při homogenizaci se zmenší tukové kuličky asi na 1 μm. Celková plocha tukových kuliček se zvětší natolik, že množství fosfolipidů již nestačí a na povrch tukových kuliček se adsorbují povrchově aktivní proteinové látky. Hlavním úkolem homogenizace je zabránit rozvrstvování tuku během inkubační doby a zajistit jednotnou distribuci mléčného tuku. Všeobecným doporučením je homogenizace při tlaku 20-25 MPa a teplotě 65 – 70 °C, aby bylo dosaženo optimálních fyzikálních vlastností produktu. Často se používá homogenizace mléka s nízkým obsahem tuku [2,5].

### **2.2.3.7 Zakysání a zrání**

Po ochlazení na 42 – 45 °C se v zakysávacím tanku očkuje 1 až 2 % jogurtové kultury pro příslušný objem jogurtu. Inkubační doba je kolem 3 – 3,5 hodiny, inkubuje se také při jiných teplotách a dobách pro zajištění stejných produktů. Když je dosaženo pH 4,2 – 4,5, musí být jogurt ochlazen na 15 – 22 °C. To zabrání dalšímu rozvoji bakterií a překysávání jogurtu tedy zvyšování pH. Chlazení se provádí na deskových výměnících se speciálními pláty. Tento proces zajistí jemné mechanické ošetření produktu. Ten pak má správnou konsistenci [2].

Základním biochemickým pochodem zajišťovaným čistými mlékařskými kulturami při výrobě kysaných mléčných výrobků je anaerobní proces přeměny sacharidů na mléčnou kyselinu, katalyzovaný celým komplexem enzymů. Při fermentaci laktosy se musí tento disacharid nejprve hydrolyzovat činností enzymu β-galaktosidasy (mikrobiální laktasy) vytvořené bakteriemi mléčného kvašení. Ve skutečnosti je hydrolýza laktosy na glukosu a galaktosu a následná izomerace galaktosy na glukosu i fruktosu dosti složitý proces. Je to hlavně glukosová frakce, která je metabolizována mléčnými kulturami. Proces přeměny jednoduchého sacharidu glukosy na mléčnou kyselinu probíhá takto: Molekula glukosy fosforylací a izomerací přechází v poslední fázi zrání na fruktosa-1,6-bisfosfát, který se vlivem aldolasy štěpí na fosfáty dvou trios, a to glyceraldehyd fosfát a dihydroxyaceton fosfát. Glyceraldehyd fosfát se působením příslušné dehydrogenasy oxiduje na glycerol-1,3-bisfosfát. V důsledku defosforylace a enolizace se tvoří pyruvát (kyselina pyrohroznová), který se potom redukuje na laktát (mléčná kyselina). Při mléčném kvašení se pyruvát stává akceptorem vodíku z NADH + H<sup>+</sup> a vzniká mléčná kyselina. NADH + H<sup>+</sup> se regeneruje a také se uvolňují 2 molekuly ATP [4,8].

Zakysací tanky jsou izolovány, aby bylo zajištěno že teplota během zrání zůstane konstantní po celou dobu. Tanky mohou být vybaveny pH metry, pro snadné sledování vývoje pH. Zrání trvá dle stavu použité kultury: při použití provozního zákysu 3 – 3,5 h, při použití hluboce zmražené směsi kultur 4 – 5 h. [2]. Inkubační doba je kolem 3 – 3,5 hodiny, inkubuje se také při jiných teplotách a dobách pro zajištění stejných produktů.

Při výrobě kysaných mléčných výrobků vyprodukovaná mléčná kyselina vyvolává kyselé srážení mléka, což je vlastně izoelektrické oddělení kaseinu z pevného svazku s vápníkem. V mléce je kasein přítomen v koloidním roztoku v podobě komplexní vazby kalciumkaseinátu-kalciumfosfátu, která je mléčnou kyselinou destabilizována, a to vede k tvorbě mléčného koagulátu. Tento okamžik respektive interval, při němž dochází ke srážení mléka, se nazývá izoelektrický bod kaseinu. Základním principem rozpuštění proteinů, udržujícím disperzní stav proteinu v mléce, je hydratace, to je vazba molekul vody na ionizované skupiny proteinových molekul. Jestliže jsou částičky proteinů mléka silně hydratovány, vyskytují se ve formě rozpustné nebo koloidní. Tak je tomu u sladkého mléka, které je proto tekuté a řídké. Kysáním mléčných výrobků se tvoří z koloidního komplexu kaseinátu vápenatého kyselý kasein, jehož vazbou molekul vody je podmíněna nerozpustnost ve vodě [4].

Na chuť a vůni kysaných mléčných výrobků má vliv proteolytická a lipolytická činnost bakterií mléčného kvašení. Proteolytickou činností vzniklé peptidy a aminokyseliny působí jako prekursor pro enzymové chemické reakce produkující chuťové látky. Sensorické vlastnosti ovlivňují hlavně produkty rozkladu aminokyselin, vzniklé působením dekarboxylas a deaminas. Velmi labilní jsou zejména sírné aminokyseliny, ze kterých se odštěpuje sirovodík a negativně ovlivňuje vůni. Rozvětvené a aromatické aminokyseliny jsou také významnými prekursor aromaticky aktivních látek jako jsou aldehydy, alkoholy, nižší mastné kyseliny a estery. Štěpení mléčných bílkovin (proteolýza) působením *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* na volné aminokyseliny stimuluje optimální růst *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* a zvyšuje stravitelnost produktu. Příliš intenzivní proteolýza může způsobit chuťové vady a produkci příliš měkké sráženiny.

Podobně vznikají chuťové a aromatické látky lipolytickou činností, kdy je degradován mléčný tuk. Tuky slouží jako rezerva a pohotovostní zdroj energie. V kravském mléce jsou průměrně 4 % lipidů, převážně ve formě triacylglycerolů mastných kyselin. Jako doprovodné látky jsou v malém množství přítomny fosfolipidy, cerobrosidy a steroly. Triacylglyceroly jsou estery glycerolu a mastných kyselin. V mléčném tuku bylo identifikováno 140 mastných kyselin. Lipasy produkované jogurtovou kulturou jsou aktivní zejména vůči triacylglycerolům s krátkým řetězcem. Štěpí převážně vazby v poloze 1 a 3 a uvolňují relativně větší množství kyseliny máselné a mastných kyselin s řetězcem do deseti uhlíků. Mastné kyseliny s řetězcem delšími než dvanáct atomů uhlíku nejsou ze sensorického hlediska zajímavé, protože mají vysoký detekční práh vnímání. Nízký podíl  $C_2$  až  $C_6$  kyselin pochází z degradace laktosy a aminokyselin. Další mohou vzniknout oxidací ketonů, esterů a také aldehydů. Středně dlouhé ( $C_4$  až  $C_{12}$ ) kyseliny s lineárním řetězcem mají mnohem nižší práh vnímání než vyšší mastné kyseliny a každá z nich má svoji charakteristickou vůni. Glycerol je převeden na jednoduché alkoholy nebo vstupuje do glykolytického cyklu, mastné kyseliny jsou odbourávány  $\beta$ -oxidací. V první fázi dochází k aktivaci mastné kyseliny enzymem ligasou (acyl-CoA-syntetasou) za součinnosti energie ATP a koenzymu A. Aktivovaná kyselina vstupuje do takzvané Lynenovy spirály, kde se řetězec mastné kyseliny postupně zkracuje vždy o dva atomy uhlíku. Tento proces je cyklický a opakuje se tak dlouho, dokud se celá kyselina nerozloží na koenzym A. Z kyselin se sudým počtem atomů vzniká acetyl-CoA, z kyselin s lichým počtem uhlíků sukcinyl-CoA. Obě tyto sloučeniny vstupují do citrátového cyklu, v němž dochází k jejich rozštěpení až na oxid uhličitý a k uvolnění energie [3,4,12].

Primární a sekundární alkoholy pravděpodobně vznikají redukcí příslušných aldehydů. Etanol vzniká fermentací laktosy. Metylketony vznikají z mastných kyselin. Při nízkých koncentracích jsou mastné kyseliny dekarboxylovány až na oxid uhličitý a metylketonů se vytváří málo. Laktony vznikají z hydroxylovaných mastných kyselin a aminokyselin. Uzavření kruhu je následkem působení pH nebo mikroorganismů a probíhá po uvolnění hydroxykyselin z triacylglycerolů. Tento proces je podporován zahřátím mléka. Estery vznikají reakcí mezi alkoholy a mastnými kyselinami. Nerozvětvené aldehydy vznikají katabolismem nenasyčených mastných kyselin, rozvětvené z aminokyselin transaminací na imid a následnou dekarboxylací. Další možností je neenzymatická cesta, takzvaná Streckerova degradace. Jedná se o oxidaci aminokyselin oxidačními činidly za vzniku karbonylové sloučeniny o jeden uhlík kratší než výchozí aminokyselina. Sírné sloučeniny tvoří strukturně odlišnou skupinu aromatických látek s velmi nízkými prahy postřehu. Mají velmi výraznou vůni po česneku a zelí. Dalšími látkami mohou být aminy [12].

Aby měl jogurt typickou chuť a aroma, je k tomu nezbytný acetaldehyd, octová kyselina v množství 0,002 % až 0,003 %, určitá titrační kyselost způsobená mléčnou kyselinou, a také volné mastné kyseliny  $C_4$  a vyšší, ovšem v menším množství než je jejich chuťový práh žluklosti. Tvorba aromatických látek, a to především acetaldehydu je vázaná především na *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a souvisí i s kysáním. Začíná při hodnotě pH 5,0, intenzivně roste při pH 4,4 až 4,3 (za asi 3 h při 42 °C), potom se významně zpomalí a stabilizuje se při hodnotě pH 4,0. Za 3 h dosahuje podle vlastností kultury koncentrace 20 až 40 mg.l<sup>-1</sup> [3,4].

Další studie mezi hlavní aromatické látky jogurtu řadí netěkavé kyseliny (mléčná, pyrohroznová a další), těkavé kyseliny (mravenčí, octová, propionová a další), karbonylové sloučeniny (acetaldehyd, aceton, acetoin, diacetyl a další) a heterogenní skupinu látek tvořených během tepelné degradace proteinů, tuků a laktosy. Diacetyl, mléčná kyselina a acetaldehyd nejvíce ovlivňují konečnou chuť a jejich koncentrace určuje kvalitu a přijatelnost pro konzumenty. Obsah diacetylu v jogurtu byl stanoven s použitím 3 metod: kolorimetrické (spektrofotometrie a fluorimetrie) a plynové chromatografie s FID (plamenově ionizační detektor) detektorem a kapilární kolonou. Později byly tyto metody s úspěchem použity pro stanovení ostatních těkavých chuťových látek, hlavně acetaldehydu, acetonu a etanolu [13].

Senzorická charakteristika fermentovaných mlék hraje důležitou roli v přijatelnosti produktu pro zákazníka. Několik aromatických látek bylo izolováno z výrobků jogurtového typu, ačkoliv jen acetaldehyd, ethanol, aceton, diacetyl a 2-butanon se nacházely ve významných množstvích. Acetaldehyd je považován za hlavní chuťovou složku jogurtového aroma. Chuťová kvalita jogurtu také závisí na vztahu mezi ostatními těkavými látkami. Obecně jsou acidofilní mléka charakterizována nedostatkem chuti způsobeným faktem že *Lactobacillus acidophilus* disponuje alkoholdehydrogenasou, která převádí acetaldehyd na ethanol. Bylo dokázáno, že přídavek syrovátkových proteinů a threoninu může tomuto problému zamezit, protože daný mikroorganismus je schopen převést nadbytek threoninu na acetaldehyd a glycin pomocí enzymu threoninaldolasy [14].

Turčič a kolektiv, kteří sledovali chuťové složky jogurtu plynovou chromatografií, zjistili, že hlavními chuťovými složkami jogurtu jsou vedle acetaldehydu těkavé mastné kyseliny (kyselina octová, propionová, máselná, kapronová, kaprylová a kaprinová) [5].

### 2.2.3.8 Jogurtové kultury

Čisté mlékařské kultury ovlivňují svou biologickou činností fyzikálně chemické změny probíhající při výrobě jednotlivých druhů mléčných výrobků. Mají významný vliv zejména na tvorbu ochranných látek i výživných a léčivých faktorů, ale též na průběh vlastního zrání jednotlivých druhů mléčných výrobků. [15]

Mlékárna Valašské Meziříčí používá mlékařské kultury hluboce zmražené, které se uchovávají na suchém ledu a skladují se při teplotě  $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$  [8].

Nakoncentrované bakterie mléčného kvašení se co nejdříve zmrazují, a to v případě, že se vyrábějí zmražené koncentráty i v případě výroby sušených koncentrátů lyofilizovaných. Mezi koncentrací a namrazováním může být odseparovaná biomasa čistých mlékařských kultur udržována jen po velmi krátkou dobu při teplotě  $4\text{ až }6\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aniž by došlo k redukci živých mikrobů a ke snížení jejich biochemické aktivity [16].

Jogurtové kultury musí plnit následující úlohy:

- Dostatečně rychle produkovat kyselinu mléčnou při fermentaci (zrání) a co nejméně překysávat po ochlazení jogurtů po ukončení fermentace
- V požadované míře vytvářet aromatické látky
- Podle potřeby produkovat slizovité látky zlepšující konsistenci míchaných jogurtů, vhodnou mírou štěpit mléčné bílkoviny [3]

K zajištění biochemických pochodů, a tedy i celé výroby jogurtů, se používá směsná jogurtová kultura. Klasická jogurtová kultura se skládá z kmenů *Lactobacillus bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*. U nás jsou jogurtové kultury složeny jen z jednoho kmene *Lactobacillus bulgaricus* a z jednoho kmene *Streptococcus thermophilus*. Vhodný poměr mezi bacily a streptokoky ve směsné kultuře je  $1 : 1$  až  $1 : 2$ . Zatímco streptokoky mají větší vliv na reologické vlastnosti, mají tyčinky rozhodující vliv na kyselost. Obě složky se pak podílejí na tvorbě typických chuťových a aromatických vlastností vyrobených jogurtů, například na tvorbě acetaldehydu. Pette a Lolkema (1950) dokázali, že mezi *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus bulgaricus* je synergický vztah. Růst a metabolismus obou organismů v jednotlivých mléčných kulturách je významně méně aktivní, než když se kultivují v mléce spolu. Na růst a fermentaci mléka kulturními bakteriemi mléčného kvašení působí stimulačně volné aminokyseliny, kyselina listová, p-aminobenzoová kyselina a stopové prvky (mangan). *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* uvolňuje z mléčných proteinů aminokyseliny valin, glycin, histidin (v závislosti od kmene), které stimulují růst *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. Naopak stimulaci růstu a metabolismu *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* způsobuje kyselina mravenčí, kterou ve svém metabolismu produkuje *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. Na stimulaci je potřeba  $30\text{ až }50\text{ mg.l}^{-1}$  kyseliny mravenčí. Metabolické optimum při tvorbě kyseliny mléčné je u *Lactobacillus bulgaricus*  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$  a u *Streptococcus thermophilus*  $39\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Směsná kultura obou mikroorganismů je nejaktivnější při  $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Optimální kysání a vznik aromatických látek je dosažen pouze harmonickým působením obou složek jogurtové kultury [3,4,17].

***Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*** jeho buňky jsou kulaté se zašpičatělými konci, velikosti  $0,7\text{--}0,9\text{ }\mu\text{m}$ . Vyskytují se jednotlivě nebo v řetězcích. Jsou gram pozitivní. Mléko je pro tento druh nejlepším substrátem. Je fakultativní anaerob. *Streptococcus thermophilus* s optimální teplotou  $40\text{ až }45\text{ }^{\circ}\text{C}$  je součástí zákvasů při výrobě jogurtů. Vytváří

L (+)-mléčnou kyselinu a je homofermentativní-zkvašuje mléčný cukr laktosu hlavně na kyselinu mléčnou [3,18,19].

*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* tvoří dlouhé tyčinky 0,3-1,2 x 2-8 µm i delší, se zaoblenými konci, často v řetězcích. Jsou nepohyblivé, gram pozitivní. Uplatňuje se při kvasné výrobě mléčné kyseliny, která má význam nejen v potravinářství. Optimální teplota je 45 až 50 °C. Vytváří z laktosy D (-)-mléčnou kyselinu. Je homofermentativní [3,18,19].

Tradiční jogurtové kultury, nepocházející z lidského těla (speciálně streptokoky), jsou známy tím, že nejsou schopny odolávat, pokud jsou vystaveny kyselým žaludečním podmínkám a mají slabou schopnost adheze k epitelárním buňkám střeva. Přežití během průchodu gastrointestinálním traktem je všeobecně považováno za klíčový prvek probiotik při udržení zdraví prospěšných vlastností. Studie zahrnovala deset mužských a deset ženských dobrovolníků, kteří každý den jedli 125 gramový jogurt (Bianco Naturale; Danone) dvakrát denně po dobu jednoho týdne. Byli požádáni, aby dva týdny před experimentem nejedli žádné mléčné výrobky. Dobrovolníci, jež byli rozděleni do dvou desetičlenných skupin, byli zkoumáni ohledně přeživších kultur v jejich fekáliích. Denní příjem bakterií byl u *Lactobacillus bulgaricus*  $6.10^9$  KTJ (kolonie tvořící jednotky) a u *Streptococcus thermophilus*  $5.10^{10}$  KTJ. Vzorčky fekálií, které byly získávány na začátku (nulový čas), po 2 dnech a po 7 dnech, byly uchovávány po max. 12 h při teplotě 4 až 8 °C. Gramové fekální vzorky byly úplně zředěny sterilním solným roztokem a rozloženy na medium obsahující odstředěné mléko (test 1). V testu 2 bylo medium doplněno o červené barvivo s rutheniem. V obou případech byla inkubace prováděna při 44 °C po 48 h. Ukázalo se, že odolnější vůči střevním podmínkám jsou mikroorganismy *Lactobacillus bulgaricus*, kdežto *Streptococcus thermophilus* prakticky tyto podmínky nepřežil [20].

### 2.2.3.9 Ochucování, balení a skladování

Jakost ovocného podílu může zásadním způsobem ovlivnit jakost a trvanlivost finálního fermentovaného výrobku. Nejvýhodnější a hygienicky bezpečné je přímé čerpání ovocného podílu z nerez kontejneru. Ochucující složka může být smíchávána s proudem jogurtu před plněním do spotřebitelských obalů nebo může být plněna na dno spotřebitelských obalů před zalitím jogurtem. Po tepelném ošetření je také důležité, aby byly ovocné složky uchovány ve sterilních kontejnerech a v aseptických podmínkách. Ovocné složky mohou být dvojího druhu:

- Sladké: normálně obsahující 50-55 % cukru
- Přírodní: neslazené

Velikosti spotřebitelských balení se liší od obchodu k obchodu. Obecně by se měla totální balící kapacita shodovat s kapacitou pasterizační linky [2,21].

Jogurt se vychlazuje na teplotu 5 až 10 °C. Nedostatečně vychlazený jogurt překysává. Při převážení jogurtů do chladíren, stejně jako při skladování a rozvozu, je třeba zabránit různým otřesům a nárazům, aby se neporušila homogennost ani pevnost koagulátu a neoddělovala se syrovátka [4].

## 2.3 Senzorická analýza

Při stále rostoucí životní úrovni našeho obyvatelstva stále také rostou nároky na jakost potravin. Důležitou složkou jakosti je senzorická jakost (smysly postřehnutelná jakost), která ovšem nezahrnuje pouze to, co se smysly rozpozná, ale i srovnání s dosavadní zkušeností a citovým postojem konsumenta. Tato jakost je jedinou složkou potravin, kterou je konsument schopen přímo posoudit a je proto neobyčejně důležitá.

Z těchto důvodů má v analýze potravin stanovení senzorické jakosti přední místo. K tomu slouží senzorické posuzování potravin. Podle definice příslušného mezinárodního standardu je to způsob hodnocení potravin, při němž je využito lidských smyslů jako přímých subjektivních orgánů vnímání, a to za takových podmínek, aby se při hodnocení dosáhlo objektivních, to je spolehlivých a přesných (to znamená opakovatelných i srovnatelných) výsledků.

Při senzorickém posuzování se využívá všech lidských smyslů, nejčastěji chuťového a čichového, ale i zrakového, sluchového, hmatových smyslů, smyslů pro chlad, teplo a bolest. Posuzování vkládáním do úst se nazývá degustace a komplexní vjem s ním spojený se označuje „flavour“. Český termín zatím neexistuje, někteří autoři navrhují termín „chutnost“.

Senzorickou analýzou se nestanoví bezprostředně koncentrace senzoricky aktivní látky. Tyto senzoricky aktivní látky působí sice na smyslové receptory (čidla), ale jejich podráždění se přenáší nervovými drahami do centrální nervové soustavy, kde je zpracováno na počítky, z nichž se skládá s použitím dosavadních zkušeností a pocitů hodnotitele vjem, na jehož základě hodnotící osoba teprve vyslovuje svůj posudek. Senzorická analýza patří tedy do skupiny takzvaných psychometrických metod, protože se jí stanoví přijatelnost nebo intenzita vjemu, nikoli složení potravin [22].

### 2.3.1 Senzorická laboratoř

Vybavení místnosti je dáno požadavky mezinárodní normy ISO 8589. Minimálním požadavkem je, aby místnost pro vlastní hodnocení (zkušební místnost) byla oddělena od místnosti pro přípravu vzorků a od ostatních prostor pracoviště.

Vlastní zkušební místnost určená pro hodnocení, která je vybavena posuzovatelskými kóji, má být umístěna tak, aby posuzující osoby byly co nejméně rušeny vnějšími vlivy.

Místnost musí být čistá, dostatečně prostorná, dobře větratelná a bez jakýchkoliv pachů (například pachu po chemikáliích, tabákovém kouři, ale i pachů vzniklých kulinární úpravou pokrmů – vzorků), zvláště během senzorického hodnocení. Stěny místnosti mají být světlé a jasné (nejlépe krémové barvy), dobře čistitelné (natřené latexem či pokryté dlaždičkami). Stěny, podlaha i vstupní dveře mají být vyrobeny z materiálů neabsorbujících pachy a prach. Podlaha i pracovní stoly mají být pokryty hladkou, lehce omyvatelnou hmotou bez spár a z materiálu, který neabsorbuje pachy [22,23].

Zkušební místnost obsahuje 4 až 15 hodnotitelských kójí. Kóje jsou upraveny tak, aby byl omezen zrakový styk s ostatními hodnotiteli, proto jsou uzavřeny zepředu a ze stran.

Teplota místnosti má značný vliv na kvalitu hodnocení. Teplota má být stálá, nejlépe 20 až 23 °C, během hodnocení nemá být v místnosti průvan, otevřené okno či zapnuté odtahy. Optimální je klimatizace místnosti, umožňující kromě stálé teploty i stálou relativní vlhkost 50 až 85 % (optimum je 70 %).

Hluk je obecně velmi rušivým faktorem. Hodnotitel má mít při práci klid, je proto nutné vyloučit všechny vlivy, které by rozptylovaly nebo ovlivňovaly objektivnost výsledků, hovor,



hudba, přecházení osob po místnosti nebo zvuky z ulice. Absolutní ticho však působí tísnivě a také rušivě, optimum leží mezi hodnotami 30 až 40 dB.

Osvětlení zkušební místnosti má být rovnoměrné s barevným odstínem odpovídajícím záření tělesa o teplotě 6500 K. Toto standardní osvětlení je velmi drahé a tak se často spokojíme se standardním zářivkovým osvětlením.

Další část sensorického pracoviště tvoří obslužný prostor. Tato místnost má těsně přiléhat ke zkušební místnosti tak, aby se vzorky mohly snadno podávat okénky ve stěně do hodnotitelských kójí.

Významnou částí sensorického pracoviště je přípravná vzorků. Její vybavení záleží na charakteru posuzovaných vzorků, způsobu jejich úpravy a množství [23].

### 2.3.2 Nástroje smyslového vnímání

Smyslové vnímání se uskutečňuje téměř výhradně prostřednictvím smyslových orgánů, které se skládají z receptoru (čidla) nebo souboru receptorů, nervových drah a příslušného úseku centrální nervové soustavy, kde se vzruchy zpracovávají na vjemy [23].

Smysly mají schopnost reagovat na nepřetržitě působení dráždění tak, že se mění rozsah přijímání pocitů a vjemů.

Při nižší intenzitě dráždění se organismus přizpůsobuje tak, že práh dráždivosti se mu snižuje, to znamená, že jeho citlivost se zvětšuje. Při vysoké intenzitě dráždění se práh dráždivosti zvyšuje. Časový průběh adaptace a její rozsah se při jednotlivých smyslech odlišují. Výrazně se adaptuje hlavně zrak, čich, smysl pro teplotu a mechanický kožní smysl. Smysl pro sluch a bolest se adaptují jen velmi málo.

Tento jev je třeba brát do úvahy při smyslovém posuzování potravin, protože prostřednictvím nich můžeme ovlivnit prahy dráždivosti a s tím související výsledky zkoumání. Počet zkoumaných vzorků musíme omezit vzhledem k tomu, že se adaptací mění smyslové reakce a takto získané výsledky už nemůžeme porovnávat [24].

#### 2.3.2.1 Chuťový smysl

Je souborem několika receptorů, které mají podobný charakter. Výsledné vjemy nazýváme chutí. Chuť je vjem vyvolaný reakcí některých chemických sloučenin s proteiny specifických receptorů. Sídlem chuťových receptorů je jazyk, část patra stěn ústní dutiny a zadní část ústní dutiny, včetně *epiglottis* (hrtanová příklopka). Jednotlivé receptory jsou spojeny s centrální nervovou soustavou různými nervy, i když výsledný vjem (například hořké chuti) je obdobný.

Vlastní receptorové buňky jsou podlouhlé útvary, do nichž ústí nervové zakončení. Vlastní styk s chuťové aktivními látkami zajišťují vláskové útvary na druhém konci buňky. Jimi se zvyšuje styčná plocha a zvyšuje se tak pravděpodobnost styku molekuly aktivní látky s proteiny na povrchu receptorové buňky. Buňky jsou ve skupinách sdruženy v chuťových pohárcích. Podpůrné buňky ohraničují dutinku, do které proniknou molekuly rozpuštěných látek a v ní dochází postupně ke styku receptory. Chuťové pohárky jsou umístěny po skupinách v chuťových savičkách (papílách), rozeznáme savičky rýhovitě, které jsou největší a jsou dokonce viditelné pouhým okem. Menší jsou savičky houbovitě a lístečkovitě. Všechny savičky jsou opatřeny dutinkami, ve kterých jsou umístěny vlastní receptory. To má za následek, že uplyne určitá doba, než pronikne sensoricky aktivní látka až na povrch receptoru, aby mohlo dojít k reakci, a než se zase dostane ven.

Člověk je schopen vnímat několik základních chutí a mnoho jejich kombinací, pro něž má speciální názvy. Nejznámější je chuť sladká, kyselá, slaná a hořká. Sladkou chuť cukrů

vnímáme na špičce jazyka, ale sladkou chuť některých látek (hlavně anorganických) u kořene jazyka. Mluvíme proto o sladké chuti 1 a 2. Obdobně hořká je vnímána na dvou místech, a to hořká chuť alkaloidů u kořene jazyka (hořká chuť 1), zatímco hořká chuť jiných sloučenin spíše na přední části jazyka (hořká chuť 2). Kyselost se vnímá na okraji jazyka a je způsobena vodíkovými ionty  $H^+$  v roztoku. Slanost se vnímá hlavně po stranách jazyka a je způsobena sodíkovými ionty  $Na^+$ , přičemž chloridové ionty  $Cl^-$  upravují receptor k aktivnímu vnímání.

Kromě uvedených běžných chuti známe chuť umami, což je japonský název této chuti, které si Evropané až donedávna nevšimli jako specifické chuti. Je vnímán také na dvou místech ústní dutiny, takže mluvíme o umami 1 a 2. První oblast vnímá ionty glutamanu, v menší míře i jantanu a některých dalších látek. Druhá oblast je citlivá na nukleotidy, hlavně kyselinu inosinovou.

Další dvě základní chutě jsou vyvolány reakcemi senzory aktivních látek s proteiny chuťových receptorů, které se jimi denaturují, podobně jako se denaturují těmito látkami při činění kůže na useň. Předně je to chuť trpká a svíravá (ve většině jazyků se od sebe nerozlišují). Trpká chuť je vyvolávána tříslovinami, což jsou hlavně deriváty pyrokatecholu a pyrogalolu. Svíravá chuť je způsobena reakcemi s hlinitými ionty  $Al^{3+}$ . Dále známe kovovou chuť, způsobenou působením kovů (například železnatými solemi) – kovová chuť 1, ale také některými oxidačními produkty tuků – kovová chuť 2.

Některí lidé trpí chorobami vnímání chuti; ageusie je neschopnost vnímat chutě, ale je vzácná. Běžnější je hypogeusie (snížení citlivosti vnímání chuti, která může být také specifická – snížená schopnost vnímání jen některé základní chuti). Pojmem parageusie označujeme zkreslené vnímání některé chuti (často je slabá koncentrace cukru vnímána jako hořký roztok). Normální je vnímání slabých koncentrací chloridu sodného jako sladký roztok [23].

### 2.3.2.2 Čichový smysl

Čichovým smyslem rozpoznáváme pach látek; pokud je vjem příjemný, označuje se jako vůně, nepříjemný jako zápach. Citově neutrální odborný termín pach není v hovorovém jazyce užíván a nehodí se proto pro používání v senzorycké analýze k popisu vjemu. Na rozdíl od chuti není u vůně znám mechanismus reakce aktivní látky s receptorem. Vůně (pach) se proto definuje jako vlastnost látek vnímaná nadechnutím do nosní dutiny nebo do ústní dutiny (obě dutiny jsou totiž spojeny), kdy nejde o vjem chuťový, hmatový, teploty nebo bolesti. Čichové buňky jsou podobné chuťovým, podlouhlé, udržované v přímé poloze podpůrnými buňkami. Na konci jsou opatřeny vlásky, které zvyšují povrch a tím i pravděpodobnost styku senzorycky aktivní látky s povrchem receptoru. Na druhém konci je čichová buňka protažena v axon, který prochází síťovou kostí do útvaru zvaného *bulbus olfactorius* (mozkový kyj). Mezi axony je umístěna vrstva bazálních buněk, které vrstvu čichových buněk podporují ve vzpřímené poloze.

Čichové receptory jsou umístěny na horní části nosní dutiny na povrchu horních skořep. Tvoří tam dvě žlutohnědé skvrny, u člověka o ploše asi  $2 \cdot 1,5 \text{ cm}^2$ . Tyto skvrny jsou tvořeny 10 až 20 miliony buněk, z nichž vždy několik je svými axony spojeno s jedinou mitrální buňkou. Buňky jsou tvořeny několika různými receptory.

Při normálním dýchání prochází vzduch nosem v menším množství, takže většina projde spodními průduchy a jen velmi málo nejhornějším průduchem, kde jsou umístěny čichové receptory. Jestliže se člověk prudce nadechne je objem vzduchu větší a větší podíl proto

přichází do styku s čichovými receptory, a proto je vnímání citlivější. Při žvýkání potravy se uvolňují těkavé látky ze sousta nebo z doušku, žvýkacími pohyby přicházejí do nosní dutiny a tam jsou vnímány. Čichové vjemy spojené s degustací se obvykle označují jako aroma.

Čichové vnímání se vysvětluje tak, že látky o malé nebo střední polaritě a molekulové hmotnosti do 200 až 300 daltonů přicházejí do styku s proteiny receptorů, komplex potom může projít slizovou vrstvou a reagovat se specifickými proteiny receptoru, tím se změní jejich konformace a vyvolá se řetěz enzymových reakcí, které vedou k toku fosforečnanových iontů. Tyto receptorové proteiny se skládají z tří podjednotek, které umožňují více než tisíc kombinací. Je tedy možné, že existuje několik set až tisíců základních vůní, jak odpovídá různým kombinacím základních podjednotek.

Také u čichových vjemů byly popsány různé choroby a anomálie. Kryptosmie je nedostatek, způsobený zabráněním přístupu pachových látek (například hlenem při rýmě nebo ucpáním nosních dírek mechanicky), zatímco čichový orgán zůstává normální. Anosmie je porucha, kdy organismus není schopen vnímání; může být (vzácně) úplná, nebo jen specifická (k některým základním pachům), což je dosti běžný jev. Anosmie může být přechodná nebo trvalá. Hyperosmie se projevuje jako zvýšená citlivost receptorů, naproti tomu merosmie je snížená citlivost (běžná ve stáří). Heterosmie je vnímání jiného pachu, než odpovídá zdravému orgánu. Autoosmie je vnímání pachu bez přiměřeného stimulu [23].

### 2.3.2.3 Smysl zrakový

Má sídlo receptorů v oku. Oko je chráněno umístěním v prohlubni ohraničené pevnými kostmi, kromě toho je chráněno obočím, řasami a očními víčky, které také regulují vstup a mohou tento smysl vyřadit, například během spánku.

Receptory jsou citlivé na elektromagnetické záření o rozsahu vlnových délek v rozpětí 380 až 780 nm, které se nazývá světlo. Někteří jiní živočichové mají jiný rozsah citlivosti receptorů, například včely vnímají také určitou oblast ultrafialového záření.

Světlo prochází průhlednou blánou a otvorem zvaným zornička, dále prochází čočkou, která má za úkol zaostřit obrázek na vrstvu světločivných receptorů sítnice. Obrázek vytvořený na sítnici je zmenšený a obrácený, ale při zpracování v mozku se obraz napřímí. Obrázky téhož předmětu vytvořeného v levém a pravém oku se poněkud liší, protože každé oko pozoruje tento předmět z poněkud jiného úhlu; v mozku se však oba obrázky složí v jeden, což umožňuje prostorové vidění.

Na sítnici jsou celkem dva typy receptorů. Tyčinky umožňují vidění za šera, protože mají velkou citlivost. Je to vidění černobílé, proto v noci nevnímáme barvy. Vidění pomocí tyčinek je neostré, proto se za šera špatně čte.

Ve dne (při dostatečně silném osvětlení i v noci) se uplatňují takzvané čípky, kterých jsou tři druhy. Každý druh obsahuje jiné citlivé barvivo, proto existují tři základní barvy, to je červená, zelená a modrá. Z nich se skládá mnoho barevných tónů, kterých je oko schopno rozlišovat několik set. Nepřítomnost světla vyvolá dojem černé barvy, kdežto bílá a šedá barva jsou směsmi všech barevných tónů v přiměřeném poměru. Vzruchy z jednotlivých čípků se v mozku skládají, takže vidíme barevně. Čípky jsou méně citlivé, proto barvy rozeznáváme jen při dostatečně velkém osvětlení. Vidění je ostré.

U barevného vjemu jsme schopni rozeznat tři veličiny: dominantní tón (odstín), světlost neboli luminaci, sytost zbarvení; to znamená kolik je k převládajícímu barevnému tónu přimíseno bílé barvy.

Poruchy vidění postihují téměř každého člověka. Vzácná je slepota (neschopnost vidět). Nejběžnější chorobou je špatná schopnost čočky zaostřit obrázek na sítnici. Krátkozrakost se projevuje tak, že dobře vidíme na krátkou vzdálenost (do 50 cm), ale špatně na větší vzdálenost. Naopak u starších osob se zpravidla vyvíjí dalekozrakost, že tedy dobře vidí na dálku, ale neostře nablízko. Astigmatismus je choroba, kdy se bod promítne na sítnici jako úsečka; důsledkem je neostře vidění. Všechny uvedené vady se napravují brýlemi.

Poruchou barevného vidění je daltonismus, kdy osoba špatně rozeznává barevné rozdíly, nejčastěji mezi barvou zelenou a modrou. Pro sensorickou analýzu vzhledu a barvy jsou takové osoby nevhodné.

K dalším chorobám vidění patří šeroslepost (obtížné vidění za šera) a světloplachost (nesnáze při vidění při intenzivním osvětlení). Při hemeralopii se osoby pomalu adaptují na tmou, naopak nyktalopie je porucho adaptace na světlo.

Zrakové vjemy jsou pro sensorickou jakost potravin velmi důležité, protože vzhled dává předběžné sensorické vyhodnocení, které často rozhoduje o koupi nebo konzumu výrobku. Zrakem se hodnotí velikost a tvar výrobku, geometrická makrostruktura (například uzeniny nebo sýry na nákroji), barevný tón celkově, jeho rozvržení na povrchu (například barva jablka) a tmavost (například se sleduje hnědnutí kůrky při pečení nebo smažení) [23].

#### **2.3.2.4 Sluchový smysl**

Má sídlem receptorů uší. Člověk má dvě uši, ale vjemy zachycené oběma ušima se v mozku zpracují v jeden, který umožňuje orientaci o směru, z něhož zvuk přichází. Vnější ucho se skládá z boltce a zvukovodu a tato část slouží k zesílení a usměrnění zvukových vln. Ve středním uchu se zvukové vlny zesílí a rozechvějí membránu mezi středním a vnitřním uchem. V takzvaném hlemýždi se zvukovými vlnami rozechvějí vlákna, a to chvěním o určité frekvenci vždy určité vlákno, které přísluší určité vláskové buňce. Ve vnitřním uchu je také labyrint, který však je sídlem smyslu pro rovnováhu a se sluchovými vjemy nesouvisí.

Sluchem vnímáme vlnění vzduchu nebo vody o frekvencích v intervalu 16 až 20 000 Hz. Maximální citlivost má naše ucho v intervalu 1000 až 3000 Hz.

Existují tři typy zvukových projevů. Tóny jsou zvuky s pravidelnými změnami intenzity na čas, kdežto šelesty a hřmoty mají nepravidelný průběh. V hudebních projevech jde hlavně o tóny, kdežto při konzumu potravin přicházejí v úvahu šelesty a hřmoty. Celkem u každého zvuku rozeznáváme: intenzitu, dominantní tón (daný určitou frekvencí), barvu zvuku, která udává kolik je k základnímu dominantnímu tónu přimíseno tónů jiných, hlavně takzvaných harmonických.

Při sensorické analýze mají sluchové vjemy menší význam, protože na rozdíl od pravěku nebo dosavadních zvyklostí na Dálném Východě se Evropané a Američané již v mládí naučí konzumovat pokrmy bez vydávání zvuků, jako je mlaskání a srkání. Některé zvuky při jídle však mají přece jen svůj význam, například křupavé zvuky při konzumu zeleniny nebo ovoce (jablek) dokazují jejich čerstvost. Také pražené pokrmy, například ořechy, vydávají při kousání a žvýkání praskavé, hřmotivé zvuky. V posledních desetiletích se vyrábějí speciální výrobky, například křupky, kde si křupavé zvuky spojujeme s křehkostí výrobku [23].

#### **2.3.2.5 Taktilní smysl**

Patří ke smyslům, které se dříve nazývaly hmatové. Taktilním smyslem se zjišťuje tvar a velikost těles, jakost jejich povrchu a zjišťuje se také působení tlaku na povrch těla nebo na sliznice.

Receptory taktilního (také somestetického nebo kožního) smyslu jsou umístěny pod povrchem pokožky a sliznic. Jde o několik těles různé velikosti a tvaru. U kořínků vlasů a chlupů jsou košíčkové receptory, zaznamenávající dotek a pohyb vlasu nebo chlupu. Pod pokožkou najdeme Meissnerova tělíska, Merkelova tělíska, taktilní disky a největší z nich Paciniho tělíska. Tlak na pokožku se přenáší na tato tělíska, která informují o velikosti tlaku. Bývá vždy pohromadě asi 10 až 100 takových tělísek, takže je možné získat informaci i o směru a pohybu mechanických sil.

Taktilní receptory nejsou rozloženy na povrchu těla a sliznic rovnoměrně. Nejvíce jich je v dutině ústní, na ruce, obličeji i na nosní sliznici. Čím je receptorové tělísko menší tím je umístěno blíže povrchu, kdežto větší Paciniho tělíska jsou hlouběji. Tak je možno vnímat jak malé tlaky, tak také velké. O rozložení a hustotě receptorů se přesvědčíme tak, že sledujeme, jak od sebe musejí být minimálně vzdáleny dva hroty, abychom vnímali přítomnost obou dvou; při příliš malých vzdálenostech nám připadají dva hroty jako hrot jediný. Také na rtech a na jazyku poznáme dva hroty vzdálené jen 1 až 2 mm od sebe, na dlani, prstech ruky asi 2 mm, kdežto na rameni teprve hroty vzdálené od sebe 70 mm a na zádech 100 mm. Každý taktilní vjem je komplex počítků z několika receptorů. Místo, na kterém tlak působí, poznáme tak, že vzruch je zpracován na jiném místě mozku.

Taktilním smyslem poznáváme deformaci tkáně, ať již dočasnou nebo trvalou. Dovedeme rozlišit místo dotyku (tlaku), intenzitu tlaku, charakter povrchu (jako hladkost, drsnost), tvar a velikost předmětů. Taktilní smysl je možno vycvičit a zvýšit jeho citlivost (například pro čtení slepeckého písma).

Pro hodnocení potravin používáme hlavně receptory ústní dutiny, rtů a rukou. Na rozdíl od čichových a chuťových počítků se taktilní počítky neskládají do jednoho vjemu, ale vnímáme každou stránku zvláště (například tvar, velikost a drsnost a jiné). Při degustaci (ochutnávání) vnímáme v ústech změny velikosti, tvaru a charakteru povrchu. Při dostatečné hladkosti povrchu se dostaví polykací reflex [23].

#### **2.3.2.6 Kinestetický smysl**

Patří k významným hmatovým smyslům, kterými se vnímá odpor materiálů proti mechanickým silám. K významným receptorům patří svalová vřeténka, šlachová tělíska a kloubové receptory.

Svalová vřeténka jsou vlákna, která jsou nervovými vlákny spojena se svalovým vláknem. Jsou schopna zaznamenat prodloužení svalového vlákna, hlavně působením tahu. Vždy několik speciálních svalových vláken je uzavřeno ve vazivovém pouzdru a uloženo v podélné ose svalu.

Golgiho šlachová tělíska jsou umístěna ve šlachách a jsou citlivá na podráždění vlivem svalové kontrakce, na zvýšení svalového zatížení a na zvýšení svalového napětí. Jsou mnohem méně dráždivá než svalová vřeténka, takže jsou vhodná pro měření větších sil, a jsou citlivá jak na kontrakci (smrštění), tak také dilataci (roztažení). Kloubové mechanoreceptory (například v čelistních kloubech) jsou schopné měřit sílu vynaloženou například při žvýkání potravy.

Také v tomto případě podává centrální nervová soustava informace odděleně, nikoli jako komplexní vjem (například zvlášť tvrdost a zvlášť křehkost). Je proto snadnější stanovit sensorické profily, než je tomu u chuti a vůně. Kinestetické vlastnosti potravin se hodnotí jednak v ruce a mezi prsty, dále při ukousnutí, žvýkání a polykání.

Při analýze potravin se stanoví například tvrdost a měkkost, křehkost a houževnatost, soudržnost a rozpadavost, pružnost a lámavost, elasticita, žvýkatelnost, u tekutin viskozita, hustota a konečně snadnost polykání.

### **2.3.2.7 Smysl pro teplo**

Podává informaci, zda teplota okolí nebo nějakého předmětu je stejná nebo teplejší než teplota pokožky nebo sliznice. Receptory tepla jsou patrně Ruffiniho tělíška, umístěná v hlubších vrstvách pokožky a v podkožním vazivu. Snad mohou tuto funkci zastávat také volná nervová zakončení. Ruffiniho tělíšek je asi 30 000. Začínají reagovat nad 25 °C, maximum citlivosti je mezi 30 až 40 °C, tedy mírně nad teplotou pokožky, přestávají reagovat nad 45 °C, kdy nastupuje smysl pro bolest.

Při senzorické analýze podává smysl pro teplo informaci, zda je teplota pokrmu optimální a zda je možno vůbec vzorek bez poškození zdraví konzumovat [23].

### **2.3.2.8 Smysl pro chlad**

Podává informaci, zda prostředí nebo nějaký materiál je stejně teplý nebo chladnější než teplota pokožky nebo sliznice. Receptory chladu jsou pravděpodobně Krauseho tělíška, umístěná pod pokožkou pod Meissnerovými tělísky. Je jich asi 250 000, jak na pokožce, tak na sliznicích. Tyto receptory začínají reagovat asi při 30 °C a maximální citlivosti dosahují při 25 °C. Při teplotách pod 10 °C již přestávají reagovat a začíná se uplatňovat smysl pro bolest.

Smysl pro chlad podává například informaci, zda pokrm není příliš chladný, zda tedy již je možné jej konzumovat. Při polykání chladného sousta (například zmrzliny) cítíme chlad ještě i v jícnu, což znamená, že i tam jsou umístěny receptory chladu.

Některé látky, jako mentol, vyvolávají chladivý pocit, ovšem pravděpodobně v tomto případě nejde o reakci s receptory chladu, ale s taktilními receptory. Chladivý pocit vyvolávají některé tuky, což je způsobeno táním tuhých podílů v ústní dutině. Táním se odnímá teplota a podráždí receptory chladu, ačkoli tuk nemusí být nutně zchlazený pod teplotu místnosti [23].

### **2.3.2.9 Smysl pro bolest**

Má význam v potřebě vyhnout se vlivům poškozujícím zdraví, ale smysl pro bolest se uplatňuje i při konzumu potravin. Receptory smyslu pro bolest jsou volná nervová zakončení. Jsou umístěna v kůži, sliznicích, okostici, stěnách tepen, v kloubních plochách a jinde. Na pokožce připadá asi 50 až 100 receptorů na 1 cm<sup>2</sup>.

Receptory bolesti se podráždí mechanicky (poškozením tkáně, tlakem a jině), elektrickým proudem, tepelně (vysokou podobně jako nízkou teplotou) a chemicky (například ostrým kořením).

Při senzorickém hodnocení potravin přichází v úvahu vjem bolesti způsobený ostrými částicemi pokrmu (eventuálně nečistotami, jako je písek nebo kamínky), extrémními teplotami (horkými nápoji o teplotách nad 50 °C nebo naopak materiály zchlazenými hluboko pod 0 °C). Z chemických podnětů přicházejí v úvahu silice koření a některé alkaloidy. I když je bolest pocit celkově nepříznivý, přece člověk v malém množství tyto pocity vyhledává, protože obohacují a zpestřují celkové pocity při konzumu pokrmů [23].

**Způsob vedení smyslového vzruchu** ve smyslových receptorech, kdy jsou nakonec podněty převedeny na jednotný vnitřní podnět, je velmi složitý. Obvykle jde o tok iontů, které

převádějí elektrický náboj centripetálním nervem do centrálního nervového systému. Obvykle se ještě v receptoru vzruch zesílí, aby šum během transportu nebyl podstatný.

V CNS (centrální nervová soustava) se potom vzruchový signál zpracuje. Různé počitky vnímáme různě nikoli proto, že by signály z receptoru do CNS byly rozdílné, ale že se dále zpracují ve specifické části CNS.

**Zpracování vzruchu na informaci** probíhá také v CNS. Počitků přijímá CNS velmi mnoho, například při sledování televizního programu je to několik set tisíc počitků za sekundu. Protože by to bylo příliš mnoho informací, vybírá se jen ta nejpodstatnější část (například pohybující se osoba), kdežto celkem neměnnému pozadí se nevěnuje pozornost, pokud pozorovatel tam svou pozornost úmyslně nezaměří. To je velmi důležité při sensorické analýze, protože hodnotiteli je předkládán ve výsledném vjemu jen podstatný úsek veškeré informace, takže některé detaily pak mohou uniknout, pokud se na ně hodnotitel zvlášť nezaměří [23].

### 2.3.3 Hodnotitelé

Podle stupně zaškolení se dělí hodnotitelé (též posuzovatelé nebo mezinárodním termínem asesori) na neškolené, krátce zaškolené, školené a experty.(dlouhodobě školené s několikaletými zkušenostmi a technologickými a zbožíznaleckými znalostmi).

Osoby vybrané za hodnotitele musejí projít řadou zkoušek, kterými se prokáže jejich fyzická i psychická způsobilost k posuzování. Tyto zkoušky je třeba v pravidelných intervalech (například jednou ročně nebo za dva roky) opakovat.

Pro konzumentské (hlavně preferenční) zkoušky jsou vhodnější hodnotitelé bez předběžných zkušeností a odborných znalostí, protože se jejich výpověď více blíží názorům běžných konzumentů. Obvykle se volí nahodilý výběr osob vhodného souboru a zvolení hodnotitelé jsou pouze instruováni o postupu při hodnocení.

I dostatečně vyškolený a zkušený hodnotitel může sensoricky analyzovat pouze, jestliže se cítí duševně a fyzicky disponován, například nemá být nachlazen, pracovním přetížen nebo unaven, nesmí být pod vlivem léků.

Hodnotitel nemá alespoň hodinu před degustací kouřit. Nemá také hodinu před posuzováním jíst silně kořeněné pokrmy a pít větší množství alkoholických nápojů. Citlivost a schopnost posuzovat závisí rovněž na denní době, a proto se musí vždy udávat přesně hodina analýzy [22].

Při hodnocení se využívá skupiny hodnotitelů. Tuto skupinu vede předseda (organizátor) celé akce. Není vhodné, aby předseda byl zároveň hodnotitelem (tedy aby hodnotil), neboť tento člověk je zasvěcen do problému obvykle více než tvoří instruktáž běžného hodnotitele. Má tedy více informací, které může užít při hodnocení. Takové hodnocení je proto vzhledem k ostatním neporovnatelné [25].

### 2.3.4 Podávání a zkoušení vzorků

Vzorky pro hodnocení je třeba podat vždy v dostatečném množství, aby hodnotitel mohl vzorek ochutnat víckrát podle potřeby. Množství podaného vzorku se řídí podle použité metody a také podle počtu podávaných vzorků. Příliš malé množství vzorku vede hodnotitele k úvaze o „vzácnosti vzorku“, stísněnému dojmu a zhoršuje kvalitu hodnocení. Opakem je však také velké množství vzorku, které hodnotitele příliš fyzicky unaví a také zhoršuje kvalitu hodnocení. Obvyklá množství jsou pro kapalné vzorky 15 až 20 ml, u tuhých vzorků množství 20 až 30 g. U testů pořadových a hodnocení sensorického profilu, kde se hodnotitel víckrát

ke vzorku vrací, je nutno zvýšit množství tekutin na 30 až 60 ml (často i více jako například u vzorků piva) a tuhé vzorky na 40 až 100 g.

Všechny podávané vzorky dané úlohy musí být předloženy ve stejném množství. Tato zásada je nezbytná především u vzorků podávaných v sadě bezprostředně po sobě, rozdílná množství vzorků jsou pro hodnotitele zavádějící, ať v kladném či záporném smyslu. Totéž se týká také homogenity vzorků, u nehomogenních vzorků dbáme na shodném zastoupení všech komponent.

Důležitou stránkou při podávání vzorků je stejná teplota. Změna teploty vede k výrazným změnám intenzity vůně, vnímání některých dílčích chutí je rovněž teplotou ovlivněno. Vzorky předkládáme k hodnocení obecně při takové teplotě, která odpovídá obvyklé konzumaci daného vzorku. Teplota místnosti (kolem 20 °C) je ideální pro většinu vzorků, tepelně upravené potraviny nesmí mít teplotu vyšší než 75 °C, u potravin zchlazených (kromě zmrzliny či jiných mražených výrobků) nemá být vzorek chladnější než 5 °C.

Nádoby v nichž je vzorek respektive vzorky podávány musí být vždy stejné. Materiál musí být sensoricky neutrální, nejlépe sklo, bílý porcelán, nerezavějící ocel.

Při degustacích je nezbytné, aby došlo k úplnému odeznění všech chutí z předešlého hodnocení. K urychlení obnovy chuťových receptorů využíváme takzvané neutralizátory chuti, které zařazujeme mezi hodnocené vzorky. Nejčastějším neutralizátorem je kvalitní čistá voda. Můžeme použít i jiné tekutiny jako slabý hořký čaj, mléko, minerálku a u tučných vzorků vodku. Mezi tuhé neutralizátory chuti řadíme bílé pečivo, chléb, jablko, tvrdý sýr. Dodržujeme pečlivě také dobu čekání mezi jednotlivými degustacemi, ta je nejméně 60 sekund i při použití neutralizátoru chuti. Tyto doby je důležité dodržet také při rozdílových a pořadových zkouškách (u modelových roztoků nemá být kratší než 30 sekund) [23].

### **2.3.5 Vyhodnocení výsledků sensorické analýzy**

Výsledky sensorické analýzy se zpracují na základě správně a pečlivě vyplněných formulářů. Předtištěný protokolový formulář (ať na zvláštním papíru či na obrazovce terminálu) má být sestaven tak, aby jeho vyplňování bylo snadné, srozumitelné, jednoduché a jednoznačné.

Tabelárně zpracované údaje se pak zpracují vhodnými statistickými metodami, zpravidla podle programů v zakoupeném softwaru.

Výsledky statistického zpracování je velmi vhodné a názorné převést do grafické podoby s využitím barev. K dispozici jsou dvourozměrné i trojrozměrné grafy, pavučinové grafy s podrobně popsanou legendou (především u sensorických profilů), kdy i laik lépe porozumí výsledkům hodnocení [23].

### **2.3.6 Metody sensorické analýzy**

Stav našich poznatků v rozhodující míře závisí na metodách, které se používají při zkoumání posuzovaného předmětu. Podmínky určující zvyšování vědomostí ze všech úseků vědy charakterizuje rozvoj uplatňovaných metod zkoumání. Vzhledem k tomu, že sensorická analýza je při získávání informací o jakosti potravin v převážné míře odkázána na lidské smyslové vjemy, je třeba respektovat osobitost lidských smyslových orgánů, které se používají jako měřicí zařízení. Z tohoto hlediska se neodlišují, podle teorie měření, sensorické metody posuzování vnější jakosti potravin od běžných metod technického měření. Výsledky získané sensorickými zkušebními metodami vznikají právě tak měřením ve vlastním slova smyslu, stejně tak jako údaje získané měřicími přístroji.



Úlohu měřicího přístroje tu přebírá člověk, a proto je třeba klást speciální požadavky na metody a podmínky hodnocení i na osoby hodnotitelů. Spolehlivé výsledky měření jsou zabezpečeny jen s použitím vědecky odůvodněných sensorických analytických metod a jejich správným uplatněním [24].

K hlavním laboratorním metodám sensorické analýzy patří:

- Metody rozdílové, rozlišovací
- Metody pořadové
- Hodnocení srovnáním se standardem
- Hodnocení s použitím stupnic
- Poměrové (magnitudové) metody
- Metody slovního popisu, stanovení sensorického profilu
- Speciální metody (zjišťování podnětových prahů, stanovení vývoje a doznívání vjemu, stanovení závislosti intenzity vjemu na intenzitě podnětu)
- Optimalizační metody

Konkrétní metodu volíme podle řešeného úkolu, počtu a kvality hodnotitelů, podle množství vzorků a jiných faktorů [26].

#### **2.3.6.1 Metody rozlišovací**

Úkolem metod rozlišovacích (rozdílových, diskriminačních) je zjištění, zda mezi vzorky existuje nebo neexistuje rozdíl v organoleptických vlastnostech nebo sensorické jakosti. Nejčastěji se srovnávají dva vzorky. Pro rozdílové zkoušky potřebujeme 10, lépe 20 až 30 hodnotitelů.

**Párová zkouška** je nejstarší a stále hojně používanou metodou. Při této zkoušce obdrží hodnotitel najednou dva vzorky (A a B) v nahodilém pořadí. Vzorky musejí být předloženy ve stejných nádobách (lišících se jen kódem), ve stejném množství a musejí mít stejnou teplotu. Hodnotitel vzorky v předloženém pořadí ochutná (degustaci obou vzorků smí libovolně opakovat) a rozhodne, zda nepoznal nějaký rozdíl.

Výsledky se statisticky vyhodnotí nejčastěji podle tabulek, kde je uveden minimální počet dopovědí nutný pro zamítnutí nulové hypotézy, která zní, že neexistuje rozdíl mezi vzorky [26].

**Zkouška duo – trio** pracuje se třemi vzorky, kdy první vzorek je referenční podávaný neanonymně jako standard. Další dva vzorky jsou zakódované a mají být s referenčním vzorkem srovnávány. Z těchto dvou neznámých vzorků je jeden opět stejný jako vzorek referenční, ale tentokrát podávaný anonymně. Druhý neznámý vzorek je vzorek zkoumaný. Jejich pořadí v řadě je nahodilé. Hodnotitel nejprve ohodnotí referenční vzorek (standard) a pak oba neznámé vzorky; posouzení standardu i libovolného neznámého vzorku může podle potřeby opakovat. Potom rozhodne, který ze srovnávaných vzorků je shodný s referenčním a který je odlišný [26].

**Trojúhelníková zkouška** jejíž podstata je v tom, že hodnotitel obdrží řadu tří vzorků. V řadě tří vzorků jsou vždy dva stejné a jeden vzorek odlišný, takže je možných šest kombinací: ABB BAB BBA BAA ABA AAB. Tyto kombinace se podávají tak, aby byly v celém souboru zastoupeny stejně často nebo zcela nahodile.

Hodnotitel postupně ochutná vzorky v předloženém pořadí a pokud si přeje, může ochutnání libovolně opakovat. Potom rozhodne, které dva vzorky jsou stejné a který je

odlišný a výsledek zaznamená do protokolového formuláře. Trojúhelníková zkouška je náročnější na paměť a zkušenosti hodnotitele než obě předešlé zkoušky, a to zvláště při hodnocení vzorků s dlouho doznívajícími vlastnostmi (jedlý olej, čokoláda, pivo a jiné) [26].

**Rozdílové zkoušky s více než čtyřmi vzorky v předkládané řadě** se v praxi využívají nejčastěji ve formě zkoušky 2 z 5 a 4 z 10, které jsou rozšířením trojúhelníkové zkoušky a kladou již velké nároky na hodnotitele [26].

**Rozdílové zkoušky s více než dvěma různými vzorky** se v praxi vyskytují také, a to v případě, že posuzujeme zda-li jsou rozdíly mezi více než dvěma vzorky, nejčastěji třemi.

**Jednostimulová zkouška** je speciálním případem rozdílových zkoušek. Podstata zkoušky spočívá v tom, že hodnotitel je nejdříve seznámen se vzorkem A (standardem), který ochutná a dobře si zapamatuje jeho vlastnosti. Další vzorky hodnotitel vždy ochutná (nebo jinak vyzkouší) a posoudí, zda jde o vzorek A nebo vzorek odlišný (B neboli neA) [26].

**Dvoustimulová zkouška** při níž dostává hodnotitel nejprve neanonymně dva vzorky A a B, jejichž vlastnosti si má dobře zapamatovat a pak určuje ze sady předkládaných vzorků, jestli se jedná o A či B, je již složitější [26].

### **2.3.6.2 Pořadové metody**

Tyto metody jsou velmi běžné a dávno známé a byly standardizovány mezinárodně i v národním měřítku. Slouží k orientačnímu rozřídění skupiny vzorků, k výběru vzorků znatelně se lišících od ostatních vzorků skupiny nebo ke sledování vlivu nějakého faktoru na organoleptické vlastnosti a senzoryckou jakost výrobku. Mají své oprávnění právě tehdy, jestliže rozdíly mezi vzorky jsou malé.

Počet vzorků bývá podle složitosti zkoušky různý, například při hodnocení chuti se nemá podávat více než 5 až 6 vzorků, při hodnocení vůně a textury asi 8 až 10 vzorků, kdežto při hodnocení barvy a vzhledu se může podávat až 20 či 30 vzorků najednou.

Hodnotitel vzorky nejprve zkouší v předloženém náhodném pořadí zleva doprava a předběžně si je seřadí, například podle stoupající nebo klesající příjemnosti nebo intenzity zkoumaného znaku.

Začátečník se často dopustí chyby, že rychle ochutná celou řadu vzorků, aby u posledního ještě nezapomněl na chuť prvního. Správné zařazení je skutečně otázkou paměti, ale abychom do hodnocení nevnesli zmatek, musíme si po každém hodnocení vypláchnout ústa a počkat stanovenou dobu (nejčastěji 1 minutu), aby odezněl vliv předcházejícího vzorku. Ani málo zkušený hodnotitelé nemají tak špatnou paměť, aby touto metodou nezvládli 5 vzorků. Při ochutnávání podle předpisu dosáhnou lepších výsledků než při ochutnávání rychlém [26].

### **2.3.6.3 Hodnocení srovnáním se standardem**

Do této skupiny laboratorních metod patří větší počet modifikací, které mají to společné, že hodnotitel srovnává vzorek nebo několik s neanonymním referenčním vzorkem, standardem. Některé rozdílové metody, jednostimulová a dvoustimulová metoda i magnitudové hodnocení jsou v principu také metody založené na srovnání se standardem [26].

Ochutnávat vzorky může hodnotitel i několikrát. Podle stupně zaškolení je potřebí 5 až 50 odpovědí k uzavření průkazného závěru [23].

Na rozdíl od metod rozlišovacích (rozdílových) nezjišťujeme však pouze existenci rozdílu, ale i jeho velikost. Nejjednodušším příkladem je, že hodnotitel obdrží standard A a srovnávaný vzorek B. Oba postupně ochutná a velikost rozdílu vyjádří vhodným způsobem, například vybere jednu z těchto předložených odpovědí:

- a = vzorek je totožný se standardem
- b = vzorek se jen zcela nepatrně liší od standardu
- c = vzorek se velmi málo liší od standardu
- d = vzorek se dosti málo liší od standardu
- e = vzorek je zřetelně (dosti) odlišný
- f = vzorek je velmi odlišný
- g = vzorek je naprosto odlišný, standardu zcela nepodobný [26].

#### 2.3.6.4 Hodnocení s použitím stupnic

V praxi sensorického hodnocení, zvláště při hodnocení jakosti se nejčastěji setkáváme s použitím stupnic k vyjádření výsledku hodnocení. Pod pojmem stupnice rozumíme řadu stupňů (kvality, intenzity, příjemnosti) seřazených do určité posloupnosti.

**Nominální stupnice** je nejjednodušší. Setkali jsme se s ní u rozdílových zkoušek. Tážeme se například: Je rozdíl nebo není rozdíl mezi vzorky? Odpověď zní ano nebo ne a pro zpracování výsledků se sečtou počty odpovědí. Jiným případem je roztřídění vzorků kategorově podle odrůdy (například vína na silvány, tramíny a ryzlinky) [26].

**Stupnice ordinální (pořadová)** je v sensorické praxi nejběžnější. Je to taková stupnice, u níž se intenzita, kvalita nebo příjemnost určité vlastnosti (nebo souboru vlastností, eventuálně sensorické jakosti jako celku) mění určitým daným směrem, ale velikosti intervalů (vzdálenosti mezi sousedními stupni) nejsou přesně kvantifikovány a nejsou nutně stejné. Můžeme tedy říci pouze to, že například vzorek A je lepší než vzorek B a ten je lepší než C, ale rozdíl nemůžeme přesně vyčíslit.

Kategorové ordinální stupnice se v sensorické analýze nejčastěji užívají. Pod pojmem kategorový rozumíme, že se celé kontinuum možných počitků rozdělí do několika oddělených skupin, například bychom kontinuum možných intenzit sladkosti rozdělili do tří skupin: 1 – nesladké, 2 – málo sladké, 3 – velmi sladké.

Velkou péči je třeba věnovat sestavení stupnice, protože nevhodně volená stupnice může znehodnotit sensorickou analýzu. Nejjednodušší bývají ty stupnice, kde je každý stupeň definován slovním popisem, protože slovy formulujeme své závěry. Popis jednotlivých stupňů nemusí být dán jen jedním výrazem, ale může být dost podrobný (to je důležité u stupnic určených pro celou skupinu předností a závad, které musíme vyjmenovat, jak uvádí například stupnice pro hodnocení jedlých rostlinných olejů): olej světležlutý, téměř bezbarvý, čirý, naprosto bez vůně a chuti nebo s velmi slabou příchutí po surovině, nasládlá chuť, velmi příjemná, špičkové jakosti.

S výsledky se pracuje jednodušeji, jestliže popis jednotlivých stupňů označíme ještě kódem, například písmenným nebo číselným:

- 9 – vynikající
- 8 – velmi dobrý
- 7 – dosti dobrý
- 6 – mírně nadprůměrný
- 5 – střední
- 4 – mírně podprůměrný
- 3 – na hranici přijatelnosti
- 2 – špatný
- 1 – velmi špatný

S příklady těchto takzvaných kombinovaných a stupnic se často setkáme a jsou známy i ze školní klasifikace. Nevýhodou číselného označení stupňů je, že svádí k tomu, abychom s dosaženými výsledky manipulovali stejně jako se skutečnými čísly číselné osy (například při výpočtu průměrné hodnoty) [26].

Hodnocení s použitím grafických stupnic se v poslední době značně rozšířilo. Grafické stupnice jsou dvojího druhu:

- Strukturované stupnice, které jsou rozděleny na řadu úseků
- Nestrukturované stupnice, které nejsou dělené [26]

**Stupnice intervalové** mají velikosti intervalů mezi jednotlivými stupni voleny tak, že rozdíly mezi dvěma sousedními stupni odpovídají vždy stejnému rozdílu intenzit sensorického počítka. K intervalovým stupnicím patří například stupnice užívané k měření teploty [18].

**Stupnice poměrové** mají jednotlivé stupně volené tak, že stejné poměry dvou stupňů odpovídají stejným poměrům intenzity počítka. Například kyselost vzorku A byla hodnocena stupněm 9 a kyselost vzorku B stupněm 3; jestliže je stupnice poměrová, pak  $9 : 3 = 3$ , což musí odpovídat tomu, že vzorek A je třikrát kyselejší než vzorek B [26].

#### 2.3.6.5 Poměrové (magnitudové) metody

Magnitudové hodnocení (magnitudo = velikost) zavedl Stevens k hodnocení intenzity počítka. Metoda spočívá v tom, že se jeden referenční vzorek (standard A) podá k hodnocení a hodnotitel intenzitu příslušného počítka označí libovolným číslem. Potom se hodnotiteli podá neznámý vzorek B a hodnotitel intenzitu počítka vyjádří vhodným číslem vzhledem ke standardu.

Hodnotitel nejčastěji položí intenzitu zkoumané vlastnosti standardu rovnou 10 nebo 100 (standard = 100 %); v tomto druhém případě má hodnotitel určit, jakou intenzitu v % má zkoumaný vzorek. Intenzitu standardu může stanovit samozřejmě jakoukoliv, například rovnou 1, ale pak by hodnotitel musel manipulovat s necelými čísly, což je nepohodlné a svádí k zaokrouhlení na celé číslo [26].

### **2.3.6.6 Metody slovního popisu, stanovení senzorického profilu**

Metody slovního popisu charakteru různých stránek vjemu patří k nejstarším metodám senzorické analýzy požitavin. Nejjednodušší způsob je ten, že hodnotitel popíše vjem jen kvalitativně; pokud se jednotlivé složky vyjádří i kvantitativně, mluvíme o senzorických profilech.

Školením se výkon zlepšuje, takže z popisu školeného hodnotitele se lépe pozná charakteristika produktu. Lawless nechal ochutnat 6 vzorků vína skupině expertů a skupině nezkušených hodnotitelů, kteří měli za úkol chuť popsat. Po určité době jim nechal vína opět ochutnat a přiřadit jednotlivým vzorkům své popisy a popisy svých kolegů. K popisu expertů se vzorky vína přiřadily přesněji nežli k popisu nezkušených hodnotitelů. Ukázalo se proto, že je vhodné hodnotitelům v tomto směru pomoci. Nejlépe k tomu posloužil seznam vhodných výrazů, který byl předložen hodnotitelům, popřípadě jim byly ještě rozdíly mezi jednotlivými termíny vysvětleny. Metoda je pro hodnotitele velmi jednoduchá. Hodnotitel ochutnává postupně vzorek a v seznamu zaškrtnává ty výrazy, jejichž chuť postřehl. Sestavení seznamu je dosti náročné.

Metody stanovení senzorického profilu jsou velmi užitečné především pro výzkumnou a vývojovou činnost, například pro stanovení příbuznosti mezi chutěmi a vůněmi, dále v provozní praxi pro objasnění charakteru závad nebo předností vzorků. Vyžadují ovšem speciálně školené hodnotitele nebo lépe experty v příslušné oblasti, kteří musejí být ještě speciálně zaškoleni pro stanovení profilů. U nás jsou zatím tyto metody rozšířeny méně, než by si zasluhovaly. Před vlastním stanovením senzorického profilu je třeba vybrat seznam dílčích vlastností, které se mají sledovat (takzvané deskriptory). Tento seznam se musí vypracovat pro každý konkrétní úkol a při jeho sestavení je třeba dodržet určitá pravidla [26].

## **2.4 Metody stanovení aromatických látek**

Zde uvádím několik metod pro stanovení aromatických látek v mléčných výrobcích. Jsou to plynová chromatografie a její modifikace, které se vzájemně odlišují.

### **2.4.1 Plynová chromatografie**

Pro stanovení obsahu těkavých organických sloučenin, tvořících aroma potravin, se s výhodou používá plynové chromatografie. Plynová chromatografie je separační metoda, která k separaci plynů a par využívá dvě heterogenní fáze. Mobilní fází je zpravidla inertní plyn. Stacionární fází je nejčastěji kapalina zakotvená na inertním nosiči, méně často povrchově aktivní sorbent. Výjimečná rozlišovací schopnost plynové chromatografie se využívá při analýze mnohasložkových vzorků v kombinaci s jinými fyzikálně chemickými metodami, zejména s infračervenou a hmotnostní spektroskopií. Plynový chromatograf se skládá z těchto hlavních součástí:

- Zásobník nosného plynu (tlakové lahve)
- Zařízení na regulaci tlaku
- Dávkovací zařízení
- Chromatografická kolona
- Termostat
- Detektor
- Zařízení na zpracování signálu a vyhodnocení analýzy (počítač) [27]

**Nosný plyn** je uchováván v tlakových lahvích. Jako nosný plyn se nejčastěji používá dusík, argon, vodík a helium. Nejdůležitějším faktorem pro volbu nosného plynu je typ použitého detektoru. Dále volbu ovlivňuje inertnost, čistota, viskozita, hustota plynu a bezpečnost při práci.

**Zařízení na regulaci tlaku** je důležité při udržování stálého průtoku plynu kolonou., protože průtok ovlivňuje jak kvalitativní, tak i kvantitativní analýzu. Konstantní průtok se většinou zabezpečuje udržováním konstantního vstupního tlaku. Používané tlaky závisí na kolonách, jejich délce, vnitřním průměru a náplni.

**Dávkovací zařízení** má úlohu rychle a reprodukovatelně dávkovat do kolony plynný, kapalný nebo tuhý vzorek. Vzorek se má vpravit do kolony co možná nejrychleji a má zaujmout co nejmenší prostor. Separační účinnost kolon a přesnost výsledků závisí na způsobu dávkování a konstrukci dávkovacího zařízení.

**Chromatografická kolona** je rozhodující součástí plynového chromatografu, ve které se vzorek rozděluje na složky. Kolony můžeme rozdělit na náplňové a kapilární. V současné době se dává přednost kolonám kapilárním, protože jsou účinnější, inertnější a stabilnější než kolony náplňové. Kapilární kolony využívají jako nosiče stacionární fáze své vnitřní stěny. Nejčastěji se zhotovují z taveného křemene, skla a nerezové oceli. Pro většinu aplikací postačuje délka kapiláry 30 m. Vnitřní průměr bývá od 50  $\mu\text{m}$  do 1 mm. K urychlení analýzy se v současnosti snižuje délka a průměr kapilár. Dělí se na:

- WCOT (Wall Coated Open Tubular), kde je nosičem stacionární fáze (kapaliny) vnitřní stěna kapiláry.
- SCOT (Support Coated Open Tubular), které mají na vnitřní stěně kapiláry vrstvu nosiče se zakotvenou kapalinou.
- PLOT (Porous Layer Open Tubular), které mají na vnitřní stěně kapiláry tenkou vrstvičku pórovitého materiálu, která slouží jako adsorbent

Adsorbenty mohou být různé druhy aktivního uhlí, silikagel, molekulová síta a syntetické makromolekulární adsorbenty. Stacionární kapaliny musí dobře rozpouštět separované látky, být teplotně stálé, mít nízkou těkavost a nízkou viskozitu při pracovní teplotě. Měly by pevně smáčet nosič, aby nedocházelo k jejich vymývání. Dále nesmí reagovat s analyzovanými látkami a rozpustnost složek vzorku v těchto kapalinách má být různá. Volba stacionární fáze je obvykle rozhodující pro výběr vhodné kolony pro stanovovaný vzorek. Důležitá je selektivita a polarita stacionárních kapalin [27].

**Termostat** reguluje hlavní parametr, ovlivňující rychlost chromatografického procesu, a to teplotu. Proto jsou dávkovač, kolona a detektor zahřívány na konstantní teplotu pomocí termostatu. Teplota kolony se může programově měnit.

**Detektor** je zařízení, jehož úkolem je detekovat v nosném plynu složky, které opouštějí chromatografickou kolonu. Od detektoru se vyžaduje rychlá odezva, velká citlivost a stabilita základního (nulového) signálu.

Podle dějů, které probíhají při detekci, je možno detektory rozdělit na nedestrukční a destruktivní. V nedestrukčních detektorech látka prochází detektorem bez toho, aby se chemicky změnila. V destruktivních detektorech se látka při detekci ireverzibilně změní.

Mezi nedestrukční detektory patří:

- Tepelně vodivostní detektor (TCD)
- Detektor elektronového záchytu (ECD)
- Argonový a heliový detektor (ArD, HeD)
- Infračervený spektrometr

Mezi destrukční detektory patří:

- Plamenový ionizační detektor (FID)
- Termoionizační detektor (TID)
- Hmotnostní spektrometr (MSD)

Nejpoužívanějším detektorem v plynové chromatografii je plamenově ionizační detektor **FID** (Flame Ionization Detektor). Je nejpoužívanějším detektorem v plynové chromatografii. Principem detekce je měření elektrické vodivosti v plynech. Plyny jsou za normálních podmínek elektricky nevodivé, vodivost se značně zvýší, jsou-li v plynech přítomny volné elektrony nebo elektricky nabitě částice. K ionizaci molekul vymývaných z kolony dochází v plazmě vodíkového plamene, který hoří mezi dvěma elektrodami. V čistém kyslíkovodíkovém plameni je jen velmi málo iontů. Obsah iontů však velmi vzrůstá již za přítomnosti stopových množství uhlovodíků.[27,28]

Nezastupitelný význam ve spojení s plynovou chromatografií má také hmotnostně selektivní detektor **MSD** (Mass Selective Detektor). Hmotnostně selektivní detektor využívá působení elektrického pole na nabitě ionty, vzniklé ionizací studovaných látek, které separuje podle poměru jejich hmotnosti a náboje ( $m/z$ ), výsledkem jsou pak hmotnostní spektra jednotlivých píků, z nichž můžeme usuzovat na kvalitu složek. Tato metoda je nejlepší pro identifikaci neznámých složek směsí. Pro každou složku lze získat její hmotnostní spektrum a identifikovat ji porovnáním jejího spektra s knihovnou spekter sloučenin, uloženou v počítači.

**Zařízení na zpracování signálu a na vyhodnocení analýzy** zpracovává signál z detektoru, zakresluje chromatografickou křivku (chromatogram) a provádí její vyhodnocení [27].

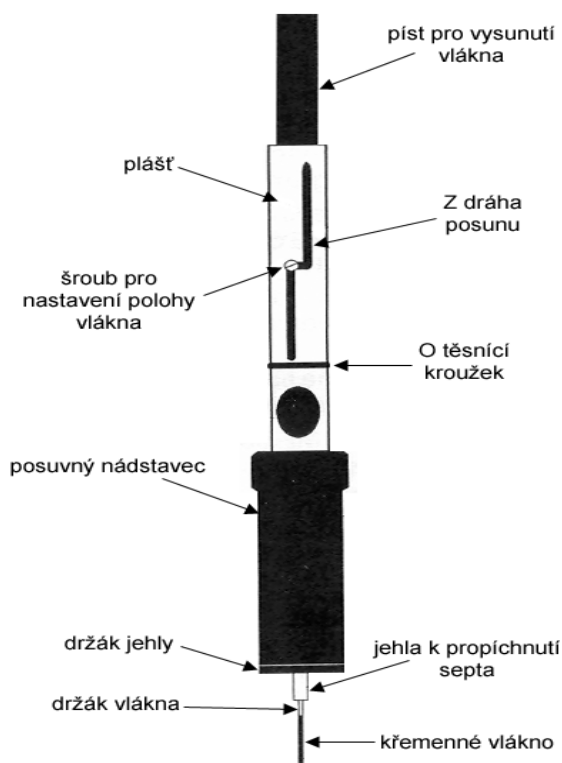
#### **2.4.1.1 Plynová chromatografie s izolací analytů metodou SPME**

Analytická procedura má vždy několik kroků: získání vzorku, přípravu vzorku, separaci, kvantifikaci, statistické vyhodnocení a rozhodnutí. Každý krok je kritický pro získání správných výsledků. Krok vzorkování zahrnuje rozhodování, kde získat vzorky, které správně definují předmět nebo problém, který je zkoumán, a výběr metod, kterými získáme správné množství daného vzorku [29].

**SPME** (Solid – phase microextraction) neboli mikroextrakce tuhou fází je jednoduchá a účinná sorpčně – desorpční technika zakoncentrování analytu, která nevyžaduje rozpouštědlo ani komplikovanou aparaturu. Je založena na sorpci analytu malým množstvím extrakční fáze na povrchu křemenného vlákna. Transport analytu z původního vzorku do extrakční fáze vlákna začíná tehdy, když je vlákno s extrakční fází v kontaktu se vzorkem. Běžně se **SPME** extrakce považuje za dokončenou, pakliže koncentrace analytu dosáhne distribuční rovnováhy mezi původním vzorkem a extrakční fází na vláknech. V praxi to znamená, že je-li jednou rovnováha dosažena, pak bude extrahované množství konstantní nepřesahující limity

experimentální chyby a je nezávislé na dalším prodlužování extrakční doby. Existuje přímo úměrný vztah mezi koncentrací vzorku a množstvím extrahovaného analytu. Jednoduchost a praktičnost dělá z **SPME** výbornou alternativní metodu k mnoha již zavedeným metodám. Největší výhodou této metody je práce s minimálním objemem vzorku. Například, **SPME** zařízení se používají k důkazu látek, které jsou uvolňovány jednotlivými cibulkami květin během jejich životního cyklu. Množství extrahovaného analytu závisí na:

- Typu a tloušťce polymeru pokrývajícího vlákno
- Na distribuční konstantě analytu
- Koncentraci analytu ve vzorku
- Extrakčních podmínkách [27, 29]



Obr. 2: Schéma SPME vlákna [27]

Při využívání **SPME** se vyskytují tři základní typy extrakce:

- **přímá extrakce** (direct extraction) – vlákno s extrakčním materiálem je vloženo přímo do vzorku a analyt je přímo distribuován ze vzorku do extrakční fáze
- **extrakce nad vzorkem** (headspace mode) – analyt musí překonat vzduchovou bariéru než dosáhne extrakční fáze na vlákne, které je tak tímto způsobem chráněno před vysokomolekulárními a netěkavými rušivými látkami, které se ve vzorku vyskytují, jako jsou humusové materiály a proteiny
- **membránově chráněná extrakce** (membrane protected mode) – kde je extrakční fáze od vzorku oddělena membránou [29].



Pro analýzu aromatických látek potravin je vhodnější metoda **Headspace – SPME**, kdy je vlákno exponováno plynné fázi nad vzorkem v uzavřeném prostoru. Je citlivější, vykazuje vyšší selektivitu a vyšší životnost vlákna. U **Headspace – SPME** je dosažení rovnováhy rychlejší, protože analyty mohou rychleji difundovat do vlákna. Limitujícím krokem je zde přechod analytů ze vzorku do headspace, který může být u větších molekul velmi pomalý. Při desorpci je jehla zavedena do injektoru plynového chromatografu, kde jsou analyty tepelně desorbovány a naneseny na kolonu. Účinnost desorpce závisí na:

- Bodu varu analytu
- Tloušťce polymeru
- Hloubce ponoření vlákna
- Teplotě injektoru
- Době desorpce

U extrémně těkavých látek může dojít k jejich uvolnění z vlákna ještě dřív, než jsou dávkovány do injektoru. Proto je vhodné minimalizovat dobu mezi extrakcí a desorpcí [27].

#### **2.4.1.2 Plynová chromatografie – olfaktometrická GC/O**

Analýzy aroma mlékařenských výrobků jsou problematické kvůli heterogenní povaze mléka. Několik analytických metod bylo použito ke studiu aroma těchto výrobků, mezi nejběžnější patří plynová chromatografie – hmotnostní spektrometrie (**GC/MS**) a plynová chromatografie – olfaktometrie (**GC/O**). Chemická podstata mléčných výrobků byla úspěšně studována s použitím **GC/O**.

Plynová chromatografie – olfaktometrie je sbírkou technik, které kombinují olfaktometrii nebo využití lidských receptorů k určení aromatických látek v definovaných vzduchových proudech s využitím separace těchto látek pomocí plynové chromatografie. Během **GC/O** je extrakt nebo destilovaný vzorek z potravin nastříknut do plynového chromatografu, který je na svém detektorovém konci vybaven olfaktometrem. Hodnotitel u výstupu olfaktometru zaznamenává, co cítí ve vlhkém vzduchovém proudu. Data, která jsou výsledkem **GC/O**, jsou kvalitativní povahy a hodnotitel popíše, jaký vjem se mu vybaví. To obvykle zahrnuje také připojení přesného slova nebo skupiny slov, ale také obrázků [30].

#### **2.4.1.3 Plynová chromatografie se sorpční extrakcí na mřížkovém míchadle SBSE**

Analýza chuťových látek v mléčných produktech jako je mléko, smetana, jogurt a sýr stejně jako jejich ochucujících složek obvykle vyžaduje nepohodlné kroky při přípravě vzorků jako extrakce kapalina – kapalina, extrakce na pevné fázi, destilační metody ap., jejichž nevýhodou je manipulace s rozpouštědly.

Při užití extrakce **SBSE** je malé mřížkové míchadlo potažené polydimethylsiloxanem (PDMS) vloženo do vzorku a míchá po dobu 1 hodiny. Během této doby se analyt extrahuje na PDMS fázi, která vystupuje jako imobilizovaná kapalina. Míchadlo je poté odstraněno a omyto destilovanou vodou a následně umístěno do zařízení pro termální desorpci. Kvůli hydrofobnímu charakteru PDMS není třeba sušících procedur. Záhřevem míchadla se uvolňují extrahované sloučeniny do **GC/MS** systému pro následnou analýzu. [31].

Jogurt je typický mlékařenský výrobek, který bývá ochucen jak ovocem a ovocnými složkami tak i některými aromatickými látkami. Andreas Hoffmann a Arnd Heiden se

zabývali ovocnými aromatickými látkami a ne látkami z neochuceného jogurtu a využívají výše zmíněnou analýzu. V jahodovém jogurtu byly pak určeny tyto aromatické ovocné látky: methyl-2-methyl-butyřát, ethyl-butyřát, ethyl-3-methyl-butyřát, cis-3-hexenol, ethyl-kapronát, cis-3-hexenylacetát, isoamylbutyřát, skořičan ethylnatý, vanilin,  $\gamma$ -dekalakton [31].

#### 2.4.1.4 Plynová chromatografie s extrakcí analytu na sorbent v nerezové trubici (trap) a následnou kryofokusací

V této studii jsou aromatické látky analyzovány dynamickou headspace metodou používající kapilární plynovou chromatografii a hmotnostní spektrometr jako detektor. Vzorky byly vystaveny proudu ultračistého dusíku a analyty zachyceny na sorbent v nerezové trubici a následně termálně desorbovány, zakoncentrovány kryofokusací v hlavě chromatografické kolony a analyzovány metodou **GC/MS**. Látky byly identifikovány srovnáním jejich hmotnostních spekter s databází spekter a retenčních časů. Výsledkem analýzy byly látky uvedené v tab. 2.:

Tabulka 2: Aromatické látky v kysaném výrobku (míchaná kultura *L.bulgaricus*, *S.thermophilus*) [32]

<b>kyseliny</b>	<b>alkoholy</b>	<b>estery</b>	<b>ketony</b>
mravenčí	ethanol	methyl ester kyseliny mravenčí	propanon
octová	2-propanol	methyl ester kyseliny octové	2,3-butandion
	1-propanol	ethyl ester kyseliny octové	2-butanon
	1-butanol		2-pentanon
	1-pentanol		2,3-pentandion
			3-hexanon
			2-heptanon
			2-nonanon

<b>aldehydy</b>	<b>alkany</b>	<b>sírné látky</b>	<b>ostatní</b>
acetaldehyd	nonan	dimethylsulfid	pentan-2-ol-4-on
pentanal	undekan	dimethyldisulfid	methylbenzen
hexanal			ethylbenzen
heptanal			limonen
benzaldehyd			
oktanal			
nonanal			
dekanal			

#### 2.4.2 Destilace s vodní parou a kolorimetrie

Destilace s vodní parou byla s dobrým výtěžkem využita pro izolaci těkavých látek u mléčných výrobků. Extrakční výtěžek pro acetaldehyd, ethanol a diacetyl byl větší než 90 % a acetoin byl částečně oddělen od diacetylu. Kolorimetrie dokázala přesně určit acetoin a diacetyl při nízkých koncentracích [33].

### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Vybavení analytické laboratoře

##### 3.1.1 Standardy pro určení aromatických látek technikou SPME – GC

Tabulka 3: Standardy pro SPME

acetaldehyd	furfural	heptaldehyd
diethylether (ethyl ether)	nonan-2-ol	heptan-2-on
heptan	benzaldehyd	isoamylalkohol
kapronová kyselina	propionová kyselina	n-amylalkohol
butan-2,3-diol	oktan-1-ol	3-hydroxybutan-2-on (acetoin)
propionaldehyd	isomáselná kyselina	heptan-2-ol
aceton dimethyl acetal	undekan-2-on	hexan-1-ol
aceton	máselná kyselina	nonan-2-on
methylacetát	ethylkaprinát (ethyldekanoát)	ethylkaprylát
methanol	fenylacetaldehyd	okt-1-en-3-ol
ethylacetát	isovalerová (isopentanová)	kapronaldehyd
ethylmethylketon	mléčná kyselina	hexanal
isovaleraldehyd	dekan-1-ol	isobutanol
isopropanol	fenylethanol	pentan-2-ol
ethanol	fenylethylacetát	butan-1-ol
propylacetát	kaprinová	myristová kyselina
butan-2,3-dion (diacetyl)	benzylalkohol	laurová kyselina
pentan-2-on	fumarová kyselina	palmitová kyselina
sek.butanol	olejová kyselina	N-methylhydroxylamin hydrochlorid
ethylbutyrát	jantarová kyselina	stearová kyselina
octan butylnatý (butylacetát)	kaprylová kyselina	

##### 3.1.2 Plyny

- Dusík
- Syntetický vzduch
- Vodík (v tlakových lahvích od firem Siad a Linde)

##### 3.1.3 Přístroje

- Plynový chromatograf Trace GC 2000 s kapilární kolonou, plamenově ionizačním detektorem s výstupem na PC



Obr. č. 3: Plynový chromatograf Trace GC 2000

- PC – Intel Pentium (Autocont)
- Vodní lázeň
- Analytické váhy And-GR-202
- Lednice

### 3.1.4 Pomůcky

- SPME vlákno SPME Supelco Fiber
- Mikropipeta Biohit-Proline (100 – 1000  $\mu$ l)
- Vialky objemu 4 ml se šroubovacími uzávěry a septy
- Plastové lžice, špachtle

## 3.2 Analýza aromatických látek v ovocných jogurtech technikou SPME – GC

### 3.2.1 Vzorky

- Jako vzorky sloužily ovocné smetanové jogurty s obsahem tuku 8 % (jahoda, jahoda s vanilkou, malina s vanilkou, višně, višně s vanilkou, borůvka, broskev) a nízkotučné ovocné jogurty s obsahem tuku menším než 0,1 % (jahoda, malina, broskev)
- Jak smetanové tak nízkotučné jogurty pochází z mlékárny Valašské Meziříčí, spol. s r.o.
- Mikropipetou byly ze zamíchaného jogurtu (skladovaného v lednici) odebrány vzorky
- Vzorky o hmotnosti 1 g byly vpraveny do vialek a následně připraveny k analýze jak je uvedeno dále (kap. 3.2.2)



Obr. č. 4: Smetanový a nízkotučný jogurt z Mlékárny Valašské Meziříčí [34]

### 3.2.2 Podmínky izolace těkavých látek technikou SPME

- Temperování vialky se vzorkem po dobu 30 min na vodní lázni při teplotě lázně 35 °C
- Extrakce těkavých látek SPME vláknem na vodní lázni po dobu 20 min při teplotě lázně 35 °C
- Po této době se vlákno z vialky vytáhne a ihned přenese do injektoru chromatografu

### 3.2.3 Podmínky chromatografické analýzy

- Chromatograf Trace GC 2000
- Průtok nosného plynu (dusíku): 0,9 ml.min<sup>-1</sup>
- Průtok vzduchu 350 ml.min<sup>-1</sup>, vodíku 35 ml.min<sup>-1</sup>
- Dávkování analytu: splitless injection po dobu 5 min
- Teplota injektoru 250 °C
- Teplotní program: 5 °C za 1 min, při počáteční teplotě pece 40 °C po dobu 1 min a konečné teplotě 200 °C po dobu 7 min, konečné chlazení cca 7 min
- Kapilární kolona DB-WAX s rozměry 30m x 0,32 mm x 0,5 μm
- Doba analýzy 40 min

### 3.2.4 Statistické vyhodnocení výsledků

- Ze tří analýz každého jogurtu byl stanoven aritmetický průměr:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i \quad (3.1)$$

- Dále byla stanovena směrodatná odchylka:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (3.2)$$

- Kde n = počet analýz jednotlivých vzorků

### 3.3 Vybavení senzorické laboratoře

#### 3.3.1 Přístroje a pomůcky

- Lednice
- Nerezové lžice, plastové kelímky (malé), plastové kelímky (nápojové), nápojová míchátko, podtácky, voda (neutralizační prostředek), tužky

#### 3.3.2 Senzorická laboratoř

Senzorická laboratoř je zařízená podle požadavků normy ČSN ISO 8589, zatím nemá akreditaci k provádění senzorických zkoušek, avšak pro účely této diplomové práce nám vystačila neboť v blízké době by měla projít akreditačním řízením a podmínky jsou pro senzorickou analýzu jako byla tato dostačující.

### 3.4 Senzorická analýza

#### 3.4.1 Vzorky

- Jako vzorky sloužily tytéž jogurty, které byly použity pro stanovení aromatických látek metodou SPME – GC

#### 3.4.2 Podmínky při převozu a podávání vzorků při hodnocení

- K převozu byla používána termotaška zajišťující potřebnou teplotu 4 – 8 °C
- Dále byly jogurty před senzorickou analýzou uchovány v lednici max. po dobu 2 dnů
- Množství vzorku podávaného k analýze bylo dostatečné i pro opakované hodnocení a to asi 15g
- Vzorek byl po připravení do plastových kelímků vrácen zpět do lednice, aby měl teplotu jako při běžné konzumaci

#### 3.4.3 Označení vzorků

- **Smetanové jogurty**

A – Jahoda

B – Jahoda s vanilkou

C – Višeň s vanilkou

D – Malina s vanilkou

E – Višeň

F – Broskev

G – Borůvka

### ➤ Nízkotučné jogurty

A<sub>N</sub> – Jahoda

B<sub>N</sub> – Malina

C<sub>N</sub> – Broskev

### 3.4.4 Dotazník pro sensorické hodnocení a hodnotitelé

- Dotazník je uveden v příloze č. 1
- Dotazník obsahuje otázky týkající se vztahu hodnotitelů k ovocným jogurtům
- Hodnocení se pak skládalo z pořadových zkoušek, stupnicových testů a párových (preferenčních) testů
- Hodnotitelé byli vybráni jak z řad zaměstnanců fakulty, tak z řad studentů, kteří byli proškoleni ze základů sensorické analýzy

### 3.4.5 Statistické vyhodnocení výsledků

#### 3.4.5.1 Friedmanův test

Tento test se používá při vyhodnocování pořadových zkoušek. Spočívá v tom, že každý z hodnotitelů posuzuje rozdílnost R vzorků prostřednictvím stanoveného pořadí od 1 do R. To znamená, že podle rozpoznané intenzity nebo preference je seřadí a každému vzorku podle pořadí přiřadí jedno z čísel od 1 do R. Data se uspořádají do přehledné tabulky a pro další výpočty budou důležité součty pořadí jednotlivých vzorků.

Testovaná hypotéza H předpokládá, že všechny vzorky pochází ze stejného základního souboru a že mezi vzorky nejsou významné rozdíly ve sledovaném sensorickém znaku. Alternativní hypotéza A toto tvrzení popírá a říká, že mezi vzorky je alespoň jeden, který se odlišuje od jiného nebo jiných. Friedmanův test posoudí, zda případné rozdíly součtů pořadí jsou významné.

Testovým kritériem je veličina

$$FR = \frac{12}{n \cdot R \cdot (R + 1)} \cdot \sum_{i=1}^R T_i^2 - 3 \cdot n \cdot (R + 1) \quad (3.3)$$

- T<sub>i</sub> = součet pořadí výrobku, n = počet hodnotitelů
- Pakliže bude FR větší (rovno) než kritické hodnoty Q<sub>1-α</sub>(R,n) jež jsou tabelovány pro hladinu významnosti α = 0,05 pak je testovaná hypotéza zamítnuta

Při zamítnutí testované hypotézy H Friedmanova testu prohlásíme vzorky na dané hladině významnosti α za rozdílné v intenzitě sledovaného sensorického znaku respektive preferencích. K porovnání dvojic vzorků, které se od sebe liší pak slouží **Neményiho** metoda vícenásobného párového porovnávání závislých výběrů. Použitý test je oboustranný, proto nemůžeme stanovit směr rozdílnosti. I tento postup vychází ze součtů pořadí. Rozdíl mezi dvěma vzorky je na hladině α = 0,05 významný, pakliže platí:

$$|T_i - T_j| \geq q_{1-\alpha} \cdot (R, n) \quad (3.4)$$

- $T_i$  resp.  $T_j$  jsou součty pořadí  $i$ -tého resp.  $j$ -tého vzorku a  $q_{1-\alpha}(R, n)$  je speciální kritická hodnota pro párová porovnávání závislých výběrů, která je tabelována [17]

### 3.4.5.2 Kruskal-Wallisův test

Tento test je vhodný pro srovnání sensorického znaku u dvou a více výrobků. Používá se u stupnicových metod. Testovaná hypotéza předpokládá, že mezi  $R$  výrobky není rozdíl v úrovni sledovaného sensorického znaku. Alternativa potom bude předpokládat, že existuje alespoň jeden výrobek, který se od jiného nebo jiných výrobků liší. Testové kritérium Kruskal-Wallisova testu je

$$Q_{KW} = \frac{12}{n \cdot (n+1)} \cdot \sum_{r=1}^R \frac{T_r^2}{n_r} - 3 \cdot (n+1) \quad (3.5)$$

Pokud je shodných pozorování ve všech výběrech více než 25 %, potom se doporučuje použít korigované testové kritérium:

$$Q_{KW}^* = \frac{Q_{KW}}{1 - \frac{\sum_{k=1}^K (n_k^3 - n_k)}{n^3 - n}} \quad (3.6)$$

- $K$  = počet kategorií (stupňů),  $R$  = počet výrobků,  $T_r$  = součet pořadí jednotek  $r$ -tého výběru,  $n_r$  = počet hodnotitelů v  $r$ -tém výběru,  $n_k$  = je počet pozorování v  $k$ -té kategorii,  $n = \sum_{r=1}^R n_r$  je celkový počet hodnocení v testu

- Hypotézu zamítneme, pakliže na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  platí

$$Q_{KW}^* \geq \chi_{1-\alpha}^2(R-1) \quad (3.7)$$

- $\chi_{1-\alpha}^2(R-1)$  je 100(1- $\alpha$ )% kvantil Pearsonova rozdělení s  $(R-1)$  stupni volnosti

Pro porovnání dvojic, které se od sebe liší slouží opět Nemenyiho metoda vícenásobného párového porovnávání nezávislých výběrů. Použitý test je oboustranný, proto nemůžeme stanovit směr rozdílnosti. Jestliže je počet hodnotitelů u všech výrobků stejný a platí  $n_r \leq 25$ , rozdíl mezi  $i$ -tým a  $j$ -tým výrobkem je na hladině  $\alpha = 0,05$  významný, platí li:

$$|T_i - T_j| \geq Q_{1-\alpha}(R, n_r) \quad (3.8)$$

- kde  $T_i$  resp.  $T_j$  jsou součty pořadí jednotek příslušející  $i$ -tému resp.  $j$ -tému výrobku a  $R$  je počet výrobků zahrnutý v původním Kruskal-Wallisově testu a  $Q_{1-\alpha}(R, n_R)$  je tabelovaná kritická hodnota [17]

### 3.4.5.3 Párová zkouška s určením směru rozdílnosti (jednostranný test)

Jako vzorek A se označí ten, který byl preferovanější než vzorek B a rozhodlo se pro něj tedy více hodnotitelů ( $n_A$ ).



Jako testovací kritérium slouží statistika

$$F = \frac{n_A}{n - n_A + 1} \quad (3.9)$$

- Hypotézu  $H_0$ , která předpokládá, že mezi vzorky není rozdíl, potom zamítneme, když na hladině  $\alpha = 0,05$  bude platit:

$$F \geq F_{1-\alpha}(v_1, v_2) \quad (3.10)$$

- $F_{1-\alpha}(v_1, v_2)$  je kvantil Fisherova rozdělení s  $v_1 = 2(n - n_A + 1)$ ,  $v_2 = 2n_A$  stupni volnosti [17]

Vyhodnocení dotazníků bylo provedeno pomocí softwaru **STAT K25**.

## 4. VÝSLEDKY A DISKUSE

### 4.1 Stanovení aromatických látek v ovocných jogurtech pomocí standardů

Standardní roztoky byly podrobeny analýze technikou GC-SPME a s pomocí retenčních časů těchto standardů a ploch jejich píků byly určeny aromatické látky vyskytující se v analyzovaných ovocných jogurtech, a to jak jejich kvalitativní zastoupení tak jejich množství jež se vypočítá ze vztahu:

$$c = \frac{c_s \cdot P}{P_s} \quad (4.1)$$

- Kde  $c$ ,  $P$  jsou koncentrace a plocha píku aromatické látky a  $c_s$  a  $P_s$  jsou koncentrace a plocha píku standardu
- $c = \mu\text{g} \cdot \text{ml} \approx \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  jogurtu

Byla hodnocena jedna série vzorků jogurtů, hodnocení (březen 2008). Zjištěný obsah aromatických látek v jednotlivých typech jogurtů je uveden v tabulkách č. 5,6,7. Chromatogramy aromatických látek identifikovaných v různých typech jogurtů jsou uvedeny v přílohách č. 2-11.

#### 4.1.1 Standardy aromatických látek a jejich retenční časy

Standardy byly analyzovány v předchozí diplomové práci [35], jejich retenční časy jsou uvedeny v tabulce č. 4.

Tabulka 4: Standardy aromatických látek a jejich retenční časy

Sloučenina	Retenční čas (min)	Sloučenina	Retenční čas (min)
acetaldehyd	3,54	isoamylalkohol	13,55
methylacetát	5,02	n-amylalkoho	14,66
ethylacetát	5,87	acetoin	15,83
ethylmethylketon	6,12	heptan-2-ol	16,27
ethanol	6,82	hexan-1-ol	17,20
diacetyl	7,52	nonan-2-on	18,17
pentan-2-on	7,60	ethylkaprylát	19,21
sek.butanol	8,73	octová kyselina	19,78
ethylbutyrát	8,93	furfural	20,19
hexanal	10,01	benzaldehyd	21,81
pentan-2-ol	11,18	isomáselná kyselina	22,53
butan-1-ol	11,94	máselná kyselina	23,93
heptaldehyd	12,51	fenylethylacetát	28,42
heptan-2-on	12,69	kaprylová kyselina	33,02

#### 4.1.2 Identifikace a kvantifikace aromatických látek v ovocných jogurtech

Tabulka 5: Aromatické látky ve smetanových ovocných jogurtech v  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  jogurtu

Sloučenina	Borůvka	Broskev	Jahoda	Jahoda s van.
acetaldehyd	24,80 ± 6,88	0,2 ± 0,02	13,7 ± 2,89	19,28 ± 1,04
methylacetát	1,31 ± 0,07	0,07 ± 0,00	1,47 ± 0,23	1,02 ± 0,02
ethylacetát	-	0,7 ± 0,04	1,07 ± 0,07	0,52 ± 0,02
ethanol	37,80 ± 3,06	4,17 ± 0,21	24,95 ± 1,80	1384,98 ± 13,70
diacetyl	0,04 ± 0,00	-	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00
sek.butanol	3,31 ± 0,15	-	10,45 ± 0,26	4,55 ± 0,16
ethylbutyrát	71,24 ± 4,61	-	659,95 ± 39,78	339,15 ± 9,89
pentan-2-ol	-	4,56 ± 0,95	-	-
heptan-2-on	0,18 ± 0,03	-	0,35 ± 0,02	0,16 ± 0,02
isoamylalkohol	0,6 ± 0,11	-	6,71 ± 0,31	1,98 ± 0,23
n-amylalkoho	0,08 ± 0,02	-	0,13 ± 0,03	-
acetoin	16,3 ± 1,65	1,03 ± 0,07	12,42 ± 1,26	13,25 ± 0,93
heptan-2-ol	-	-	0,07 ± 0,01	0,34 ± 0,02
hexan-1-ol	0,28 ± 0,03	-	2,51 ± 0,18	1,02 ± 0,05
nonan-2-on	-	-	-	0,01 ± 0,00
octová	23,02 ± 1,89	1,76 ± 0,24	31,77 ± 3,77	3,72 ± 0,49
benzaldehyd	0,56 ± 0,03	0,21 ± 0,03	0,05 ± 0,00	-
isomáselná	2,10 ± 0,32	-	-	-
máselná	0,32 ± 0,20	-	0,46 ± 0,00	0,42 ± 0,03
fenylethylacetát	3,72 ± 0,80	-	6,39 ± 0,15	1,40 ± 0,07
kaprylová	0,07 ± 0,00	-	0,08 ± 0,00	0,01 ± 0,00

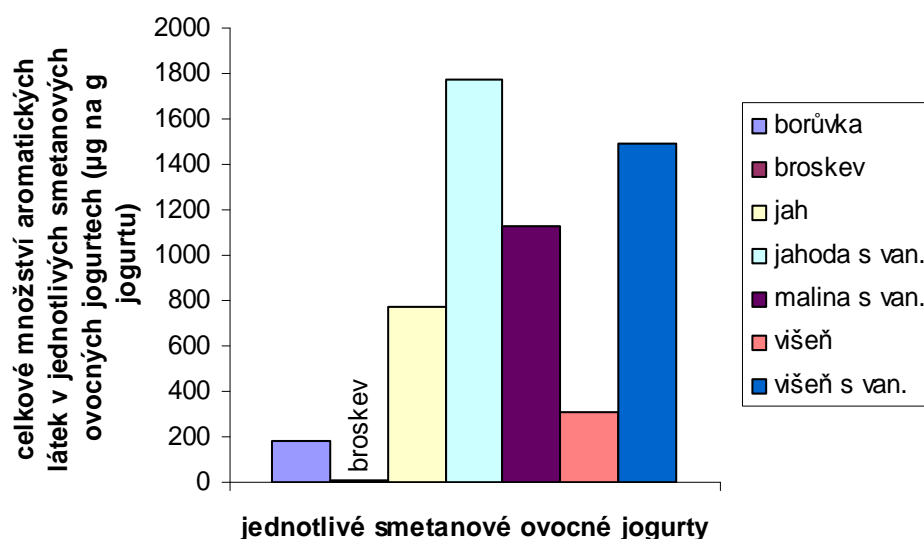
Tabulka 6: Aromatické látky ve smetanových ovocných jogurtech v  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  jogurtu

Sloučenina	Malina s vanilkou	Višeň	Višeň s vanilkou
acetaldehyd	35,60 ± 9,87	40,88 ± 0,62	68,26 ± 4,71
methylacetát	1,06 ± 0,04	1,17 ± 0,03	0,95 ± 0,02
ethylacetát	2,49 ± 0,05	0,32 ± 0,02	0,25 ± 0,01
ethanol	1065,82 ± 40,00	229,73 ± 2,34	1376,90 ± 35,93
diacetyl	0,05 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,00
heptan-2-on	0,16 ± 0,00	0,15 ± 0,01	0,16 ± 0,02
acetoin	15,39 ± 0,94	13,59 ± 0,56	12,63 ± 0,04
heptan-2-ol	-	0,11 ± 0,01	0,1 ± 0,05
hexan-1-ol	-	0,21 ± 0,00	0,2 ± 0,02
nonan-2-on	0,02 ± 0,00	-	-
octová	7,14 ± 0,26	10,51 ± 1,15	17,36 ± 1,43
benzaldehyd	0,05 ± 0,01	11,53 ± 0,53	9,63 ± 0,16
máselná	0,38 ± 0,02	0,4 ± 0,01	0,36 ± 0,00
fenylethylacetát	1,17 ± 0,01	1,49 ± 0,06	3,88 ± 0,48
kaprylová	0,06 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,09 ± 0,00

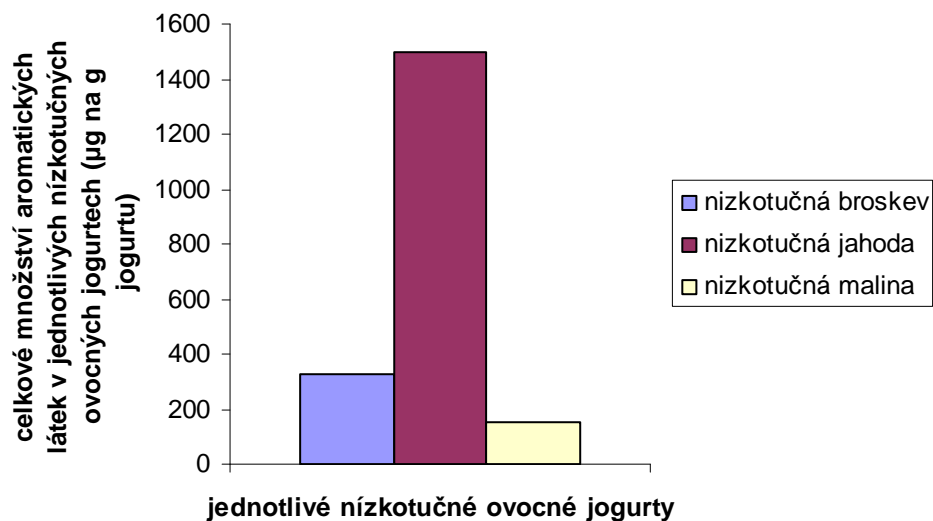
Tabulka 7: Aromatické látky vnízkotučných ovocných jogurtech v  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  jogurtu

Sloučenina	Jahoda	Malina	Broskev
acetaldehyd	15,11 ± 0,52	21,76 ± 2,07	16,55 ± 5,80
methylacetát	1,17 ± 0,01	1,25 ± 0,01	0,99 ± 0,32
ethylacetát	0,9 ± 0,02	4,98 ± 0,17	8,98 ± 0,04
ethanol	25,40 ± 0,95	64,70 ± 0,43	54,95 ± 1,23
diacetyl	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,01 ± 0,00
sek.butanol	14,11 ± 0,37	0,12 ± 0,02	-
ethylbutyrát	1386,223 ± 78,34	-	26,31 ± 0,26
pentan-2-ol	-	26,83 ± 1,75	156,65 ± 5,76
isoamylalkohol	15,31 ± 0,55	1,12 ± 0,06	-
n-amylalkoho	0,5 ± 0,02	-	0,21 ± 0,01
acetoin	13,17 ± 0,5	16,17 ± 1,04	9,42 ± 0,25
heptan-2-ol	3,59 ± 0,05	0,48 ± 0,05	-
hexan-1-ol	2,75 ± 0,07	0,87 ± 0,03	-
nonan-2-on	0,02 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,11 ± 0,00
octová	16,65 ± 1,51	14,52 ± 2,86	46,39 ± 2,44
furfural	0,14 ± 0,03	0,34 ± 0,04	-
benzaldehyd	0,13 ± 0,00	0,08 ± 0,01	3,94 ± 0,14
máselná	0,33 ± 0,00	0,48 ± 0,05	0,19 ± 0,01
fenylethylacetát	2,68 ± 0,19	1,92 ± 0,53	3,71 ± 0,2
kaprylová	0,08 ± 0,00	0,06 ± 0,02	0,14 ± 0,00

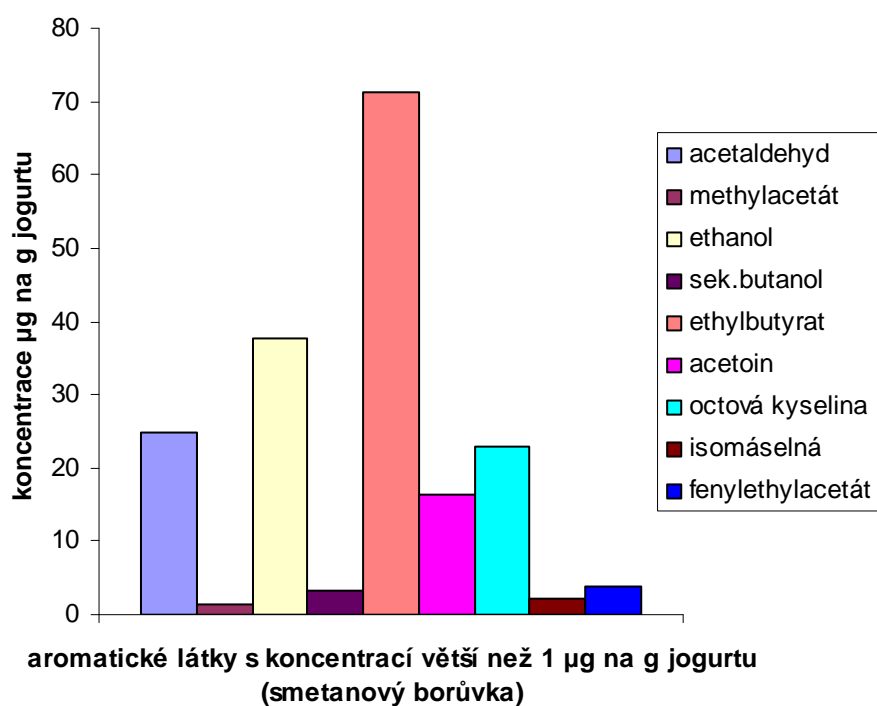
#### 4.1.3 Porovnání obsahu aromatických látek v různých typech ovocných jogurtů



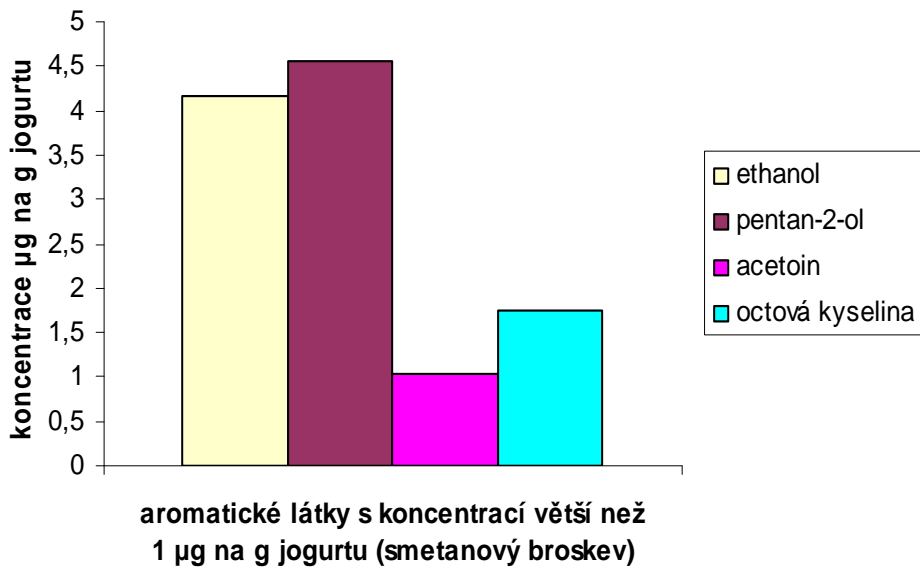
Graf č. 1: Celková koncentrace aromatických látek ve smetanových jogurtech



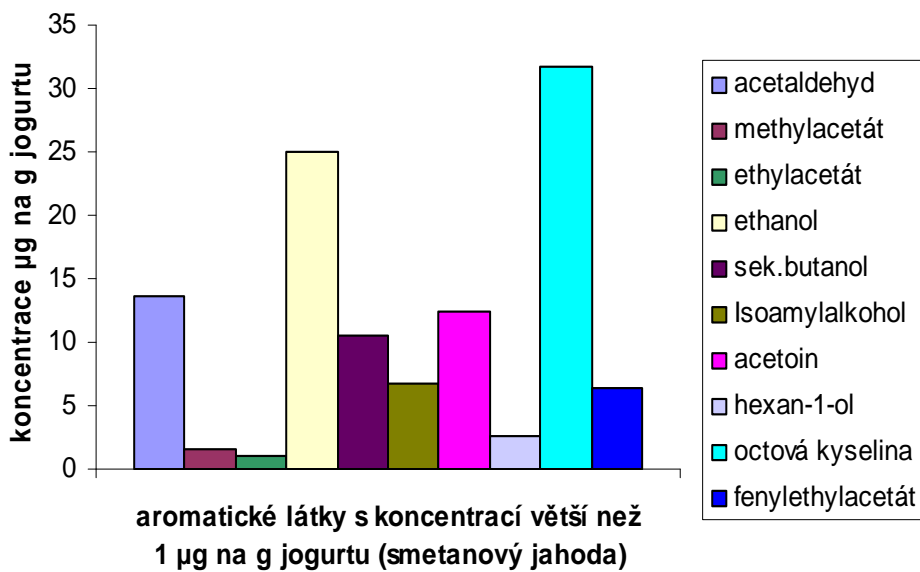
Graf č. 2: Celková koncentrace aromatických látek v nízkotučných jogurtech



Graf č. 3: Koncentrace aromatických látek ve smetanovém borůvkovém jogurtu

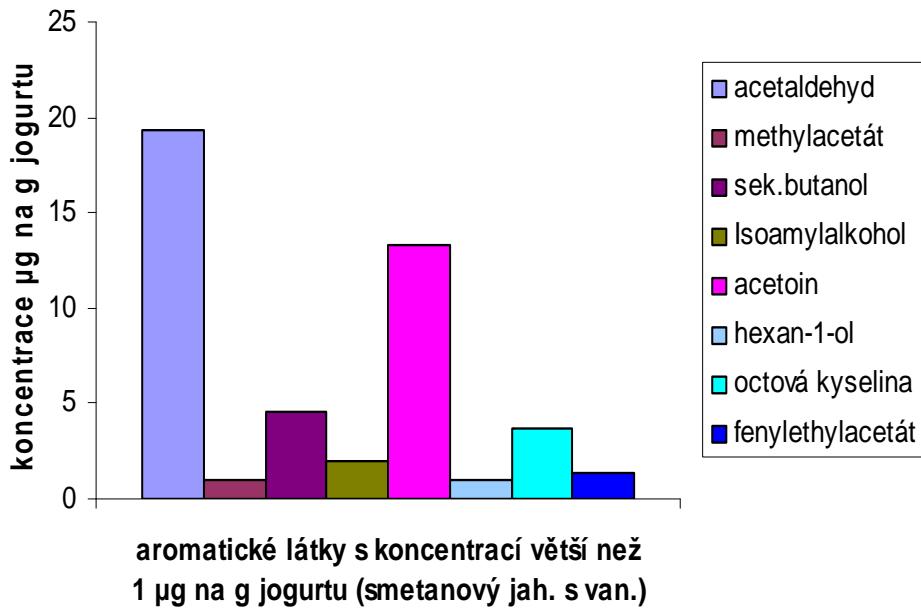


Graf č. 4: Koncentrace aromatických látek ve smetanovém broskvovém jogurtu



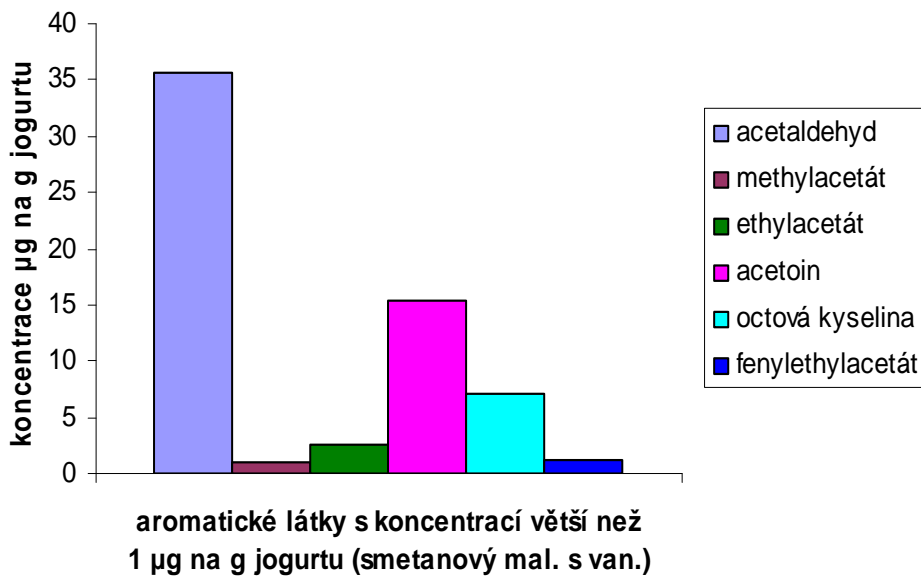
Graf č. 5: Koncentrace aromatických látek ve smetanovém jahodovém jogurtu

Ethylbutyrát měl příliš vysokou koncentraci tak v grafu není uveden.



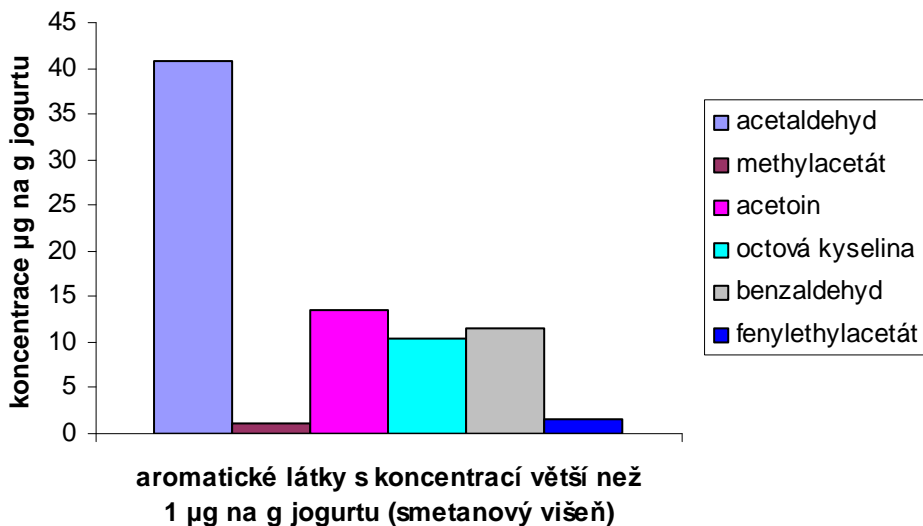
Graf č. 6: Koncentrace aromatických látek ve smetanovém jahodovém jogurtu s vanilkou

Koncentrace ethanolu a ethylbutyrátu byly příliš vysoké tak nejsou v grafu uvedeny.



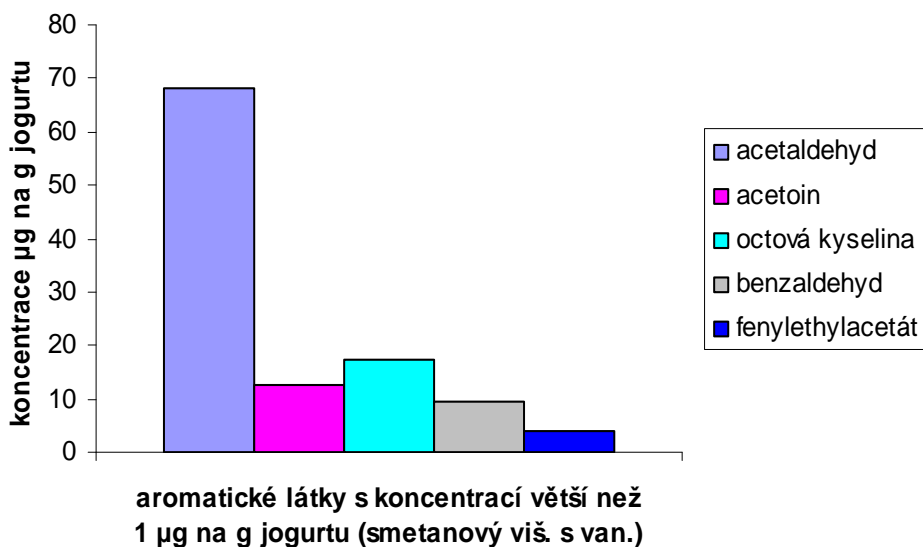
Graf č. 7: Koncentrace aromatických látek ve smetanovém jogurtu malina s vanilkou

Koncentrace ethanolu byla příliš vysoká, proto není zahrnuta v grafu.



Graf č. 8: Koncentrace aromatických látek ve smetanovém jogurtu višeň

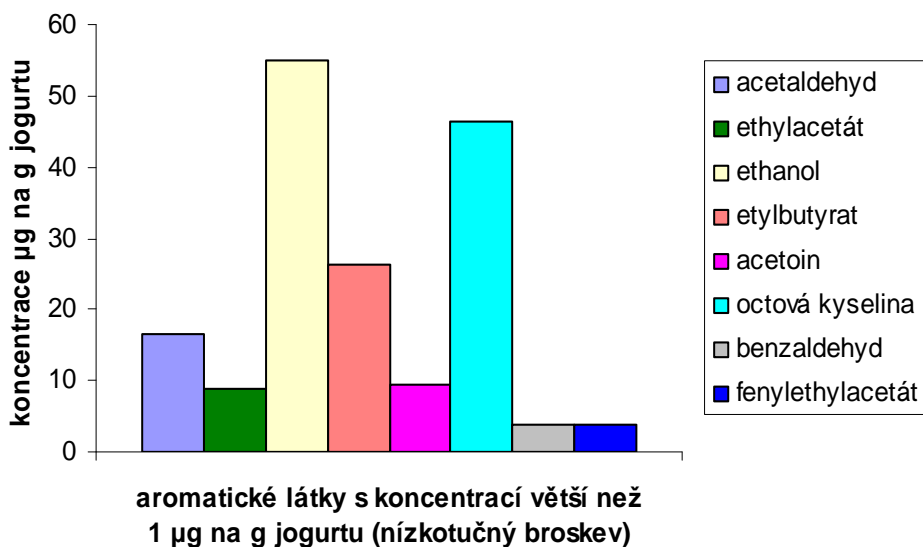
Koncentrace ethanolu byla příliš vysoká, proto není uveden v grafu.



Graf č. 9: Koncentrace aromatických látek ve smetanovém jogurtu višeň s vanilkou

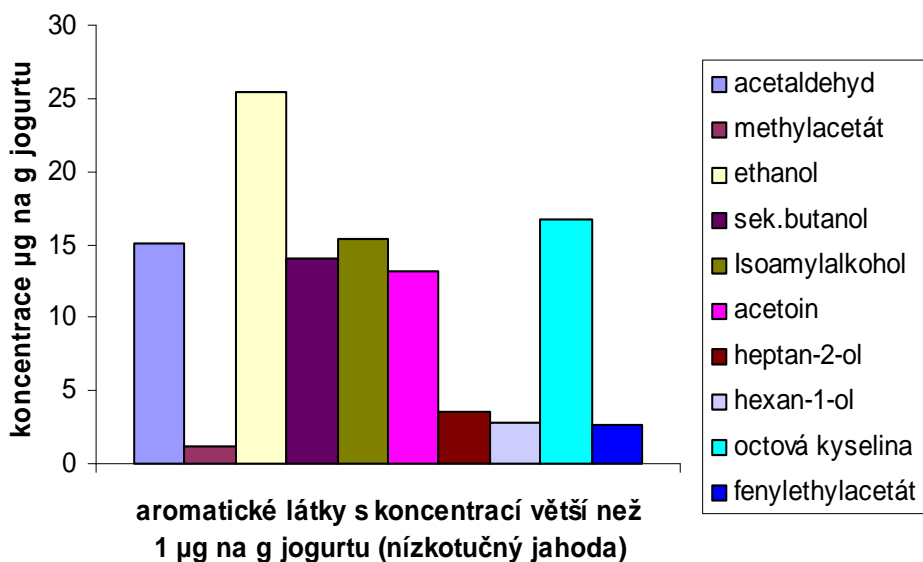
Ethanol měl příliš vysokou koncentraci proto není v grafu uveden.





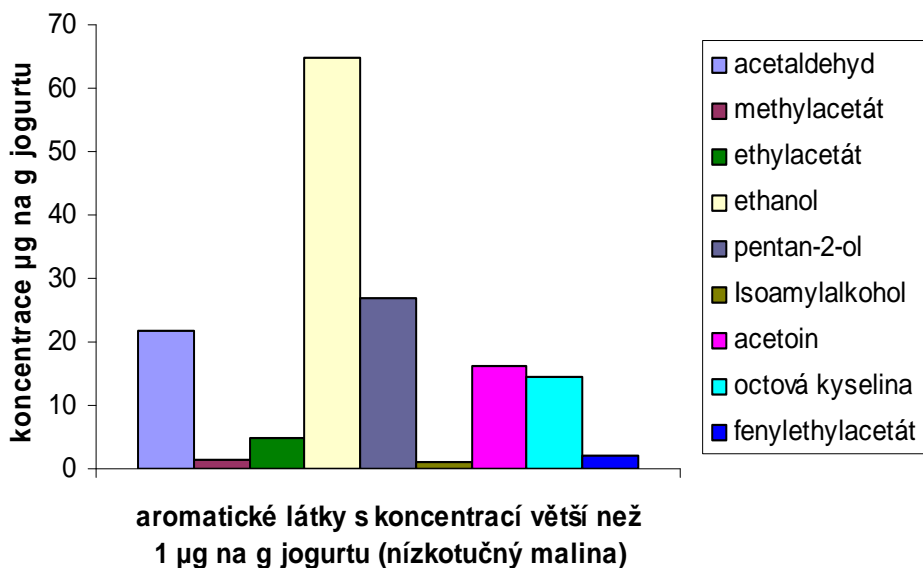
Graf č. 10: Koncentrace aromatických látek v nízkotučném jogurtu broskev

Koncentrace pentan-2-olu byla příliš vysoká, proto se v grafu nevyskytuje.



Graf č. 11: Koncentrace aromatických látek v nízkotučném jogurtu jahoda

Koncentrace ethylbutyrátu byla příliš vysoká, proto není v grafu uveden.



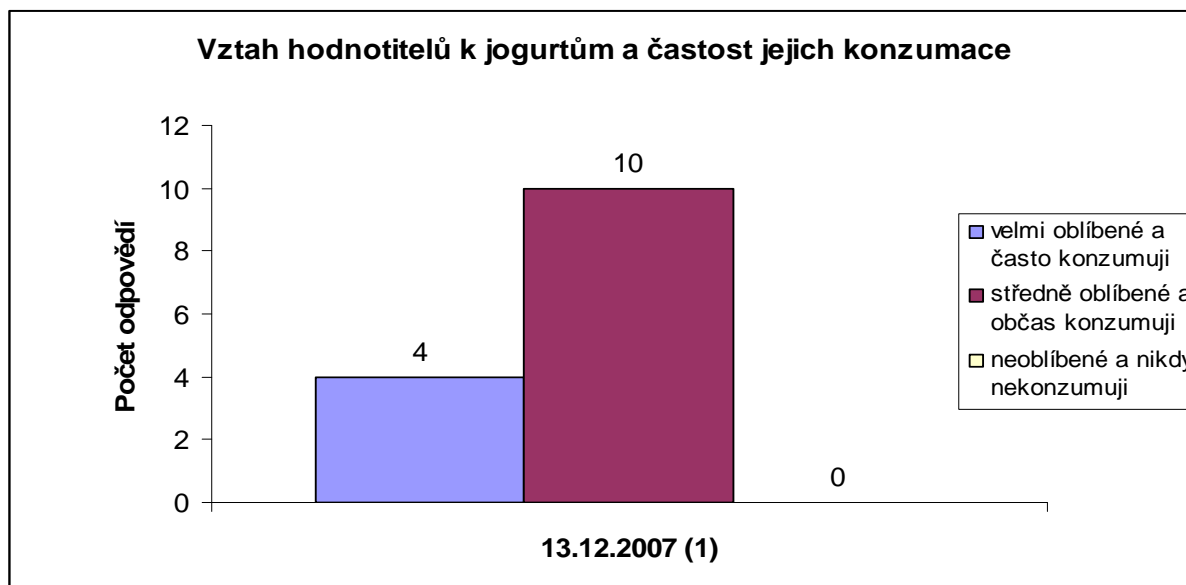
Graf č. 12: Koncentrace aromatických látek v nízkotučném jogurtu malina

Z analýzy vyplývá, že nízkotučné ani smetanové jogurty všech příchutí se celkově nijak zvlášť od sebe neliší v zastoupení aromatických látek, jejich množství se však u jednotlivých jogurtů liší. Každý vzorek byl analyzován třikrát a z aritmetického průměru těchto hodnot byla vypočtena směrodatná odchylka. V obou typech jogurtů u všech vzorků jsou zastoupeny ethanol, acetaldehyd, octová kyselina, acetoin, fenylethylacetát a methylacetát. Ve všech jogurtech jak nízkotučných, tak smetanových je zastoupen ethylacetát kromě smetanové borůvky, diacetyl kromě smetanové broskve, benzaldehyd kromě smetanové jahody s vanilkou, máselná kyselina kromě smetanové broskve a kaprylová kyselina také kromě smetanové broskve. Ethylbutyrát je ve velké míře zastoupen pouze v jahodových jogurtech a tak je zřejmě součástí jahodového aroma. Jinak nebylo zjištěno rozdílných látek patřících určitému aroma jednotlivých příchutí. Ostatní stanovené látky byly zjištěny jen u některých příchutí smetanových a nízkotučných jogurtů jako byly sekundární butanol, pentan-2-ol, isoamylalkohol, n-amylalkohol, heptan-2-ol, hexan-1-ol, nonan-2-on, furfural, heptan-2-ol, heptan-2-on a kyselina isomáselná. Nejvyšší celkový obsah aromatických látek měly jogurty s vanilkou, z ovocných příchutí to byly jogurty jahodové nízkotučné i smetanové

#### 4.2 Výsledky senzorické analýzy

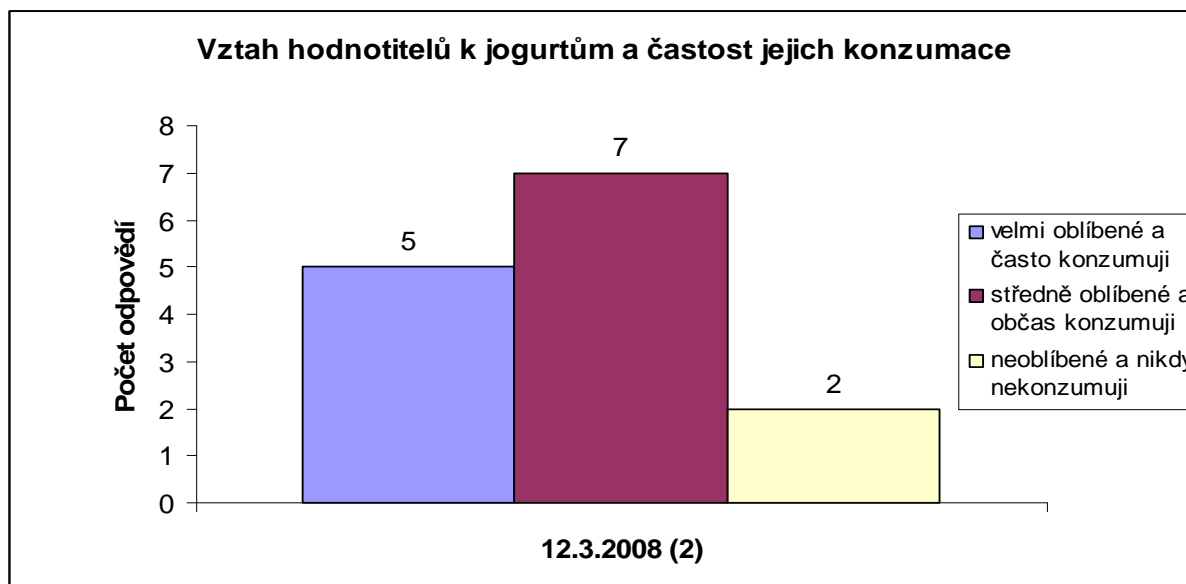
Hodnocení bylo prováděno ve třech termínech a to hodnocení **1** (13.12. 2007), hodnocení **2** (12.3. 2008) a hodnocení **3** (10.4. 2008). Při každém hodnocení bylo přítomno 14 hodnotitelů.

#### 4.2.1 Vyhodnocení častosti konzumace jogurtů u hodnotitelů a jejich vztah k nim



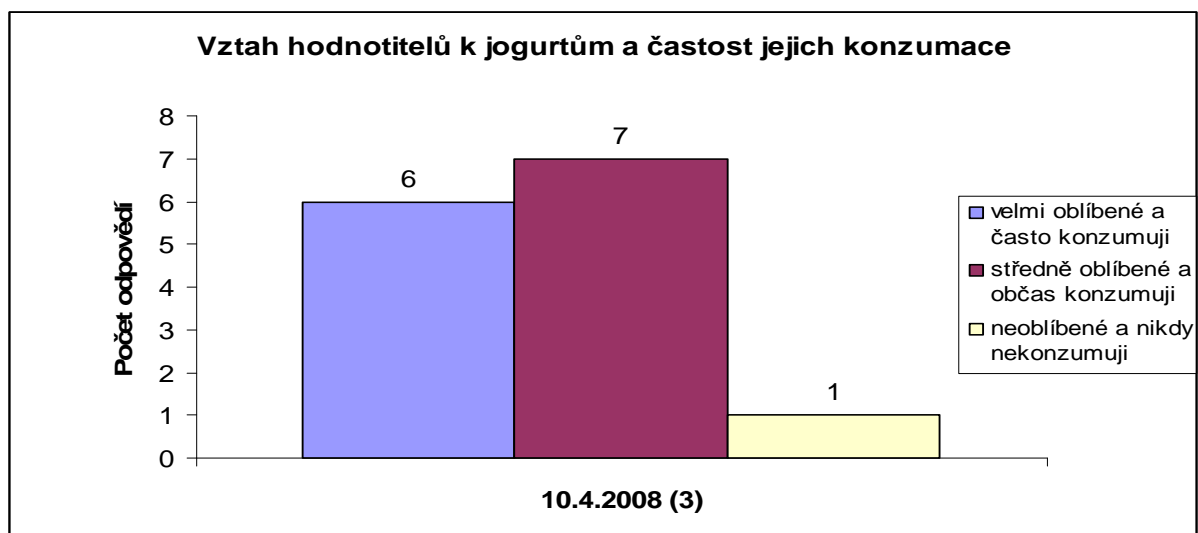
Graf č. 13: Obliba ovocných jogurtů – hodnocení č. 1

Součástí dotazníku byl také dotaz na oblibu a četnost konzumace ovocných jogurtů. Odpovědi jsou zpracovány graficky na obr. 11 – 13. Z grafu hodnocení číslo 1 vyplývá, že 4 hodnotitelé mají ovocné jogurty velmi rádi a často je konzumují, 10 z nich je má rádo a často je konzumuje a žádný z hodnotitelů neuvědl, že by je nekonzumoval a neměl rád.



Graf č. 14: Obliba ovocných jogurtů – hodnocení č. 2

Graf hodnocení číslo 2 ukazuje, že 5 hodnotitelů má ovocné jogurty velmi rádo a často je konzumují, 7 z nich je má rádo a občas je konzumují a dva z nich je nemají rádi a nekonzumují je vůbec.



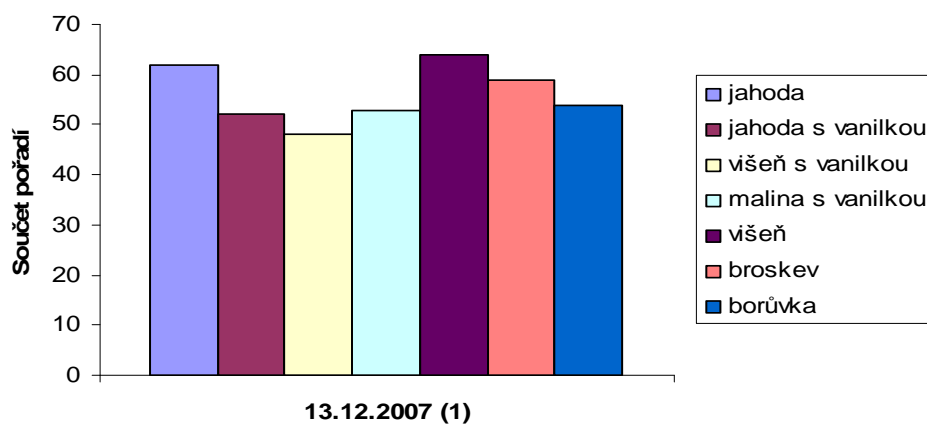
Graf č.15: Obliba ovocných jogurtů – hodnocení č. 3

Z grafu hodnocení číslo 3 vyplývá, že 6 hodnotitelů má ovocné jogurty velmi rádo a často je konzumují, 7 z nich je má rádo a často je konzumuje a 1 hodnotitel uvedl, že je nekonzumuje a nemá rád.

Během tří hodnocení v průběhu zhruba čtyř měsíců bylo vyhodnoceno, že z celkového počtu 42 hodnotitelů jich 24 má ovocné jogurty rádo a občas je konzumuje, 15 je má velmi oblíbené a často je konzumuje a pouze 3 hodnotitelé je nemají rádi a vůbec je nekonzumují. Jogurty jsou nepochybně u českých spotřebitelů velmi oblíbené a tvoří důležitou součást našeho jídelníčku. Je tedy vhodné zabývat se jejich senzoryčnou kvalitou s cílem rozšířit a zkvalitnit nabídku na našem trhu.

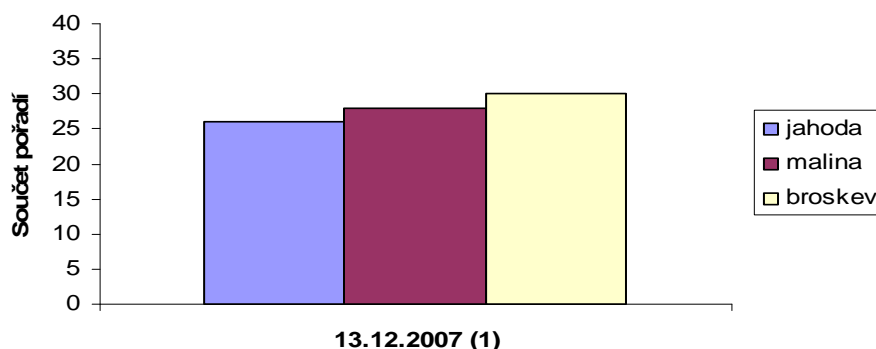
#### 4.2.3 Vyhodnocení pořadové zkoušky

Hodnotitelům byly podány série sedmi vzorků smetanových a následně tří nízkotučných jogurtů k provedení pořadové zkoušky tzn. seřazení od nejlepšího po nejhorší z hlediska celkové chutnosti.



Graf č. 16 : Součet pořadí smetanových jogurtů při hodnocení č. 1

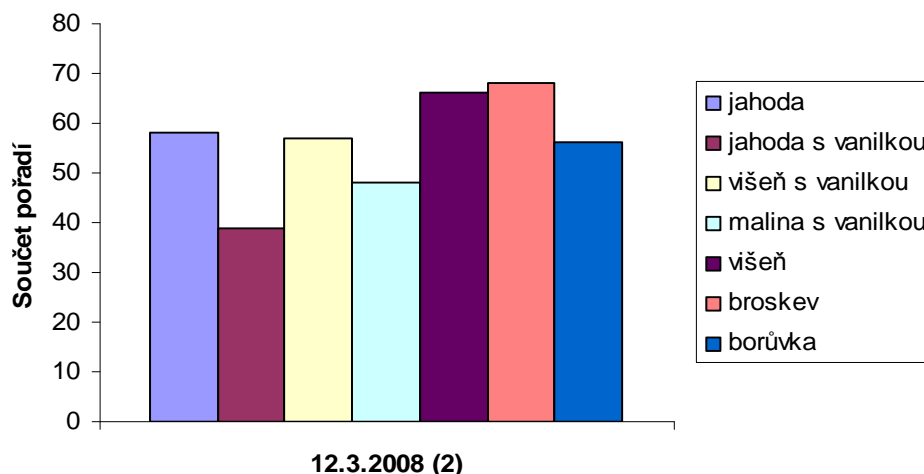
V tomto hodnocení vychází jako relativně nejchutnější smetanový jogurt višěň s vanilkou, avšak statisticky nebyl na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  shledán statisticky významný rozdíl, neboť  $FR = 3,09$  není větší (rovno) než kritická hodnota  $Q_{1-\alpha}(R,n) 12,34$ . Co se týče porovnání dvojic jogurtů, tak na dané hladině také nebyl shledán statisticky významný rozdíl.



Graf č. 17 : Součet pořadí nízkotučných jogurtů při hodnocení č. 1

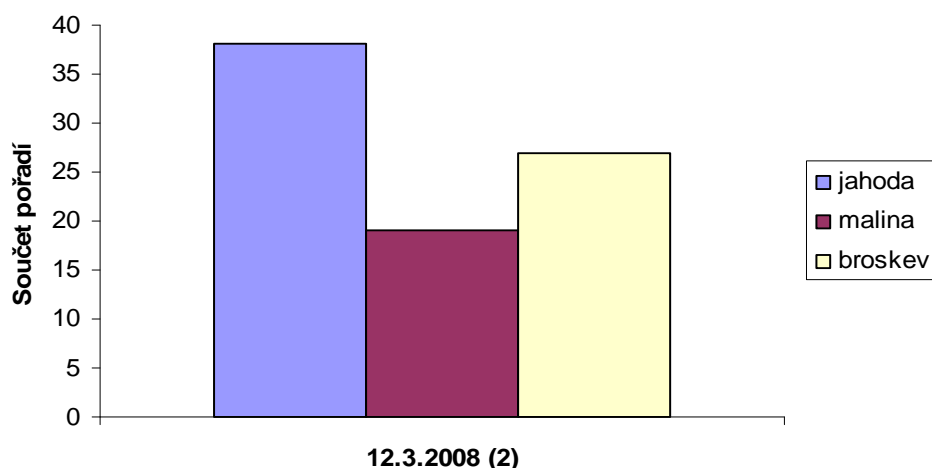
U tohoto hodnocení vychází relativně nejlépe nízkotučný jahodový jogurt, ale statisticky není mezi jogurty na hladině  $\alpha = 0,05$  žádný rozdíl.  $FR = 0,57$  a to není větší (rovno) kritické hodnotě 6,14. Při porovnání dvojic není mezi jogurty také žádný statistický rozdíl.

Při sensorickém hodnocení č. 1 nebyl u pořadové zkoušky na dané hladině významnosti zjištěn statisticky významný rozdíl jak u smetanových jogurtů tak u nízkotučných jogurtů. Při porovnání jednotlivých dvojic vzorků nebyl taktéž zjištěn žádný rozdíl.



Graf č. 18: Součet pořadí smetanových jogurtů při hodnocení č. 2

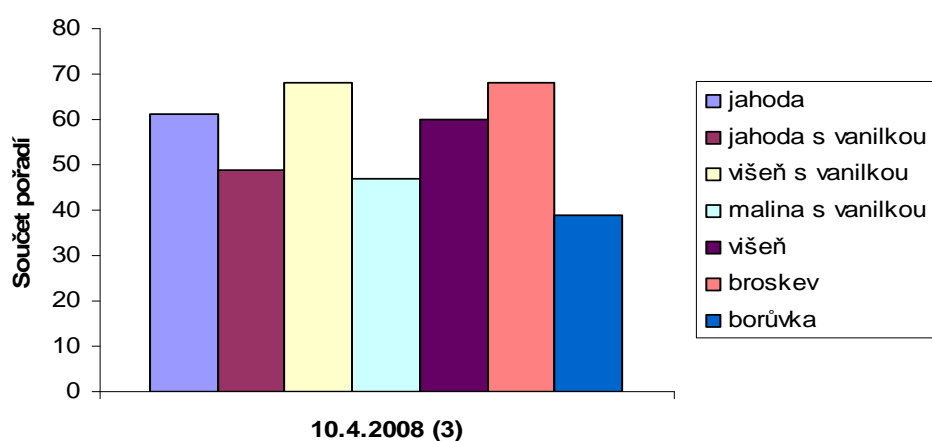
Při druhém hodnocení vychází relativně nejlépe smetanový jogurt jahoda s vanilkou, ale na hladině  $\alpha = 0,05$  nebyl shledán statisticky významný rozdíl mezi jogurty.  $FR = 9,21$  a kritická hodnota je větší a to 12,34. Porovnání dvojic jogurtů dopadlo také negativně, nebyl mezi nimi shledán statistický rozdíl.



Graf č. 19: Součet pořadí nízkotučných jogurtů při hodnocení č. 2

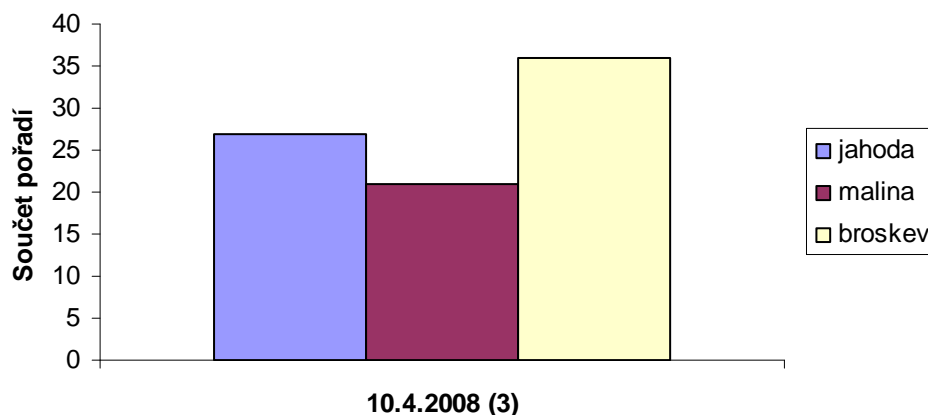
U tohoto hodnocení vychází relativně nejlépe nízkotučný malinový jogurt. Mezi vzorky je na hladině  $\alpha = 0,05$  statisticky významný rozdíl.  $FR = 13$  což je větší než kritická hodnota 6,14. Při porovnání dvojic na stejné hladině byl nalezen statisticky významný rozdíl mezi vzorky jahoda a malina. Malinový jogurt je statisticky chutnější než jahoda.

Při použití pořadové zkoušky u hodnocení č.2 nebyl u smetanových jogurtů ani mezi dvojicemi vzorků shledán rozdíl. Všechny jsou z hlediska preferencí na stejné úrovni. U nízkotučných jogurtů rozdíl nalezen byl a to jak mezi vzorky jako celkem tak mezi dvojicí jahoda – malina, kdy malinový byl na dané hladině statisticky chutnější než jahoda.



Graf č. 20: Součet pořadí smetanových jogurtů při hodnocení č. 3

Z hodnocení smetanových jogurtů číslo 3 vyplývá, že relativně nejlepším jogurtem je příchuť borůvka. Na hladině  $\alpha = 0,05$  nebyl shledán statisticky významný rozdíl mezi jogurty.  $FR = 11,45$  není větší (rovno) kritické hodnotě 12,34. V testování dvojic nebyl na dané hladině shledán statisticky významný rozdíl.



Graf č. 21: Součet pořadí nízkotučných jogurtů při hodnocení č. 3

Z hodnocení vyplývá, že relativně nejlepším nízkotučným jogurtem je příchut' malina a na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  je statistický rozdíl, neboť  $FR = 8,14$  je větší než kritická hodnota  $6,14$ . Porovnání dvojic ukázalo, že statisticky lepší ze dvojice malina broskev je nízkotučný jogurt malina.

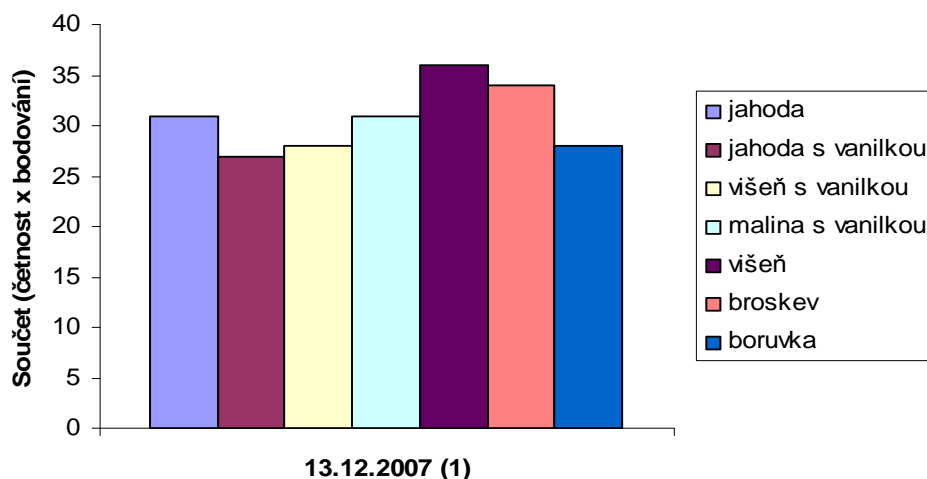
Při hodnocení pořadové zkoušky č. 3 nebyl opět u ovocných smetanových jogurtů shledán žádný statisticky významný rozdíl. U nízkotučných jogurtů na dané hladině rozdíl zjištěn byl mezi vzorky jako celkem. U dvojic nízkotučných jogurtů byl nalezen rozdíl mezi příchutěmi broskev a malina. Malinový jogurt byl statisticky lepší než broskvový.

Výsledky pořadového testu lze shrnout takto: u smetanových jogurtů nebyl žádný ze vzorků shledán významně chutnější, než ostatní. Všechny příchutě jsou tedy stejně chutné, výběr záleží pouze na chuti spotřebitele.

U nízkotučných jogurtů byl dvakrát jako významně nejchutnější vyhodnocen jogurt malinový, nicméně i zde se pravděpodobně výrazně uplatňují preference konzumentů.

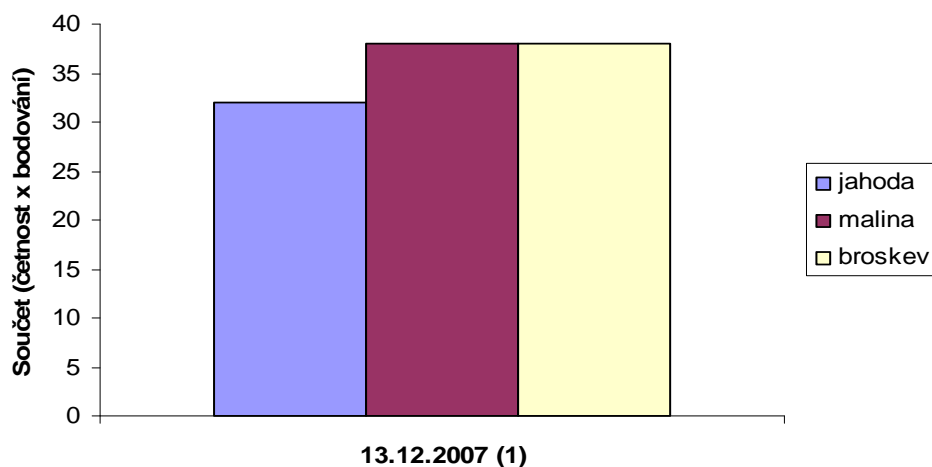
#### 4.2.4 Vyhodnocení stupnicových metod

Hodnotitelům byly opět předloženy vzorky sedmi smetanových a tří nízkotučných jogurtů a byli požádáni, aby obodovali chuť a vůni jogurtů (jako jeden sensorický znak) pomocí pětibodové stupnice (1 – vynikající, 2 – velmi dobrý, 3 – dobrý, uspokojivý, 4 – přijatelný, 5 – nepřijatelný).



Graf č. 22: Součet četností násobených počtem bodů u smetanových jogurtů hodnocení č.1

Hodnocení č. 1 ukazuje, že z pohledu bodování chuti a vůně je relativně nejlepší jahodový jogurt s vanilkou. Na hladině  $\alpha = 0,05$  však statistický rozdíl není, neboť testové kritérium  $Q_{KW}$  je 4,02 a není větší (rovno) než kvantil Pearsonova rozdělení ( $\chi^2_{1-\alpha}(R-1)$ ) 12,59. V porovnání dvojic nebyl shledán na stejné hladině statistický rozdíl.

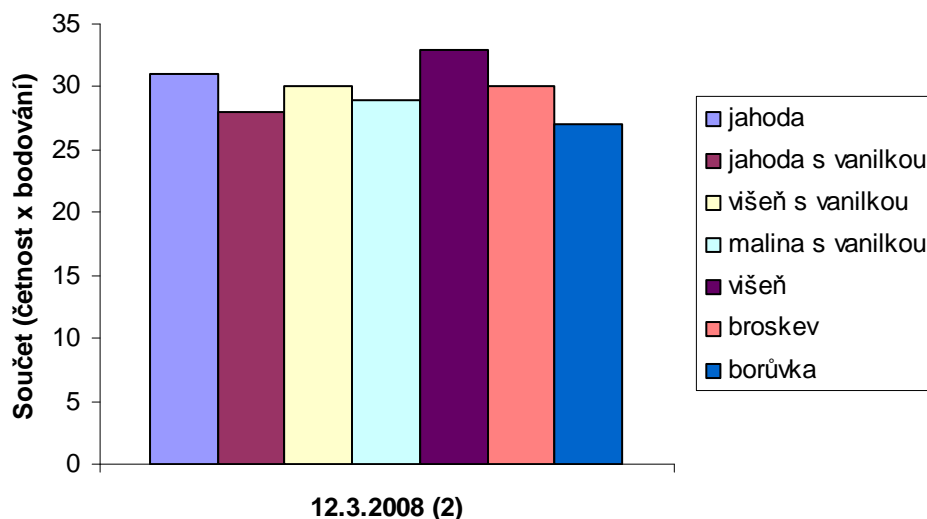


Graf č. 23: Součet četností násobených počtem bodů u nízkotučných jogurtů hodnocení č.1

Tento graf ukazuje jako relativně nejlepší jogurt z hlediska chuti a vůně nízkotučný jogurt jahodový. Na hladině  $\alpha = 0,05$  nebyl shledán statisticky významný rozdíl. Testové kritérium je 0,84 a není větší rovno než příslušný kvantil 5,99. Porovnáním dvojic nebyl na dané hladině zjištěn statistický rozdíl.

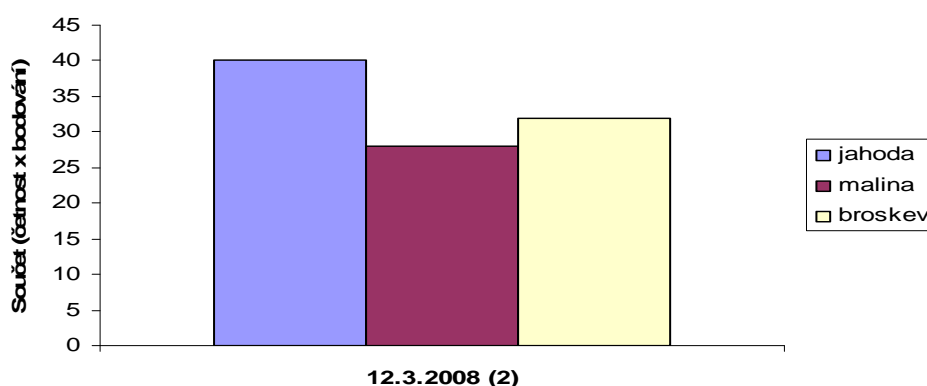
Při hodnocení č.1 nebyl při použití stupnicové metody nalezen na hladině  $\alpha = 0,05$  statisticky významný rozdíl jak mezi smetanovými jogurty a příslušnými dvojicemi vzorků tak také mezi nízkotučnými jogurty a příslušnými dvojicemi vzorků. Jednotlivé jogurty jsou z hlediska chuti a vůně na tom statisticky stejně a žádný nevyniká.





Graf č. 24: Součet četností násobených počtem bodů u smetanových jogurtů hodnocení č. 2

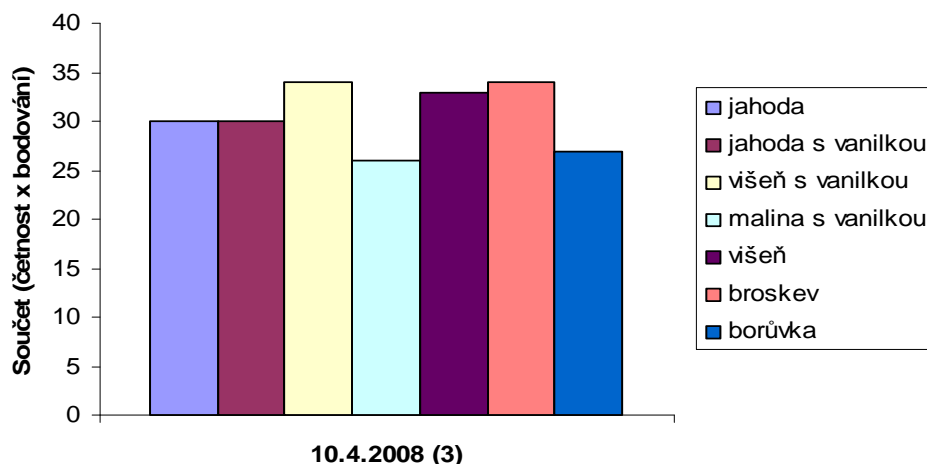
Hodnocení č. 2 ukazuje, že nejlepším smetanovým jogurtem z daného hlediska je borůvkový jogurt. Na hladině  $\alpha = 0,05$  však nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi jogurty. Testové kritérium je totiž 1,76 a je menší než příslušný kvantil 12,59. Mezi dvojicemi nebyl na dané hladině nalezen žádný rozdíl.



Graf č. 25: Součet četností násobených počtem bodů u nízkotučných jogurtů hodnocení č. 2

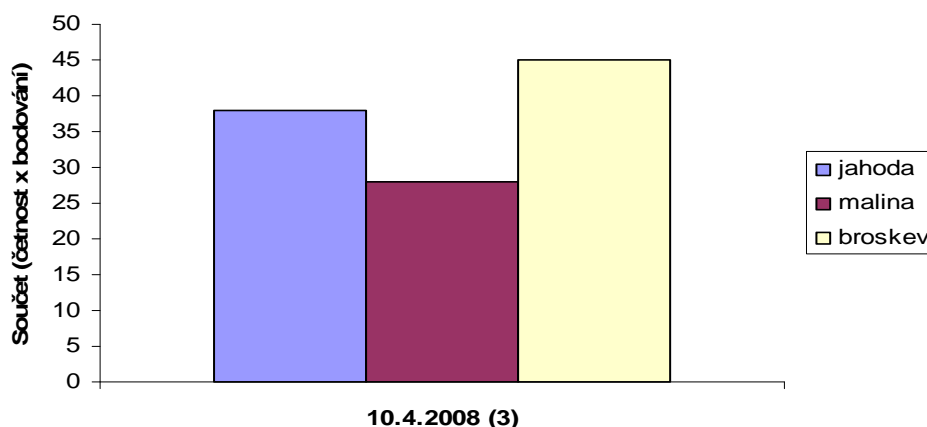
Z hodnocení č. 2 vyplývá, že relativně nejlepší jogurt z hlediska chuti a vůně je malinový nízkotučný. Na hladině  $\alpha = 0,05$  nebyl nalezen statisticky významný rozdíl mezi jogurty. Testové kritérium je 5,16 a příslušný kvantil 5,99. Mezi dvojicemi nebyl statisticky významný rozdíl.

Při vyhodnocení stupnicové metody u hodnocení č. 2 nebyl na dané hladině významnosti sledován mezi smetanovými a nízkotučnými jogurty žádný statisticky významný rozdíl a platilo to i o dvojicích jednotlivých vzorků. Vzorky jsou tedy z hlediska chutě a vůně statisticky na stejné úrovni.



Graf č. 26: Součet četností násobených počtem bodů u smetanových jogurtů hodnocení č. 3

Z měření č. 3 vyplývá, že relativně nejlepší jogurt je malina s vanilkou. Statisticky však mezi jogurty na hladině  $\alpha = 0,05$  rozdíl není, neboť testovací kritérium je 4,61 a není větší (rovnou) než příslušný kvantil 12,59. Mezi dvojicemi také nebyl statistický rozdíl.



Graf č. 27: Součet četností násobených počtem bodů u nízkotučných jogurtů hodnocení č. 3

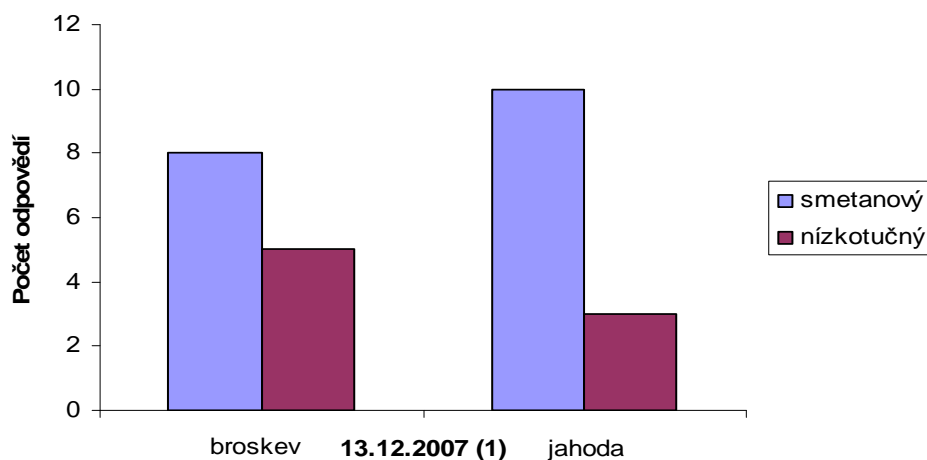
Z hodnocení č. 3 vyplývá, že nejlepším jogurtem z hlediska chuti a vůně je příchuť malina. Statisticky je mezi jogurty na hladině  $\alpha = 0,05$  rozdíl. Testovací kritérium je 6,26 a je větší než příslušný kvantil 5,99. Mezi dvojicemi je na dané hladině statistický rozdíl mezi malinou a broskví. Malina je oproti broskvi z hlediska chuti a vůně lépe hodnocena.

Při vyhodnocení stupnicové metody u hodnocení č. 3 nebyl z hlediska bodování chuti a vůně na dané hladině shledán rozdíl. U nízkotučných jogurtů rozdíl nalezen byl a to jak mezi vzorky jako celkem tak mezi dvojicí broskev a malina. Malinový jogurt je z hlediska bodování chuti a vůně statisticky lepší než broskvový.

Výsledek stupnicové metody je obdobný, jako u předchozího pořadového testu, obecně lze tvrdit, že žádný z ovocných jogurtů nemá významně lepší chuť a vůni.

#### 4.2.4 Vyhodnocení párové (preferenční) zkoušky

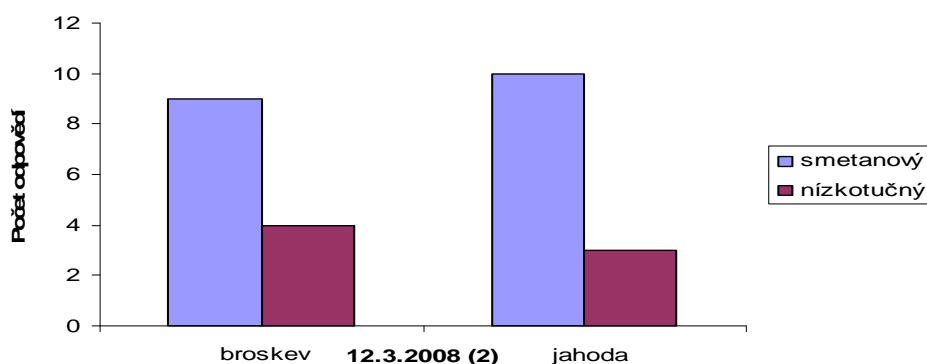
Hodnotitelům byly předloženy dvojice jogurtů, které se vyrábějí jak ve smetanové tak v nízkotučné verzi a ti měli určit, kterému dávají přednost.



Graf č. 28: Počet odpovědí ve prospěch různě tučných jogurtů

Graf ukazuje, že oba smetanové jogurty jsou relativně chuťově preferovanější. Pouze jahoda je však na hladině  $\alpha = 0,05$  statisticky preferovanější, neboť  $F = 2,5$  a je větší než Fisherův kvantil 2,4471. Broskev na dané hladině není statisticky chuťově preferovanější neboť  $F = 1,3333$  není větší (rovno) příslušnému kvantilu 2,4247.

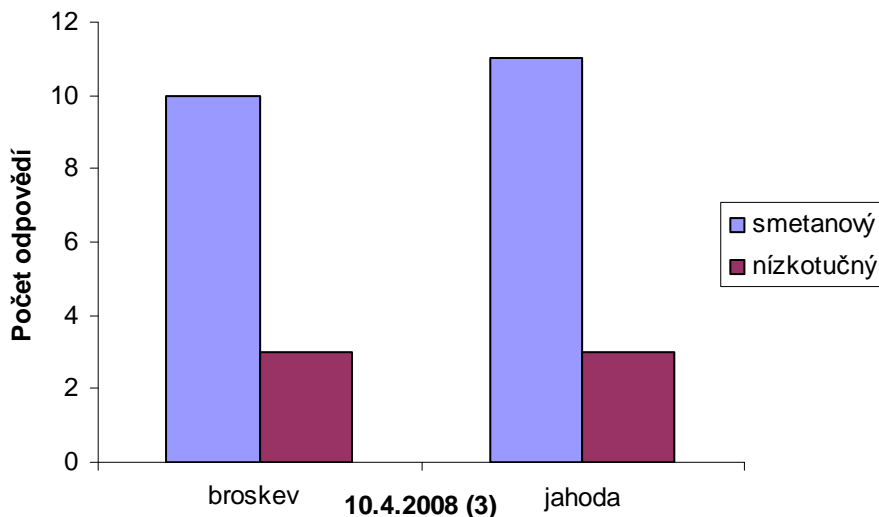
Jahodový smetanový jogurt byl statisticky preferovanější než nízkotučný jogurt stejné příchutě. Broskvový smetanový jogurt, ač měl více odpovědí, statisticky lepší nebyl. Celkově dávali hodnotitelé přednost smetanovým jogurtům s poměrně větším obsahem tuku než nízkotučné jogurty.



Graf č. 29: Počet odpovědí ve prospěch různě tučných jogurtů

Graf ukazuje, že oba smetanové jogurty jsou relativně chuťově preferovanější. Jahodový smetanový jogurt je však na hladině  $\alpha = 0,05$  statisticky preferovanější, neboť  $F = 2,75$  a je větší než Fisherův kvantil 2,3965. Broskev je na dané hladině taktéž statisticky chuťově preferovanější, neboť její  $F = 2,5$  je větší příslušnému kvantilu 2,4471.

Obě příchutě smetanových jogurtů byly statisticky preferovanější než jejich nízkotučné protějšky. I v tomto hodnocení dávali hodnotitelé přednost tučnějším jogurtům před nízkotučnými.



Graf č. 30: Počet odpovědí ve prospěch různě tučných jogurtů

Graf ukazuje, že oba smetanové jogurty jsou relativně chuťově preferovanější. Jahoda je však na hladině  $\alpha = 0,05$  statisticky preferovanější, neboť  $F = 5,5$  a je větší než Fisherův kvantil 2,8167. Broskvový smetanový jogurt je na dané hladině taktéž statisticky chuťově preferovanější, neboť jeho  $F = 2,5$  je větší příslušnému kvantilu 2,4471.

Obě příchutě smetanových jogurtů byly statisticky preferovanější než jejich nízkotučné protějšky. I v tomto hodnocení dávali hodnotitelé přednost tučnějším jogurtům před nízkotučnými. Ty byly preferovány celkově při všech třech hodnoceních před nízkotučnými jogurty.

Výsledky preferenčního testu potvrzují předpokládaný fakt, že konzumenti dávají jednoznačně přednost smetanovým jogurtům před nízkotučnými. Vyšší obsah tuku přispívá k jemnější a lahodnější chuti jogurtu, na druhé straně jogurty s nižším obsahem tuku nebo bez tuku jsou zdravější a jejich konzumaci lze z tohoto hlediska doporučit.

## 5. ZÁVĚR

Tato práce se týkala především hodnocení organoleptických vlastností smetanových a nízkotučných jogurtů, produkovaných mlékárnou Valašské Meziříčí s.r.o.

Hodnocení probíhalo ve třech cyklech a to 13.12. 2007, 12.3. 2008 a 10.4. 2008, mezi smetanovými jogurty byly zastoupeny tyto příchutě: jahoda, jahoda s vanilkou, višeň, višeň s vanilkou, malina s vanilkou, broskev, borůvka a mezi nízkotučnými tyto příchutě: jahoda, malina, broskev.

Pro hodnocení obou řad ovocných jogurtů byli jako hodnotitelé použiti studenti především 5. ročníku chemické fakulty a zaměstnanci školy, kteří byli proškoleni ze základů sensorické analýzy. Jejich hodnocení lze považovat za adekvátní hodnocení běžných spotřebitelů o což v této sensorické analýze šlo. Hodnocení provádělo vždy 14 hodnotitelů a k dispozici byla zatím ještě neakreditovaná sensorická laboratoř s veškerým potřebným vybavením a postačující pro potřeby tohoto sensorického hodnocení.

Hodnocení bylo provedeno s použitím metod sensorické analýzy a to pořadové zkoušky, kdy měli hodnotitelé seřadit jak smetanové (7 vzorků) tak nízkotučné (3 vzorky) jogurty sestupně od nejhoršího po nejlepší z hlediska chutnosti. Vyhodnocení pořadové zkoušky probíhalo pomocí Friedmanova testu s danou hladinou významnosti. Na dané hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  nebyl mezi vzorky smetanových ovocných jogurtů shledán statisticky významný rozdíl. U nízkotučných jogurtů byl rozdíl shledán mezi vzorky jakožto celkem u hodnocení č. 2 a č. 3, dále pak bylo statisticky potvrzeno, že u hodnocení č. 2 je chutnější nízkotučný malinový jogurt než jahodový a u hodnocení č. 3 je chutnější nízkotučný malinový jogurt než jogurt broskvový. Celkově nebyl žádný ze vzorků shledán významně chutnější, než ostatní. Výběr záleží pouze na chuti spotřebitele.

Další sensorickou metodou použitou pro hodnocení byla stupnicová metoda, kdy měli hodnotitelé bodově od 1 do 5 ohodnotit chuť a vůni (jako jeden sensorický znak) smetanových a nízkotučných jogurtů. Vyhodnocení této zkoušky probíhalo pomocí Kruskal – Wallisova testu na dané hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . Na této hladině pravděpodobnosti nebyl shledán žádný rozdíl mezi vzorky smetanových jogurtů různých příchutí, mezi vzorky nízkotučných ovocných jogurtů byl rozdíl jen mezi vzorky jakožto celkem shledán u hodnocení č. 3 a dále pak bylo potvrzeno, že z hlediska chuti a vůně je statisticky na dané hladině významnosti malinový jogurt lepší než jogurt broskvový. Opět lze tvrdit, že žádný z ovocných jogurtů nemá významně lepší chuť a vůni.

Poslední metodou pro popsání organoleptických vlastností ovocných jogurtů byla párová (preferenční) zkouška, kdy se hodnotitelé rozhodovali mezi dvojicí stejných příchutí smetanových a nízkotučných jogurtů. Pro vyhodnocení byl použit jednostranný test, který určil i směr rozdílu. U hodnocení č. 1 byl z dvojic broskev a jahoda statisticky na dané hladině preferovanější pouze smetanový jahodový jogurt. U hodnocení č.2 byly statisticky preferovanější oba smetanové jogurty a to jak jahoda tak i broskev. A nakonec u hodnocení č. 3 byly taktéž statisticky preferovanější oba smetanové jogurty. Konzumenti tedy dávají přednost smetanovým jogurtům před nízkotučnými.

Celkově vzato nebyl mezi smetanovými jogurty nalezen rozdíl ani v jedné oblasti hodnocení. U nízkotučných vyšel nejlépe hodnocen malinový jogurt, zatímco nejhůře dopadl jogurt broskvový.

Identifikace a kvantifikace aromatických látek ve smetanových a nízkotučných ovocných jogurtech ovlivňujících především chuť a vůni (chutnost) těchto jogurtů byla provedena

s využitím separační analytické metody – plynové chromatografie s extrakcí vzorku technikou SPME (solid phase microextraction) – mikroextrakce na tuhé fázi.

Mezi nejdůležitější určené aromatické látky vyskytující se jak ve smetanových tak nízkotučných ovocných jogurtech patří v sestupném pořadí podle množství tyto látky: z alkoholů to je ethanol, z aldehydů je to acetaldehyd, z organických kyselin je to octová kyselina, acetoin je hydroxyketon, fenylethylacetát a methylacetát jsou estery organické kyseliny octové. Mezi další látky, které byly až na jeden jogurt obsaženy ve všech jogurtech patří ethylacetát, který se nevyskytuje jen ve smetanovém borůvkovém jogurtu, diacetyl, který nebyl analýzou zjištěn v broskvovém smetanovém jogurtu dále pak benzaldehyd nebyl zjištěn jen u smetanové jahody s vanilkou, máselná kyselina nebyla určena jen u smetanové broskve a nakonec kaprylová kyselina nebyla určena také jen u smetanové broskve. Ethylbutyrát se vyskytoval ve větším množství pouze u jahodových smetanových a nízkotučných jogurtů a je tedy zřejmě součástí jahodového aroma. Jinak nebylo zjištěno rozdílných látek patřících určitému aroma jednotlivých příchutí. Další látky zjištěné u několika příchutí smetanových a nízkotučných jogurtů s menší četností výskytu byly sekundární butanol, pentan-2-ol, isoamylalkohol, n-amylalkohol, heptan-2-ol, hexan-1-ol, nona-2-on, furfural, heptan-2-ol, heptan-2-on a kyselina isomáselná. Mezi smetanovými a nízkotučnými jogurty nebyl shledán rozdíl v kvalitativním zastoupení nejdůležitějších aromatických látek, které mají zásadní význam pro chuť a vůni (flavour – chutnost) těchto jogurtů. Nejvyšší celkový obsah aromatických látek měly jogurty s vanilkou kombinované s různými příchutěmi, z ovocných příchutí to byly jogurty jahodové nízkotučné i smetanové.

## 6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. Teplý M., a kol.: *Mléko a jeho produkce k průmyslovému zpracování*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1979.
2. Bylund G.: *Dairy processing handbook*. Second, revised edition. Lund: Tetra Pak Processing Systems AB, 2003. ISBN 91-631-3427-6
3. Górnier F., Valík L.: *Aplikovaná mikrobiologie poživatin*. Bratislava: Malé centrum. 9. publikace, 2004. ISBN 80-967064-9-7
4. Hylmar. B.: *Výroba kysaných mléčných výrobků*. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1986.
5. Černá M., a kol.: *Nutriční hodnota mléka a mléčných výrobků*. Praha: Středisko technických informací potravinářského průmyslu, 1979.
6. Adolfsson O., Meydani S.N., Russell R.M.: Yoghurt and gut function. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2004, vol. 80, pp. 245-256.
7. Malina, J. *Vliv technologie výroby na vznik aromatických látek v ovocných jogurtech*. Bakalářská práce. Brno: VUT, Fakulta chemická, 2007.
8. Yo-Flex EN Technical Brochure. Hørsholm (DEN): Chr. Hansen, 2006.
9. Soubor HACCP (systém kritických bodů v technologii výroby). Valašské Meziříčí (CZ): Mlékárna Valašské Meziříčí, 2004.
10. Wang S.: Freedom from fat. *The European business journal for dairy processing*. 2000, vol. 65, no. 10.
11. Gonzáles-Martínez C.: Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. *Trends in Food Science and Technology*, 2002, vol. 13, pp. 334-340.
12. Loupancová, B.: *Vývoj těkavých aromatických látek v průběhu zrání sýrů s modrou plísní v těstě*. Diplomová práce. Brno: VUT, Fakulta chemická, 2004.
13. Hernandez E., Estepa R.G., Rivas I.R.: Analysis of diacetyl in yoghurt by two new spectrophotometric and fluorimetric methods. *Food chemistry*, 1995, vol. 53, pp. 315-319.
14. Gardini F., Lanciotti R., Guerzoni M.E., Torriani S.: Evaluation of aroma production and survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* in fermented milks. *International Dairy Journal*, 1999, vol. 9, pp. 125-134.
15. Mašek J., Maxa V., Teplý M.: *Kontrola jakosti mlékařských kultur a zákysů*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1960.
16. Hylmar B., Havlová J., Erban V.: *Koncentráty čistých mlékařských kultur*. Praha: Středisko technických informací potravinářského průmyslu, 1979.
17. Teplý M.: *Čisté mlékařské kultury*. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1984.
18. Doležálek J.: *Mikrobiologie mlékárenského a tukařského průmyslu*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1962.
19. Šilhánková L.: *Mikrobiologie pro potravináře*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1983.
20. Elli M.: Survival of yogurt bacteria in human gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, vol. 72, no. 7, p. 5113-5117.

21. Forman L., a kol.: *Mlékárenské technologie 2*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 1996. ISBN 80-7080-250-2
22. Pokorný J., Valentová H., Pudil F.: *Senzorická analýza potravin (Laboratorní cvičení)*. Praha: vydavatelství VŠCHT, 1997. ISBN 80-7080-278-2
23. Ingr I., Pokorný J., Valentová H.: *Senzorická analýza potravin*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 1997.
24. Neumann R., Molnár P., Arnold S.: *Senzorické skúmanie potravin*. Bratislava: Alfa vydavateľ'stvo technickej a ekonomickej literatúry, 1990. ISBN 80-05-00612-8
25. Hrabě J., Kříž O., Buňka F.: *Statistické metody v senzorické analýze potravin*. Vysoká vojenská škola pozemního vojska ve Vyškově, 2001. ISBN 80-7231-086-0
26. Pokorný J.: *Metody senzorické analýzy potravin a stanovení senzorické jakosti*. Praha: Ústav zemědělské a potravinářské inspekce, 1997. ISBN 80-85120-60-7
27. Lachová H.: *Vliv různých přísad na senzorickou jakost ochucených tvarohů*. Diplomová práce. Brno: VUT, Fakulta Chemická, 2004.
28. Churáček J.: *Analytická separace látek*. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1990. ISBN 80-03-00569-8
29. Pawliszyn J.: *Solid phase Microextraction: theory and practice*. New York: Willey-VCH, 1997. ISBN 0-471-19034-9
30. Friedrich E.J., Acree E.T.: Gas chromatography Olfactometry (GC/O) of dairy products. State Agricultural Experiment Station, Geneva, New York 14456.
31. Hoffmann A., Heiden A.: Determination of flavor and off flavor compounds in dairy products using Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) and Thermal Desorption GC/MSD/PFPD. Email adress: [andreas.hoffmann@gerstel.de](mailto:andreas.hoffmann@gerstel.de)
32. Imhof R., Glättli H., Bosset J.O.: Volatile organic aroma compounds produced by thermophilic and mesophilic mixed strain dairy starter cultures. *Food Science and Technology*, 1995, vol. 28, no. 1, pp. 78-86.
33. Xanthopoulos V., Picque D., Bassit N., Boquien CY., Corrieu G.: Methods for the determination of aroma compounds in dairy products – a comparative study. *Journal of Dairy Research*, 1994, vol. 61, no. 2, pp. 289-297.
34. Internetové stránky Mlékárny Valašské Meziříčí spol. s r.o. Dostupné z: <http://www.mlekarna-valmez.cz/produkty-smetanove-jogurty-smetanovy-jogurt-vanilkovy-s-prichuti>
35. Glouzarová, M.: *Aromaticky aktivní látky různých druhů čokolády*. Diplomová práce. Brno: VUT, Fakulta chemická, 2008.



## 7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

HACCP.....	.....systém kritických kontrolních bodů
WHO.....	.....světová zdravotnická organizace
CIP.....	.....čistící technika
FAO.....	.....organizace OSN pro výživu a zemědělství
FID.....	.....plamenově ionizační detektor
TCD.....	.....tepelně vodivostní detektor
ECD.....	.....detektor elektronového záchytu
ArD, HeD.....	.....argonový a heliový detektor
TID.....	.....termoionizační detektor
MSD.....	.....hmotnostní spektrometr
GC/O.....	.....plynová chromatografie – olfaktometrie
SPME.....	.....mikroextrakce tuhou fází
KTJ.....	.....kolonie tvořící jednotka
CNS.....	.....centrální nervová soustava
WCOT.....	.....kapilární kolona s kapalinou zakotvenou na vnitřních stěnách kapilární trubice
SCOT .....	.....kapilární kolona, která má na vnitřní stěně kapiláry vrstvu nosiče se zakotvenou kapalinou
PLOT.....	.....kapilární kolona, která má na vnitřní stěně kapiláry tenkou vrstvičku pórovitého materiálu, která slouží jako adsorbent
SBSE.....	.....sorpční extrakce na mřížkovém míchadle

## **8. SEZNAM PŘÍLOH**

- Příloha 1      Dotazník pro senzorické hodnocení ovocných jogurtů
- Příloha 2      Chromatogram smetanového jogurtu borůvka
- Příloha 3      Chromatogram smetanového jogurtu broskev
- Příloha 4      Chromatogram smetanového jogurtu jahoda
- Příloha 5      Chromatogram smetanového jogurtu jahoda s vanilkou
- Příloha 6      Chromatogram smetanového jogurtu malina s vanilkou
- Příloha 7      Chromatogram smetanového jogurtu višěň
- Příloha 8      Chromatogram smetanového jogurtu višěň s vanilkou
- Příloha 9      Chromatogram nízkotučného jogurtu jahoda
- Příloha 10     Chromatogram nízkotučného jogurtu malina
- Příloha 11     Chromatogram nízkotučného jogurtu broskev

Jméno:

Datum:

Jaký je váš vztah k ovocným jogurtům a jak často tyto jogurty konzumujete?

- a) mám je velmi rád/a a často je konzumuji
- b) mám je rád/a a občas je konzumuji
- c) nemám je rád/a a nekonzumuji je vůbec

Úkol: Ochutnávka a hodnocení dvou řad ovocných jogurtů.

Řada 1- Smetanové jogurty

A – Jahoda

B – Jahoda s vanilkou

C – Višeň s vanilkou

D – Malina s vanilkou

E – Višeň

F – Broskev

G – Borůvka

Pořadový test

Ochutnejte předložené vzorky a seřaďte je v pořadí od nejchutnějšího k nejméně přijatelnému (která příchut' vám nejvíce chutná a proč?)

Hodnocení	Vzorek	Poznámka
1.		nejlepší
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		nejhorší

## Bodové hodnocení

U předchozích vzorků bodově ohodnoťte chuť a vůni na stupnici od 1 do 5.

### Chuť a vůně - stupnice

1. **Vynikající** - harmonická, vyrovnaná, sladká a kyselá se doplňují, čerstvá, smetanová, charakteristická po obsaženém ovoci
2. **Velmi dobrá** - vyrovnaná, sladká a kyselá se doplňují, čerstvá, smetanová, po obsaženém ovoci, není tak harmonická jako u hodnocení vynikající
3. **Dobrá, uspokojivá** - méně vyrovnaná, sladká či kyselá mírně převyšuje, smetanová, méně čerstvá, po obsaženém ovoci, bez cizích příchutí
4. **Přijatelná** - nevyrovnaná, sladká či kyselá výrazně převyšuje, nepříjemná, málo čerstvá, částečně cizí příchutě
5. **Nepřijatelná** – nevyrovnaná, nepříjemná, nečerstvá, zatuchlá, cizí příchutě případně jiné vady chutě a vůně

Vzorek	Chuť a vůně
A	
B	
C	
D	
E	
F	
G	

### Řada 2 - Nízkotučné jogurty

A<sub>N</sub> – Jahoda

B<sub>N</sub> – Malina

C<sub>N</sub> – Broskev

### Pořadový test

Ochutnejte předložené vzorky a seřadte je v pořadí od nejchutnějšího k nejméně přijatelnému (která příchut' vám nejvíce chutná a proč?)

Hodnocení	Vzorek	Poznámka
1.		nejlepší
2.		
3.		nejhorší

## Bodové hodnocení

U předchozích vzorků bodově ohodnoťte chuť a vůni na stupnici od 1 do 5.

### Chuť a vůně – stupnice

1. **Vynikající** - harmonická, vyrovnaná, sladká a kyselá se doplňují, čerstvá, jogurtová, charakteristická po obsaženém ovoci
2. **Velmi dobrá** - vyrovnaná, sladká a kyselá se doplňují, čerstvá, jogurtová, po obsaženém ovoci, není tak harmonická jako u hodnocení vynikající
3. **Dobrá, uspokojivá** - méně vyrovnaná, sladká či kyselá mírně převyšuje, jogurtová, méně čerstvá, po obsaženém ovoci, bez cizích příchutí
4. **Příjemná** - nevyrovnaná, sladká či kyselá výrazně převyšuje, nepříjemná, málo čerstvá, částečně cizí příchutě
5. **Nepříjemná** – nevyrovnaná, nepříjemná, nečerstvá, zatuchlá, vyskytují se cizí příchutě případně jiné vady chutě a vůně

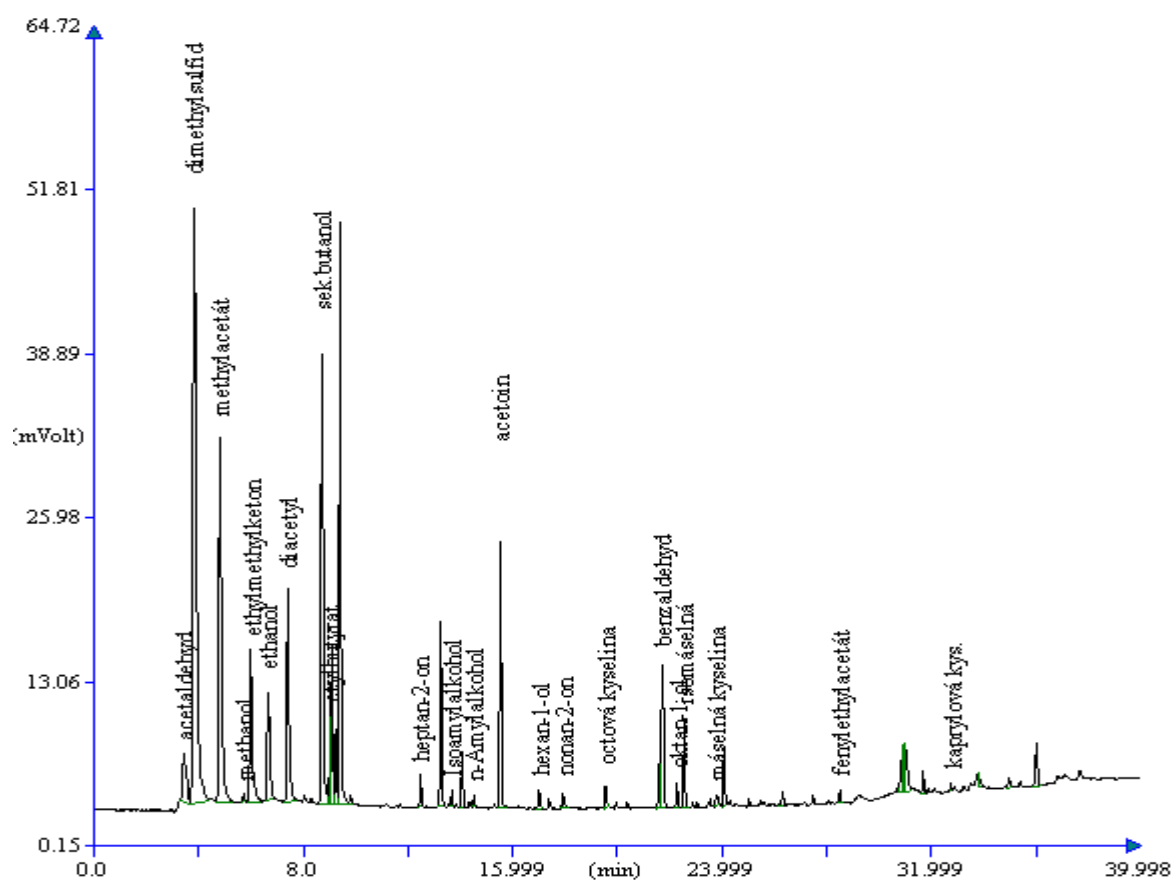
Vzorek	Chuť a vůně
A <sub>N</sub>	
B <sub>N</sub>	
C <sub>N</sub>	

Který jogurt byl z vašeho pohledu lepší z hlediska chuti a vůně?

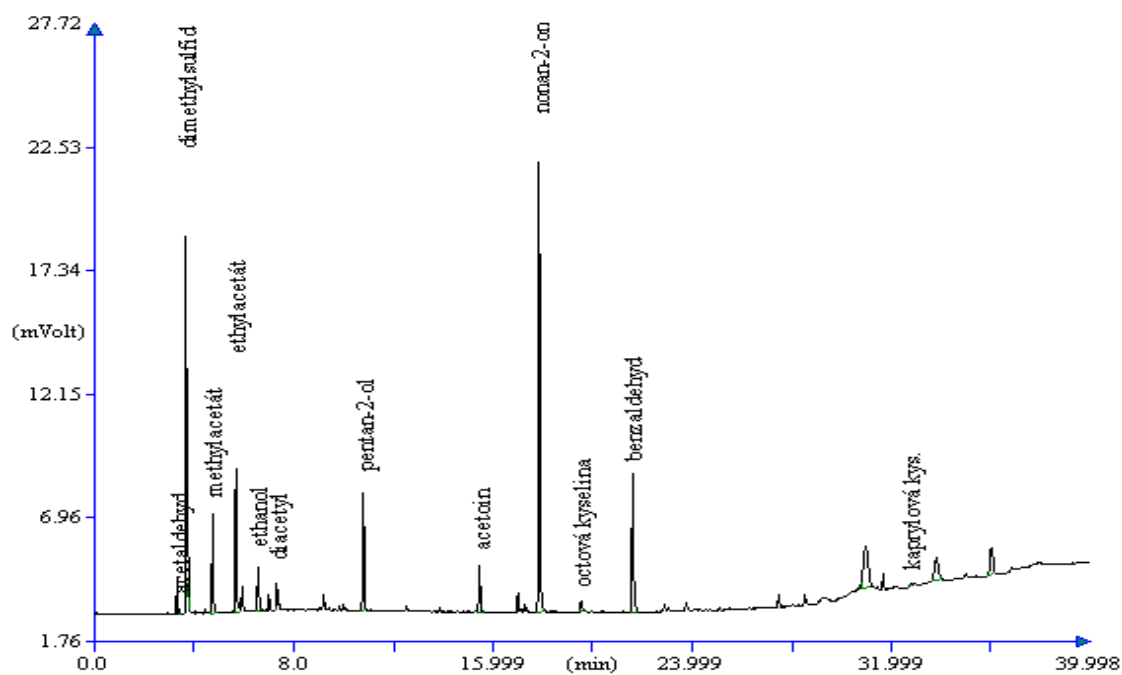
Příchuť	Druh	Hodnocení
Jahoda	Smetanový	
	Nízkotučný	
Broskev	Smetanový	
	Nízkotučný	

Děkuji za spolupráci, doufám že se vám ochutnávka líbila a hlavně chutnala a věřím, že mi někteří z vás jako hodnotitelé poslouží i příště.

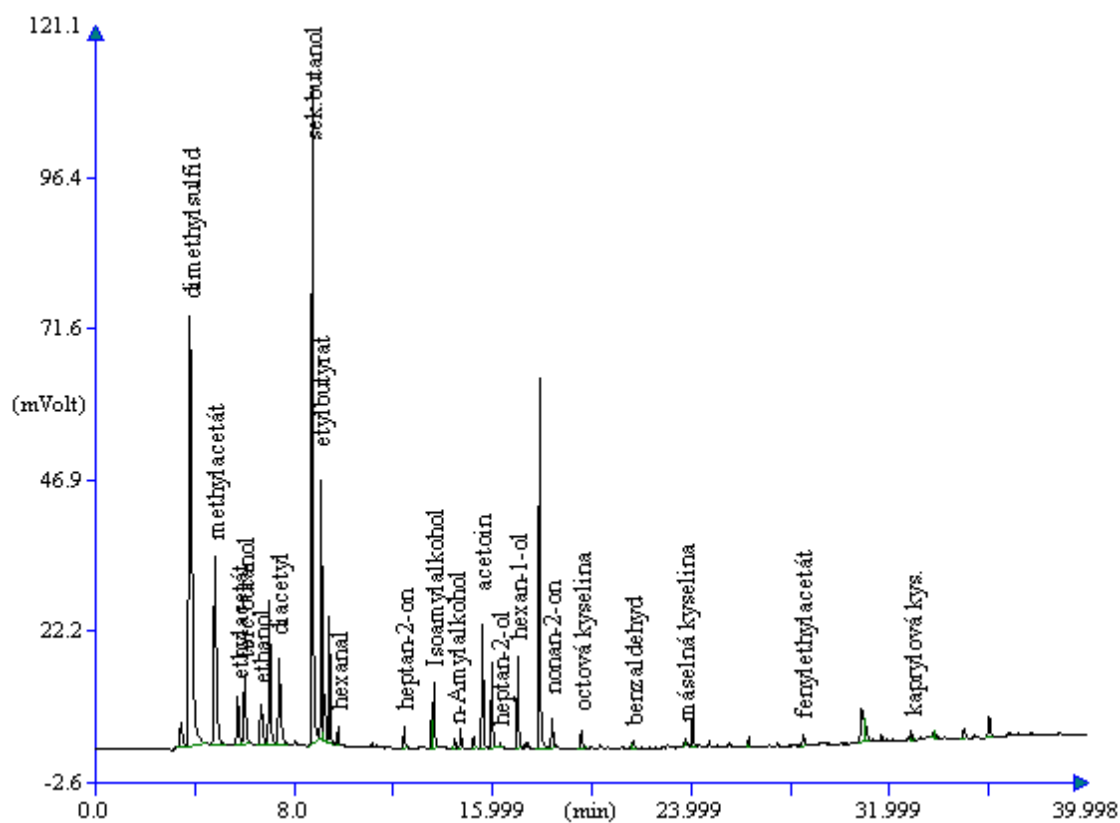
Příloha 2 Chromatogram smetanového jogurtu borůvka



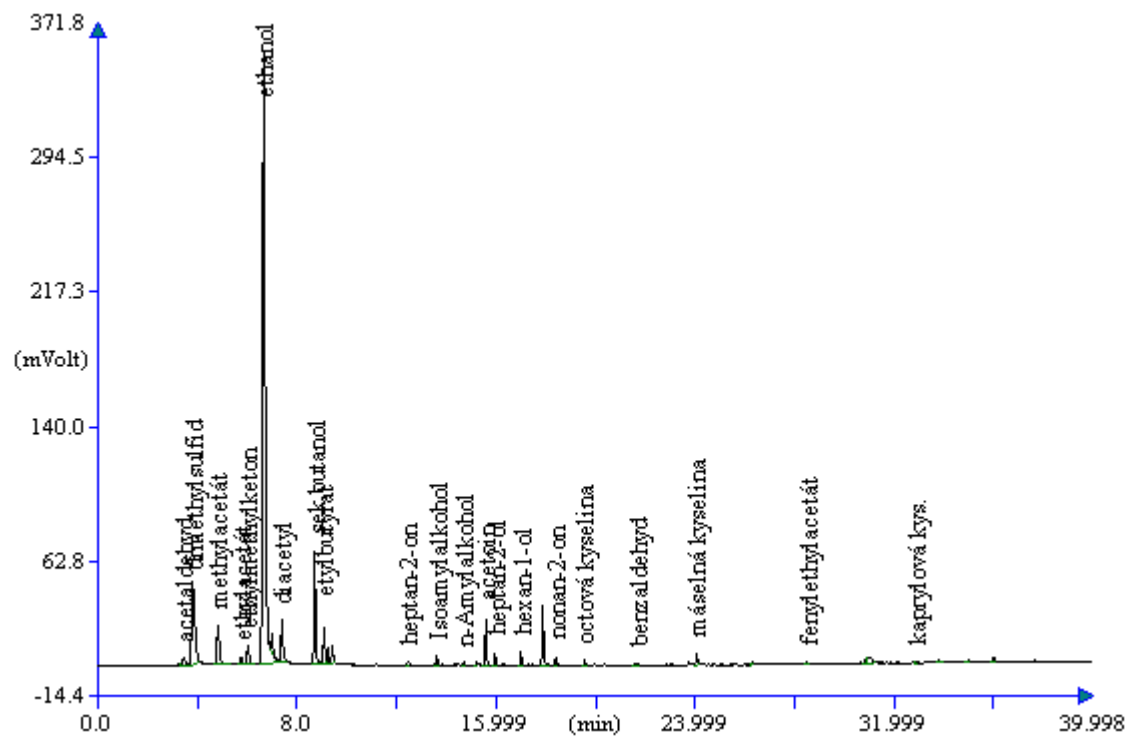
Příloha 3 Chromatogram smetanového jogurtu broskev



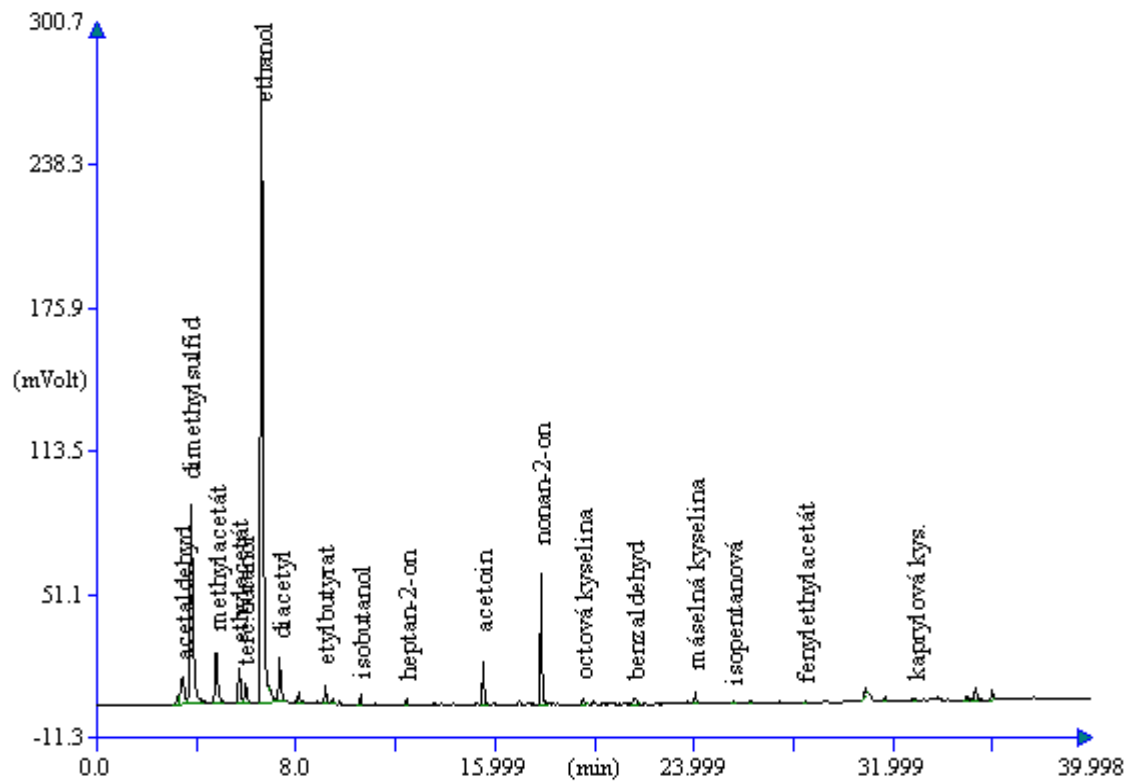
Příloha 4 Chromatogram smetanového jogurtu jahoda



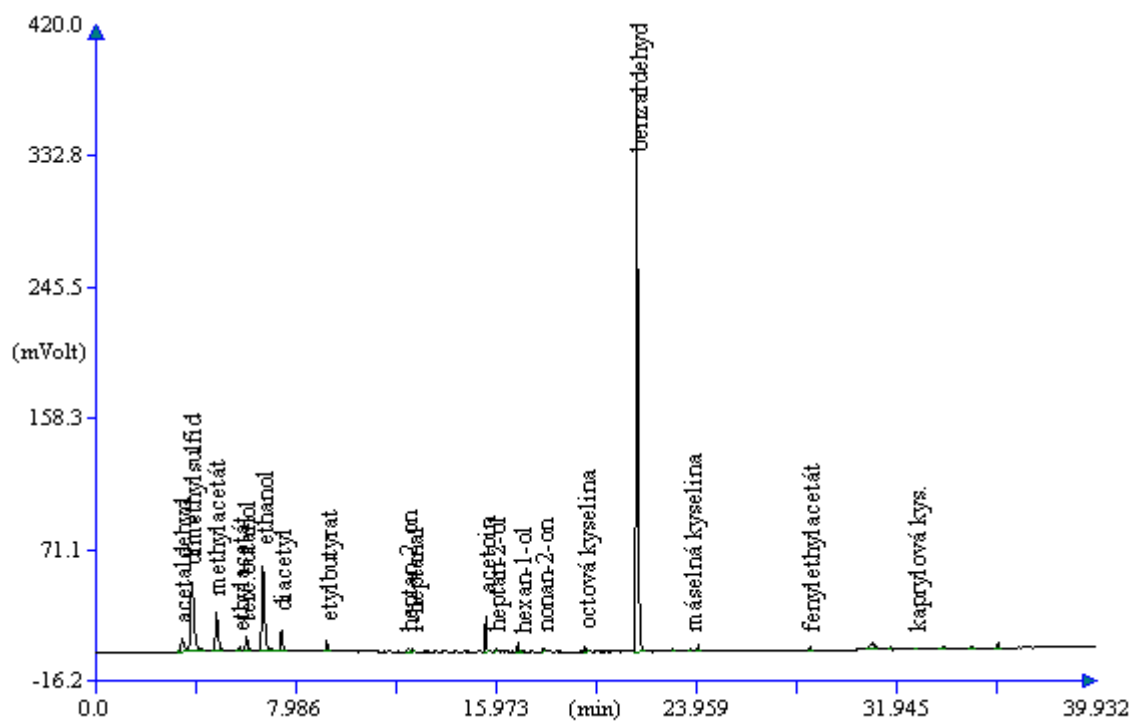
Příloha 5 Chromatogram smetanového jogurtu jahoda s vanilkou



Příloha 6 Chromatogram smetanového jogurtu malina s vanilkou

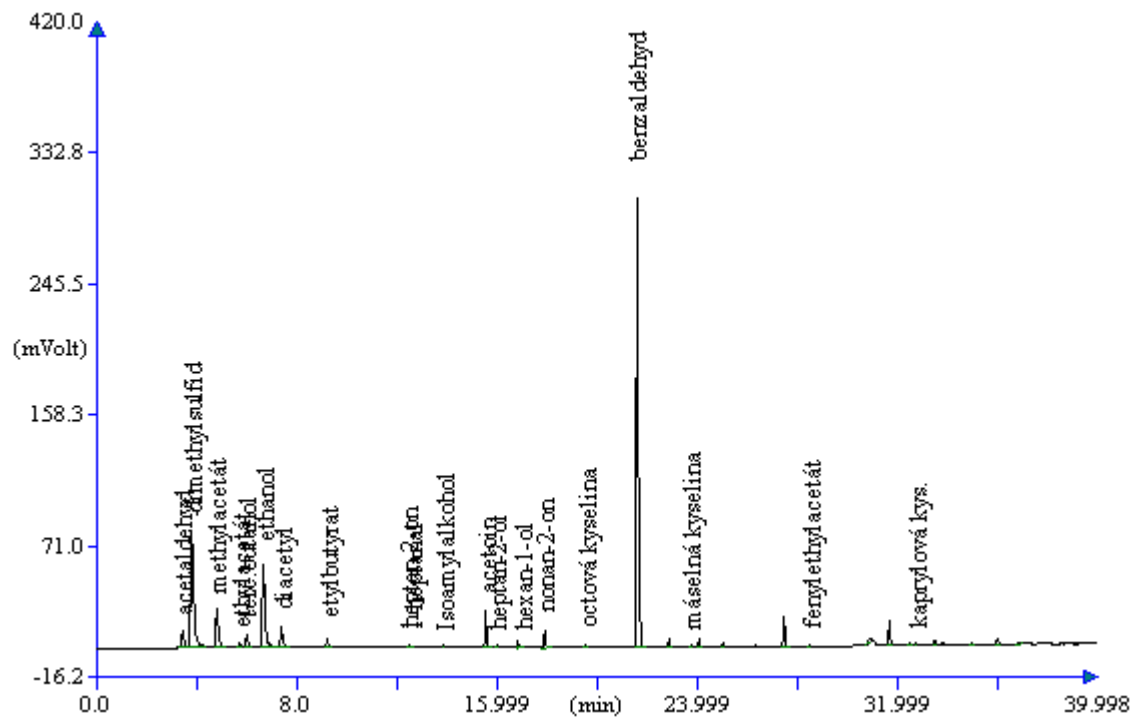


Příloha 7 Chromatogram smetanového jogurtu višň

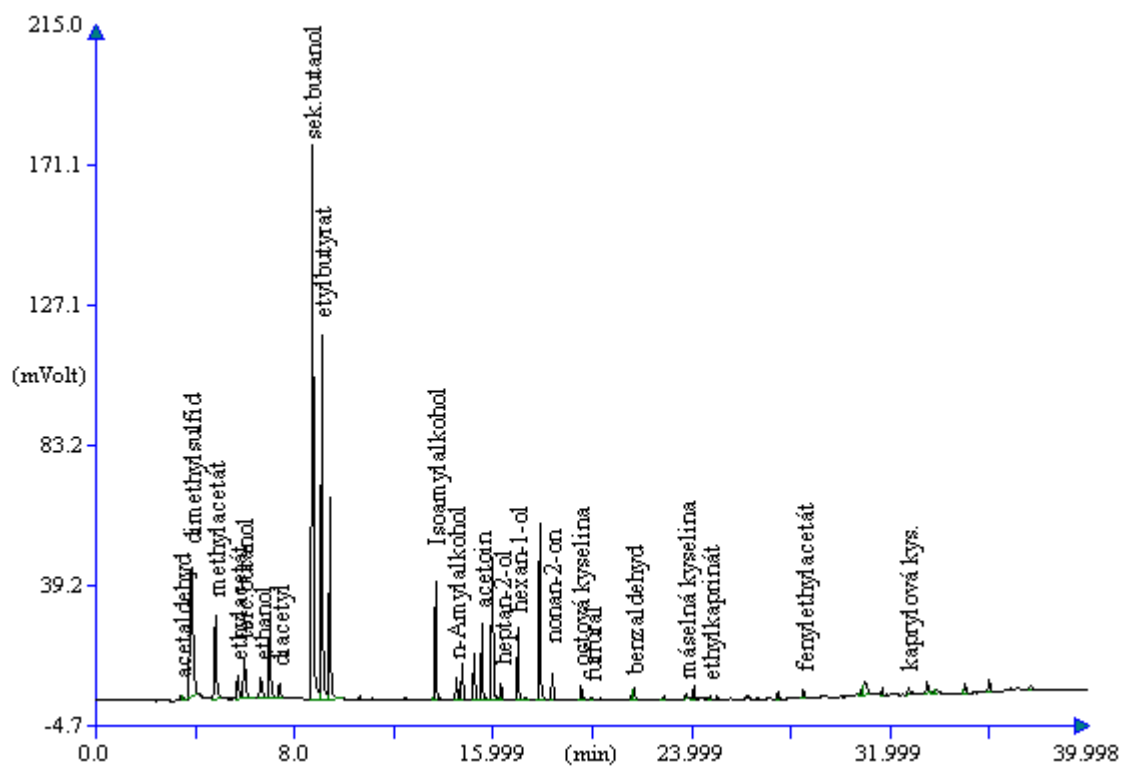




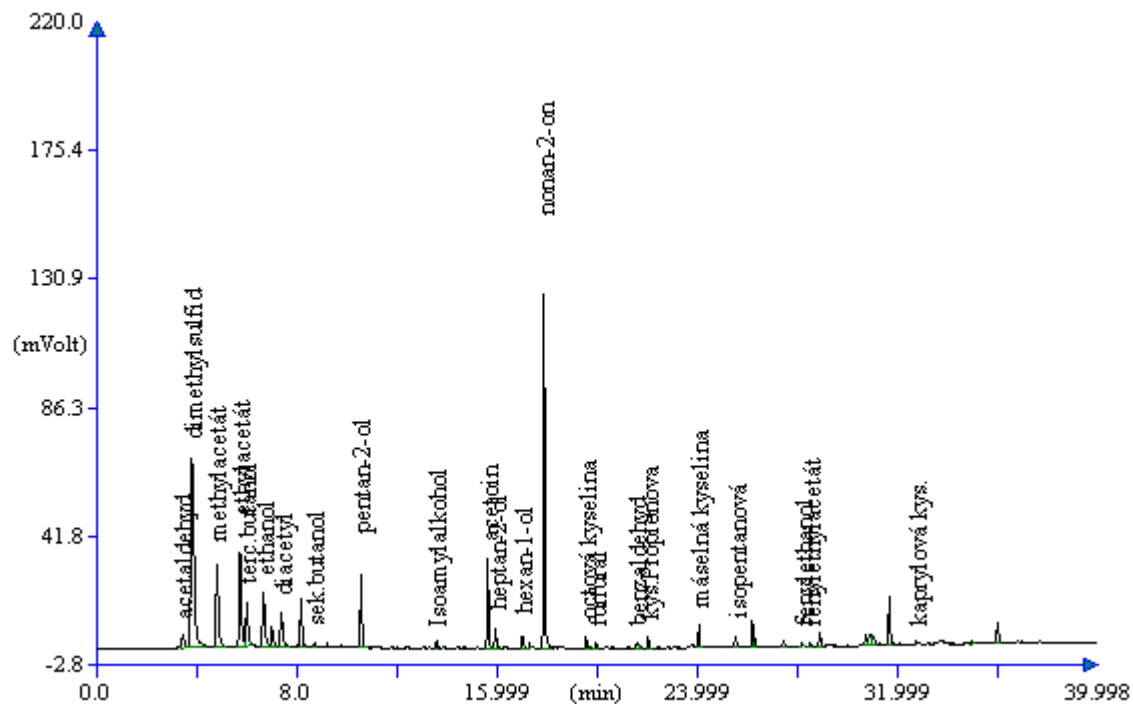
Příloha 8 Chromatogram smetanového jogurtu višň s vanilkou



Příloha 9 Chromatogram nízkotučného jogurtu jahoda



Příloha 10 Chromatogram nízkotučného jogurtu malina



Příloha 11 Chromatogram nízkotučného jogurtu broskev

