



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

# STUDIUM SLOŽENÍ JOGURTU V PROCESU JEHO PŘÍPRAVY

STUDY OF YOGURT COMPOSITION IN PROCESS OF ITS PREPARATION

### DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Zbyněk Fajtl

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.

BRNO 2019

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1291/2018 Akademický rok: 2018/19  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Student: **Bc. Zbyněk Fajtl**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie  
Vedoucí práce: **RNDr. Mária Veselá, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Studium složení jogurtu v procesu jeho přípravy

### Zadání diplomové práce:

1. Literární rešerše na zadané téma.
2. Příprava jogurtů při různých teplotách a způsobu chlazení.
3. Proces přípravy studován pomocí stanovení kyseliny mléčné, počtu mléčných bakterií, textury hotového produktu a senzorické analýzy.
4. Vyhodnocení výsledků s diskusí.

### Termín odevzdání diplomové práce: 17.5.2019:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

---

Bc. Zbyněk Fajtl  
student(ka)

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.  
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

---

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Tato diplomová práce se zabývá studiem přípravy jogurtu a změn doprovázejících jeho skladování. Teoretická část obsahuje informace o parametrech ovlivňujících jak přípravu, tak vlastnosti výsledného produktu. V experimentální části jsou popsány metody a postupy využité pro stanovení kritických parametrů jakými jsou koncentrace kyseliny mléčné, laktózy, glukózy a galaktózy (HPLC–RI), množství streptokoků a laktobacilů. Data byla graficky vyhodnocena a okomentována. Součástí práce byla i senzorická analýza, při které byl připravený jogurt porovnáván s komerčně dostupnými výrobky. Výsledky této práce mohou posloužit jak spotřebitelům, tak menším provozům vyrábějících jogurt.

## **ABSTRACT**

This thesis deals with the study of yogurt preparation and changes during its storage. The theoretical part contains information about parameters affecting both the preparation and properties of the final product. The experimental part describes methods and procedures used for determination of critical parameters such as lactic acid, lactose, glucose and galactose concentrations (HPLC-RI), amounts of streptococci and lactobacilli. The data was graphically evaluated and commented on. The work also included sensory analysis in which the prepared yogurt was compared with commercially available products. The results of this work can serve both consumers and smaller yogurt producers.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Jogurt, laktóza, fermentace, HPLC, bakterie mléčného kvašení

## **KEY WORDS**

Yoghurt, lactose, fermentation, HPLC, lactic acid bacteria

FAJTL, Z. *Studium složení jogurtu v procesu jeho přípravy*. Brno, 2019. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce RNDr. Mária Veselá Ph.D.

## **PROHLÁŠENÍ**

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

.....

podpis studenta

## ***Poděkování***

*Děkuji RNDr. Márii Veselé, Ph.D. za cenné rady, ochotu a laskavost při zpracování této diplomové práce. Dále bych rád poděkoval Ing. Markovi Raptovi za pomoc při měření na HPLC a cenným radám ke zpracování výsledků. Speciální poděkování patří Karlovi Bogarovi a jeho rodině, díky kterým tato práce nabyla velkého významu. V neposlední řadě bych rád poděkoval celé své rodině a mým nejbližším za podporu i korekturu.*

<b>1 Úvod .....</b>	<b>7</b>
<b>2 Teoretická část .....</b>	<b>8</b>
2.1 Mléko .....	8
2.1.1 Složení kravského mléka .....	8
2.1.2 Lipidy v kravském mléce .....	8
2.1.3 Proteiny v kravském mléce .....	9
2.1.4 $\beta$ -kasein, polymorfismus, typ A1 a A2 .....	9
2.1.5 Sacharidy v kravském mléce – Laktóza .....	9
2.1.5.1 Moderní metody detekce množství laktózy .....	10
2.1.6 Kyselina mléčná .....	10
2.2 Historie mléčných výrobků .....	11
2.3 Charakterizace jogurtu .....	11
2.4 Charakterizace mikroorganismů podílejících se na fermentaci jogurtu .....	12
2.5 Bakterie mléčného kvašení .....	12
2.5.1 Rod <i>Lactobacillus</i> .....	12
2.5.2 Rod <i>Streptococcus</i> .....	12
2.6 Mléčná fermentace .....	13
2.6.1 Jogurtová kultura a trávicí soustava .....	14
2.7 Faktory ovlivňující vlastnosti jogurtu .....	15
2.7.1 Celková sušina .....	15
2.7.2 Ošetření mléka tepelným opracováním .....	15
2.7.3 Homogenizace mléka .....	15
2.7.4 Vliv tlaku na jogurt .....	15
2.7.5 Vliv teploty fermentace na jogurt .....	16
2.7.6 Vliv aditiv .....	16
2.7.7 Vliv skladování – krátkodobé a dlouhodobé .....	17
2.8 Nepřímé stanovení počtu buněk MO kultivační metodou .....	17
<b>3 Experimentální část .....</b>	<b>18</b>
3.1 Výběr mléka .....	18
3.2 Výběr jogurtové kultury .....	18
3.3 Příprava jogurtu .....	18
3.4 Příprava vzorku pro měření s využitím HPLC–RI .....	20
3.4.1 Carrezovo vyčeření .....	20
3.4.2 Filtrace supernatantu a ředění .....	20
3.5 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s refraktometrickým detektorem (HPLC–RI) .....	20
3.5.1 Chromatografické podmínky .....	20

3.5.2	Kalibrace .....	21
3.6	Stanovení sušiny .....	23
3.7	Nepřímé stanovení mikroorganismů.....	23
3.8	Senzorická analýza .....	24
3.8.1	Vzorky jogurtu pro sensorickou analýzu .....	24
3.8.2	Dotazník sensorické analýzy .....	24
3.8.3	Složení hodnotitelské komise .....	24
<b>4</b>	<b>Výsledky a diskuze.....</b>	<b>26</b>
4.1	Stanovení parametrů mléka .....	26
4.1.1	Celková sušina v mléce.....	26
4.1.2	Mikrobiální rozbor mléka .....	26
4.2	Mikrobiální rozbor jogurtu .....	27
4.3	Stanovení laktózy, glukózy, galaktózy a kyseliny mléčné – HPLC .....	29
4.3.1	Stanovení laktózy.....	29
4.3.2	Stanovení galaktózy a glukózy .....	30
4.3.3	Stanovení kyseliny mléčné .....	31
4.4	Senzorická analýza .....	32
4.4.1	Vyhodnocení dotazníku .....	32
4.4.2	Vyhodnocení párových porovnávacích testů .....	34
4.4.3	Pořadový test.....	36
<b>5</b>	<b>Závěr: .....</b>	<b>39</b>
<b>6</b>	<b>Zdroje.....</b>	<b>40</b>
<b>7</b>	<b>Seznam zkratek .....</b>	<b>44</b>
<b>8</b>	<b>Přílohy .....</b>	<b>45</b>

# 1 ÚVOD

Mléko poskytuje základní zdroj výživy pro mláďata savců, zcela pokrývající jejich nutriční požadavky. Savci mléko konzumují do té doby, dokud sami nedokážou trávit pevnou stravu. Tedy až na člověka, který dokázal od dob neolitu (8000 let př.n.l.) domestikovat kromě dalších zvířat i původní druh pratura, který dal základ kravským plemenům, tak jak je známe dnes. Přičemž se u něj vyvinula genetická změna, poskytující tvorbu enzymu-laktázy i v letech daleko převyšující kojence a děti.

Mléko a výrobky z něj, tedy dnes hrají velikou roli, jakožto složka potravy většiny evropské, ale i světové populace. Velká akademická pozornost je věnována studiu složení mléka a jeho vlivu na lidské zdraví, způsobům zpracování mléka, ale i využitím „vedlejších“ produktů jakými je například syrovátka.

Od antických dob, kdy se mléko fermentovalo přítomnou mikroflórou a nebylo možno významněji redukovat mikrobiální kontaminaci, jsme se dostali do bodu, kdy je možno díky pasteraci získat bezpečně a ekonomicky efektivně přesně definované mléčné fermentované výrobky.

Na současném trhu byl však obnoven zájem spotřebitelů o nepasterované mléko a produkty z něj. Problematice výroby jednoho mléčného výrobku – přesněji jogurtu z nepasterovaného mléka se zabývá tato práce.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Mléko

Mateřské mléko je první stravou pro savčí mláďata a jako takové tedy obsahuje všechny nutrienty a s tím související energetickou hodnotu potřebnou pro poporodní vývoj. Většina savců následně odstaví své potomky od mléka. Tedy až na člověka, jelikož velmi často konzumují mléko jiných savců i v dospělosti [1].

Mlékem je nazýván produkt ze zdravých zvířat (nejčastěji krav), do čehož se nepočítá mléko sekretované v prvních dnech po porodu, tzv. mlezivo neboli kolostrum, které mláďatům poskytuje pasivní imunitu v prvních dnech života. Dále se také za mléko nepovažují výrobky rostlinného charakteru (např. sójové/mandlové mléko) [1] [2].

#### 2.1.1 Složení kravského mléka

Mléko je zdrojem lipidů, proteinů, aminokyselin, vitamínů a minerálů, dále také imunoglobulinů, hormonů, růstových faktorů, cytokinů, nukleotidů, peptidů, polyaminů, enzymů a dalších bioaktivních peptidů. Lipidy jsou emulsifikovány v globulích pokrytých membránami. Proteiny jsou v koloidní disperzi jakožto micely.

Nutriční složky obsažené v mléce jsou uvedeny v tabulce 1, pro porovnání jsou uvedeny i kompozice dalších druhů mléka. Složení kravského mléka velmi závisí na faktorech, jakými jsou strava, roční období, genetika, fáze laktace a zacházení se zvířaty [1] [3].

**Tabulka 1** Porovnání různých druhů mléka [1]

	Kozí	Ovčí	Kravské	Lidské
<b>tuky (%)</b>	3,8	7,9	3,6	4,0
<b>laktóza (%)</b>	4,1	4,9	4,7	6,9
<b>proteiny (%)</b>	3,4	6,2	3,2	1,2
<b>energie (kcal/100 mL<sup>-1</sup>)</b>	70	105	69	68
<b>vápník (mg.100 g<sup>-1</sup>)</b>	134	193	122	33
<b>fosfor (mg.100 g<sup>-1</sup>)</b>	121	158	119	43
<b>Vitamín A(IU)</b>	185	146	126	190
<b>Vitamín D (IU)</b>	2,3	0,18 (μg)	2,0	1,4

Velmi velkou roli na složení mléka hraje plemeno mléčného skotu. Světově nejrozšířenější mléčné plemeno – Holštýnský skot produkuje mléko o složení 4,57 – 4,73 % tuku a 3,6 % proteinu. Mléko krav plemene Jersey obsahuje 5,06 – 6,16 % tuku a 3,95 – 4,23 % proteinu [4] [5].

#### 2.1.2 Lipidy v kravském mléce

Triacylglyceroly v kravském mléce tvořící 95 % tukové frakce se skládají z mastných kyselin o délce uhlíkatého řetězce v rozmezí mezi 4 – 24 atomů, o různém množství nenasycených vazeb, avšak každá molekula triacylglycerolu je kombinována tak, aby měla kapalné skupenství za tělesné teploty. Diacylglyceroly se nachází v množství okolo 2 % tukové frakce, Cholesterol ve výši do 0,5 %. Fosfolipidy okolo 1 %, a volné mastné kyseliny se nachází v mléce do 0,5 %.



Více jak polovina mléčných tuků je satureovaná. Vliv těchto mastných kyselin na lidské zdraví je velmi diskutovaným tématem. Hlavně z důvodu jejich vlivu na úroveň krevního cholesterolu [6].

### 2.1.3 Proteiny v kravském mléce

Kravské mléko obsahuje okolo 3 g proteinu na 100 ml, a skládá se z 25 různých proteinů. Přičemž každý z nich může být potenciálním antigenem. Proteiny v kravském mléce se dělí do dvou hlavních kategorií, dle jejich rozpustnosti při 20 °C a pH 4,6.

Kaseiny jsou hlavní frakcí proteinů v kravském mléce, tvoří okolo 80 % celkových bílkovin, s velikostí od 19 do 25,2 kDa. Zbýlých 20 % tvoří proteiny syrovátkového charakteru. Přehled je uveden v tabulce 2 [7].

**Tabulka 2** přehled proteinových alergenů v mléce a jejich procentuální zastoupení v dané frakci [7]

<b>kaseinové (precipitáty)</b>	<b>syrovátkové (rozpustné)</b>
$\alpha_{S1}$ -kasein (40 %)	$\beta$ -lactoglobulin (50 %)
$\alpha_{S2}$ -kasein (12,5 %)	$\alpha$ -lactoglobulin (25 %)
$\beta$ -kasein (35 %)	kravský laktoferrin
$\kappa$ -kasein (12,5 %)	kravský krevní albumin
	kravské imunoglobuliny

### 2.1.4 $\beta$ -kasein, polymorfismus, typ A1 a A2

$\beta$ -kasein v kravském mléce lze zařadit do dvou hlavních genetických typů, A1 a A2. Rozdíl mezi těmito dvěma formami je přítomnost histidinu (A1) nebo prolinu (A2) na 67 pozici tohoto proteinu složeného z 209 aminokyselin, přičemž forma A1 je způsobena mutací, která vznikla u předků moderních evropských kravských plemen. Tato mutace není pozorována u čistokrevných plemenných krav afrického a asijského původu.

V gastrointestinálním lidském traktu, je pak A1  $\beta$ -kasein proteolytickými enzymy štěpen na krátké  $\beta$ -kasomorfiny, hlavně tedy na  $\beta$ -kasomorfin-7, který má opioidní a zánětlivé účinky, čímž také pravděpodobně zpomaluje trávicí soustavu a snižuje pevnost stolice [8] [9].

### 2.1.5 Sacharidy v kravském mléce – Laktóza

Laktóza je hlavním sacharidem mléka savců. Má významné nutriční, ale i prebiotické vlastnosti. V tenkém střevě je hydrolyzována enzymem laktázou ( $\beta$ -galaktosidáza) na glukózu a galaktózu, které již dokážou být transportovány skrze stěnu tenkého střeva do krve [10].

Schopnost trávit laktózu i po odstavení od mateřského mléka začala být získávána hlavně v Severo-evropské populaci přibližně 3000–1000 let př. n. l., v tzv. době Bronzové. U většiny jedinců, (hlavně těch, kteří nemají Evropské předky) tedy dochází k postupnému úbytku aktivity  $\beta$ -galaktosidázy a laktóza pak namísto v tenkém střevě prochází až do tlustého střeva, kde je využívána tamní mikroflórou na laktát, methanoát, sukcinát, mastné kyseliny s krátkým řetězcem, acetáty, propionáty, butyráty, oxid uhličitý a methan [11].

### 2.1.5.1 Moderní metody detekce množství laktózy

Mezi klasické metody stanovení laktózy patří gravimetrická analýza, plynová chromatografie, a nejvíce využívaná vysokoúčinná kapalinová chromatografie, tyto metody jsou však vysoce časově náročné, jak pro přípravu vzorku, tak pro analýzu. Nové metody využívají blízkou infračervenou spektroskopii, avšak u ní je nutno seřizení, aby nedocházelo k interferencím způsobených absorpcí vodou. Ramanova spektrometrie, má v současné době zvyšující se oblibu, kvůli technologickému vývoji laserů, detektorů a počítačové technologie. Nevýhodou této metody je, že luminiscence, jakožto mnohem silnější kvantový efekt, dokáže zamaskovat spektrální informaci ramanova rozptylu [12].

Dále se také využívají nové metody využívající enzymové biosenzory, které mohou fungovat pro kvantifikaci laktózy v mléce a mléčných produktech v reálném čase. Enzymatické kity využívají enzymatické hydrolýzy laktózy na glukózu a galaktózu v prvním kroku. Následně v případě Laktóza/D-galaktóza kitu se díky galaktózové dehydrogenázy štěpí vznikající galaktóza na NADH+H<sup>+</sup> a kyselinu galaktonovou. Množství vzniklého NADH+H<sup>+</sup> je pak stechiometricky úměrné koncentraci D-galaktózy [13].

V případě stanovení zbytkových koncentrací laktózy (například v bezlaktózových mléčných výrobcích) nejsou enzymatické metody, ani HPLC s RI detektorem vhodnou volbou. Nabízí se možnost využití kapalinové chromatografie v kombinaci s dvojitou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS), při které je třeba laktózu převést na addukt využitím methanoátu amonného [13].

### 2.1.6 Kyselina mléčná

Je slabá alifatická hydroxykyselina, držící GRAS status (všeobecně považována jako bezpečná), její koncentrace ve výrobku i jakožto aditivum může být libovolná. Závisí pouze na sensorické přijatelnosti spotřebitelů [14].

Má velký vliv i v nízkých koncentracích na růst *Aspergillus parasiticus*. Nejvyšší antimikrobiální aktivity je dosaženo při nízkých hodnotách pH, blízko disociační konstanty, jelikož kyselina mléčná se potom vyskytuje v nedisociované formě, která může volně procházet skrze plasmatickou membránu MO. U hub pak difunduje skrze cytoplasmatickou membránu, dokud se nedisociuje vlivem vyšší hodnoty pH, čímž se pak hromadí anionty i protony v buňce, protony pak destabilizují neutrální intracelulární pH a poškodí mebránový gradient. Z důvodu využití energie na pumpování protonů skrze membránu ven z buňky se tak vyčerpá ATP potřebné pro buněčný růst [14] [15].

## 2.2 Historie mléčných výrobků

Na trhu je k dispozici nespočet druhů mléčných výrobků, vzniklých utilizací mléčného cukru – laktózy za tvorby kyseliny mléčné účinkem mikroorganismů, které díky svému specifickému metabolismu a za dodržení kultivačních podmínek, dají vzniku přesně definovaným výrobkům, tak jak je známe dnes. Inokulace čerstvého mléka již zakysaným mlékem je dokumentovaný postup, který se využíval dlouho před vznikem vědního oboru mikrobiologie. Tato výroba fermentovaných mléčných výrobků byla využívána ve všech částech světa i za primitivních hygienických podmínek. Hlavně tedy v regionech o horkém klimatu, jelikož vzniklá kyselost byla žádoucí pro udržení bezpečného výrobku, zničením patogenních mikroorganismů.

I příprava jogurtu se vyvíjela, první postup přípravy podle Heinemana (1921) vyžadoval čistou nádobu, ve které bylo nad slabým ohněm vařeno mléko, dokud nebyl získán objem mezi 50 % a 75 % původního množství. A po ochlazení na 40 – 45 °C se přidalo malé množství produktu z předešlé várky. Nádoba byla následně uzavřena a zabalena do látek a kůže po dobu 10 až 12 hodin. Industriální výrobu jogurtu započal Isaac Carasso (1919), do roku 1940 byl jogurt popisován jakožto příliš kyselý, a nebyl tedy chuťově žádaný. Do roku 1960 byl jogurt nabízen v minimu obchodů, anebo obchodech se zdravou výživou. Posledních deset let vzrostla rapidně spotřeba řeckého jogurtu. Mezi předpokládané budoucí trendy patří výrobky s redukováným množstvím sacharidů a tekuté jogurtové nápoje [16].

## 2.3 Charakterizace jogurtu

Jogurt (obrázek 1), je mléčný výrobek získávaný fermentací různých typů mléka. Nejčastěji využívanými mikroorganismy jsou *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*, avšak využívá se i dalších kultur které jsou legislativou schváleny. Oba MO jsou homofermentativní, vzniká tedy k. mléčná jakožto výsledný produkt [17].



Obrázek 1 Jogurt ve sklenici

Tyto dvě kultury mezi sebou vykazují silné symbiotické chování, jelikož laktobacily stimuluje růst streptokoků tím, že na počátku fermentace začne štěpit kasein na volné aminokyseliny a zároveň lehce sníží pH. Toto okyselení nadále indukuje tvorbu exopolysacharidů a organických fosfátů. Naopak rostoucí populace streptokoků produkuje značné množství oxidu uhličitého, který stimuluje růst laktobacilů tím, že rapidně sníží pH na 4 až 5 i v důsledku tvorby kyseliny pantothenové (vitamín B5). Tato symbióza je nazývána protokooperace, jelikož tyto bakterie dokáží žít nezávisle na sobě a jejich přežití nezávisí jedna na druhé. Jejich interakcí však dochází k vylepšení fermentačního procesu například i snížením inkubační doby [18].

Dle vyhlášky č. 397/2016 Sb. lze u jogurtu zvýšit obsah sušiny pouze přidáním mléčné bílkoviny, sušeného nebo zahuštěného mléka, nebo odebráním syrovátky, zároveň musí být tepelně neošetřený po kysacím procesu. také obsahuje celkově  $10^7$  *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus* na 1 g výrobku.

## 2.4 Charakterizace mikroorganismů podílejících se na fermentaci jogurtu

### 2.5 Bakterie mléčného kvašení

Bakterie mléčného kvašení (BMK) jsou skupinou bakterií, která je velmi spjatá s životním stylem a lidským zdravím. Tento termín zahrnuje mikroorganismy, které jsou schopny zutilizovat cukry na kyselinu mléčnou. Nesporolují, nevyžadují aerobní podmínky, dokážou je však tolerovat. Strukturou jsou to koky nebo tyčinky [17].

#### 2.5.1 Rod *Lactobacillus*

Jedná se o mikroaerofilní gram-pozitivní bakterie, běžně se nacházející v mnoha různorodých prostředích, například ve vysoce nutričně bohaté potravine, jakou je mléko, v lidských sliznicích i v půdě. V tabulce č. 3 jsou uvedeni zástupci rodu *laktobacillus*, dle způsobu fermentace [17].

**Tabulka 3** Rozdělení rodu *laktobacillus* dle způsobu fermentace [17]

homofermentativní	fakultativně heterofermentativní	obligátně heterofermentativní
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. brevis</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. curvatus</i>	<i>L. buchneri</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. fermentum</i>
<i>L. salivarius</i>	<i>L. sakei</i>	<i>L. reuteri</i>
		<i>L. pontis</i>

#### 2.5.2 Rod *Streptococcus*

Zástupci rodu *Streptococcus*, jsou gram-pozitivní, kataláza-negativní, fakultativní anaerobní bakterie kulovitého nebo vejcovitého tvaru. Taxonomicky patří do čeledi Streptococcaceae, který patří do kmene Firmicutes. Avšak mnohem častěji jsou vnímány jakožto součást bakterií mléčného kvašení.

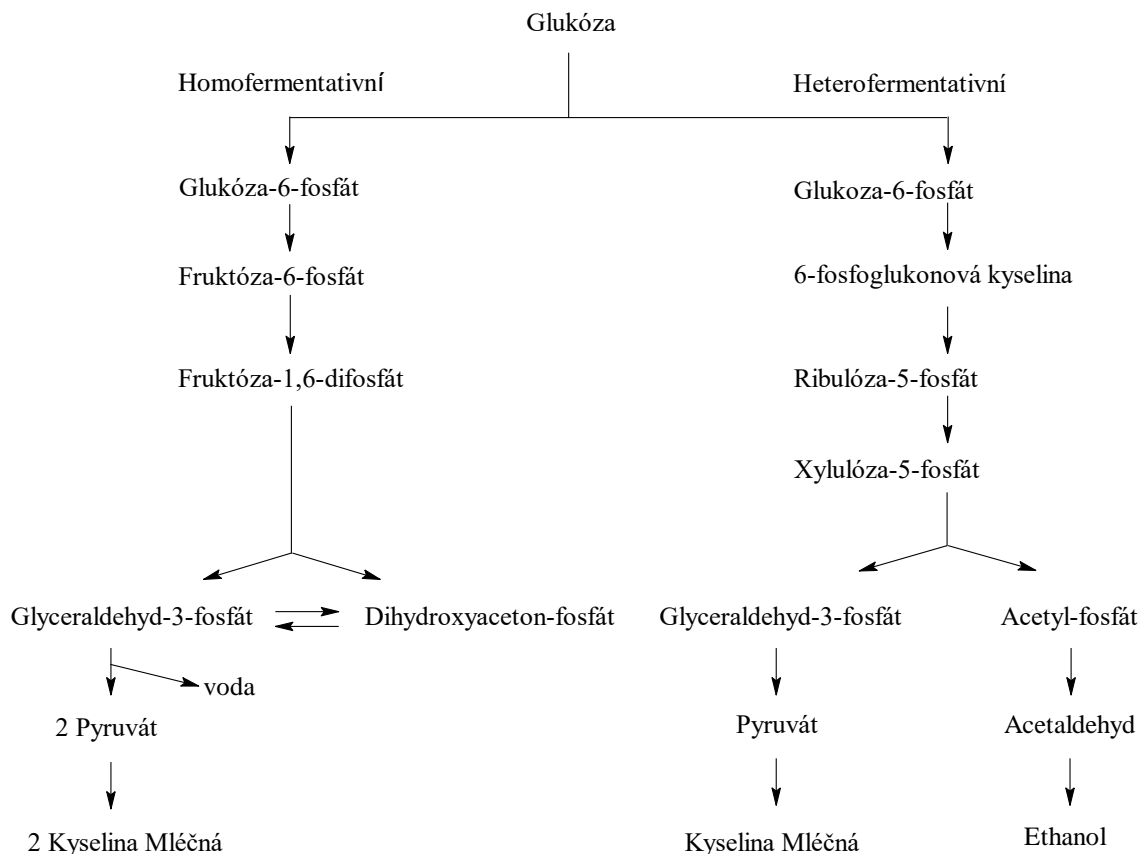
Optimální teplota pro růst streptokoků je okolo 37 °C. *Streptococcus thermophilus* avšak dokáže růst i při teplotách od 10 °C do 45 °C. Mají vysoký nárok na výživu, hlavně ve formě volných aminokyselin [17].

## 2.6 Mléčná fermentace

Výroba fermentovaných potravin byla v minulosti založená pouze na spontánní fermentaci původní (autochtónní) mikroflórou, která se již nacházela v surovině. Tento postup byl vylepšen, nejprve přidáváním části, z již zfermentovaného produktu. Docházelo ovšem ke opětovným kontaminacím nacházejících se již v „inokulu“. V současnosti se v průmyslovém měřítku výroba neobejde bez speciálních předem připravených mikrobiálních kultur. Díky nim je možné zamezit kontaminacím, ke kterým dochází při zaočkování již zfermentovanou surovinou, taktéž se tím zkracuje délka fermentace [19].

Mléčná fermentace je pro bakterie mléčného kvašení (BMK) zásadní pro regeneraci  $\text{NAD}^+$ . BMK mohou patřit do dvou kategorií v závislosti na tom, jak využívají hexózy pod nelimitovanými růstovými podmínkami. Při heterofermentativní, taktéž nazývané jako fosfoketolázové cestě je při fermentaci tvořena kyselina mléčná, ethanol a oxid uhličitý jako výsledné produkty v množství, které je úměrné na poměru  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$ . Heterofermentativní fermentace pak v průměru produkuje z 1 molu glukózy 0,5 mol kyseliny mléčné, mol 1 ATP a 1 mol  $\text{CO}_2$  [17] [20] [21].

Homofermentativní mléčné kvašení probíhá na základě Embden-Meyerhof-Parnasova dráhy (tzv. glykolízy). Kyselina mléčná je jediným produktem. Na 1 ml glukózy pak vznikají 2 moly ATP. *Lactobacillus bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*, které se podílejí na výrobě jogurtu, řadí se oba mezi mikroorganismy využívající homofermentativní cestu. Obě dráhy jsou zjednodušeně zobrazeny na obrázku č. 2 [17] [20].



**Obrázek 2** zjednodušené schéma homofermentativního a heterofermentativního mléčného kvašení [17]

### 2.6.1 Jogurtová kultura a trávící soustava

Lactobacily v gastrointestinálním traktu se dělí na dvě skupiny, a to na autochthónní (přírodně obývající) a allochthónní (pouze procházející). Autochthónní laktobacily jsou schopny okupovat výklenky v trávící soustavě, díky adhezivním faktorům, mezi které patří i kompatibility s imunologickým systémem hosta. Allochthónní je třeba rozlišit, jelikož se také budou vyskytovat ve střevě, ale pouze po dobu několika dní. Mezi prokazatelně autochthónní patří *L. gasseri* a *L. johnsonii* [17].

Existuje spor o tom, zdali bakterie používané pro zisk jogurtu jsou ideálně stavěné na jejich přežití v lidském střevě. Potvrzeným zdravotním benefitem je snížení symptomů poruchy trávení laktózy, ne však přežití těchto mikroorganismů (MO) a jejich rozmnožení v lidském střevě, zde dochází v rozporu mezi jednotlivými výzkumy. Pozitivní efekt na trávení laktózy je tedy potvrzen v závislosti na schopnosti MO produkovat enzym laktázu, který byl vytvořen při fermentaci [22] [23] [24].

## 2.7 Faktory ovlivňující vlastnosti jogurtu

Trojrozměrná gelovitá struktura jogurtu je výsledkem agregace proteinů při  $\text{pH} = 4,7$  (isoelektrický bod kaseinů). Do této sítě jsou zachyceny tukové, ale i syrovátkové globule. Výsledná charakteristika jogurtového výrobku, je výsledkem mnoha faktorů [25].

### 2.7.1 Celková sušina

Množství celkové sušiny, je velmi důležitý parametr ovlivňující vlastnosti mléčných výrobků. Při tvorbě jogurtů má velkou roli na předpokládané výsledné rheologické vlastnosti (gelovitost struktury), i na senzorické vlastnosti, výsledného produktu. Pro výrobu jogurtu se využívá mléko, které se upravuje na celkovou sušinu 14–16 %, této hodnoty se získává přidávkem například mléčné bílkoviny, sušeného, či zahuštěného mléka [26].

Pro průmysl je dnes vážkové stanovení sušiny v mléce příliš pomalé, volí se tedy refraktometrická detekce založená na měření indexu lomu. U ní je ovšem problém, že mléko vykazuje jak absorpci, tak i rozptyl světla, díky čehož je pak obtížné stanovit kritický úhel pro refraktometrii (Abbeho refraktometr). To už ovšem dnes není problém díky diferenčním refraktometrům, které dokážou měřit intenzitu pole. Mezi další neinvazivní metody schopných rychle stanovit sušinu v mléce patří i elektrická odporová tomografie (EOT), ta má výhodu v tom, že dokáže pracovat i s nehomogenním vzorkem, přičemž přesně a okamžitě stanovuje množství sušiny i tuku s 96% přesností. EOT pracuje na zavádění elektrického proudu do média a referentního vzorku, a měření jejich vodivosti [27] [28].

### 2.7.2 Ošetření mléka tepelným opracováním

Teplotní ošetření mléka má velký vliv na výslednou texturu jogurtu, záhřev mléka na teploty vyšší jak  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  způsobí denaturaci syrovátkových proteinů, které poté tvoří komplexy s kaseinovými micelami díky hydrofobním interakcím a také tvorbou disulfidických vazeb s  $\kappa$ -caseinem. Interakce mezi  $\beta$ -laktoglobuliny a  $\kappa$ -caseiny závisí na faktorech jakými je teplota, koncentrace proteinů a  $\text{pH}$  [25] [29].

$\beta$ -laktoglobulin je globulární protein o isoelektrickém bodu při  $\text{pH} 5,3$ . Monomer tohoto proteinu obsahuje dva disulfidické můstky a jeden volný cystein, který je při vysokých teplotách vystaven možným reakcím.  $\alpha$ -laktoalbumin je menší má čtyři disulfidické můstky, ale neobsahuje volný cystein, samotný ohřev tohoto proteinu nezpůsobuje vznik agregátu, avšak při kombinaci  $\beta$ -laktoglobulinem dochází k tvorbě mixovaného polymeru z hydrofobních interakcí mezi disulfidickými vazbami. Volný cystein na  $\beta$ -laktoglobulinu pak dokáže takto vzniklý polymer inkorporovat do komplexu s kaseinem.

Při tvorbě gelů způsobených tvorbou kyselin, pak denaturované syrovátkové proteiny vykazují v jogurtech silný elastický charakter [29].

### 2.7.3 Homogenizace mléka

Homogenizace mléka je proces, který významně ovlivňuje konzistenci a bělost výsledného jogurtu, redukuje množství oddělené syrovátky a zabraňuje separaci tuku při fermentaci a skladování [30].

### 2.7.4 Vliv tlaku na jogurt

Tlak je velmi významný parametr, který ovlivňuje agregaci a disagregaci proteinů, tím že oslabuje elektrostatické a hydrofobní interakce. Přestože technologie s využitím vysokého tlaku mají velké uplatnění při pasterizaci, jejich uplatnění může být využito na modifikaci struktury biopolymerů běžně nacházejících se v potravinách. Čímž mohou vzniknout například produkty

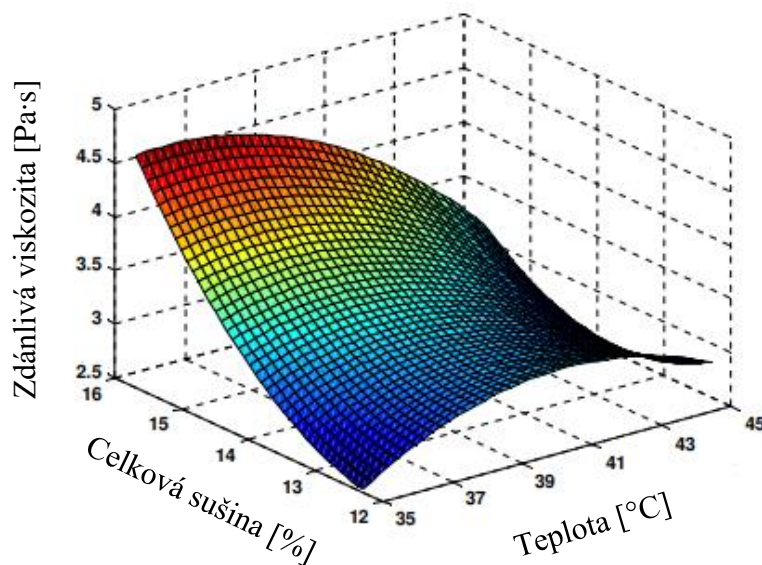
s vyšší schopností vázání vody. V případě působení tlaku na živý systém s využitím subletální dávky (5 – 50 MPa), je možno spustit specifické stresové odezvy, které umožní mikroorganismům přežít i v těchto podmínkách. To má zajímavé účinky na fermentační proces a finální produkt. V případě fermentace jogurtu při tlaku 10 Mpa, bylo pozorováno menší množství oddělené syrovátky a pevnější textura [25].

### 2.7.5 Vliv teploty fermentace na jogurt

Rychlost fermentace a výsledné vlastnosti jogurtu jsou velmi ovlivňovány teplotou při které je řízen tento proces, přičemž nejvyšší vliv teploty lze pozorovat na výslednou zdánlivou viskozitu produktu. Nejvyšší zdánlivou viskozitu lze pozorovat při vysokém množství celkové sušiny jogurtu, který byl fermentován při nižších teplotách, viz. obrázek č. 3. Vysoké inkubační teploty vedou k značným defektům na finální produkt, jakým je například vysoké množství separované syrovátky, slabý proteinový gel. S tím je spojená malá viskozita a horší sensorické vlastnosti. Obrázek 3 poskytuje informace o souběžném vlivu dvou nejdůležitějších faktorů na výslednou zdánlivou viskozitu jogurtu [25] [31].

Na druhou stranu lze oproti menším teplotám značně zkrátit dobu fermentace s čímž je vysoce spojená cena produkce [25].

Nízké teploty fermentace, mají za následek vznik více viskózního, jemného a slizovatého gelu. Pokud je teplota redukována z 43 – 45 °C na 32 – 39 °C, lze pozorovat méně pórů ve struktuře a s tím spojené menší množství oddělené syrovátky [25] [32].



**Obrázek 3** závislost zdánlivé viskozity na teplotě fermentace a množství celkové sušiny [31]

### 2.7.6 Vliv aditiv

Kromě základních aditiv, jakými jsou mléčná sušina a mléčná bílkovina se dnes testují nové možnosti fortifikace jogurtů. Například vlákninou, jelikož má významné prebiotické účinky. Při přidavku suplementu z ananasových slupek bylo možno zkrátit délku fermentace a jogurtu pH klesalo rychleji při skladování oproti kontrolnímu vzorku. Dále byl také pozorován vyšší nárůst pevnosti tohoto vzorku při skladování. [33] Při přidavku rehydratovaného prášku z mrkve v koncentracích (0 – 2 %), který je taktéž zdrojem vlákniny bylo kromě stejných vlivů



na rychlost fermentace a skladování, pozorován taktéž úbytek oddělené syrovátky. [33] Při přidavku suplementu z tritikále (kříženec žita a pšenice) bylo registrováno navýšení antioxidační aktivity o 8 – 9 % [35].

Při přidavku rozpustných sacharidů z Lenu setého (*Linum usitatissimum*) se snížila gumovitost a pevnost jogurtu, za to však byl snížen obsah vyloučené syrovátky a jogurt vykazoval vyšší adhezi [36].

Jogurt připravený za přidavku prášku ze zeleného čaje (v koncentraci 2 %) zvýšil synerezi zatímco prášek ze zelené kávy (o koncentraci 2 %) synerezi snížil [37].

### **2.7.7 Vliv skladování – krátkodobé a dlouhodobé**

Vliv skladování na texturu jogurtu se liší podle typu produktu (míchaný/nemíchaný) a kapacitě systému k přílišnému zakysání. Textura míchaného jogurtu se skladováním významně zvýší z důvodu restrukturalizace proteinové sítě. Přičemž viskozita může stoupnout z 1,7 Pa·s na 3,0 Pa·s (76% nárůst). Elastický charakter míchaného jogurtu je vyšší, pokud je proces chlazení pomalejší, tento jev však může být způsoben nadměrnou fermentací výrobku při okamžitém nezastavení procesu.

Při dlouhodobém skladování (mezi 5 a 21 dny) bylo rovněž pozorováno zlepšení na textuře. Bylo zjištěno 33% zvýšení zdánlivé viskozity, a o 15 % zvýšení konzistence, při senzoričném hodnocení. Tyto navýšení byly zdůvodněny faktem sekundární fermentace při skladování spojených se snížením pH [26].

## **2.8 Nepřímé stanovení počtu buněk MO kultivační metodou**

Kultivační stanovení počtu buněk se využívá pro kontrolu jakosti potravin v laboratořích potravinářského průmyslu, při mikrobiologických rozborech potravinářských surovin i hotových výrobků. Nejčastějším způsobem počítání buněk mikroorganismů pomocí kultivace je počítání vyrostlých viditelných makroskopických kolonií na agarových plotnách. Metoda je založena na předpokladu, že z jedné životaschopné buňky vyroste jedna kolonie. Jednotlivé kolonie jsou spočítány a přepočteny na 1 ml původního vzorku

Na stanovení počtu mikroorganismu (laktobacilů) nepřímou kultivační metodou je zapotřebí selektivní živné půdy – MRS živné médium. Principem analýzy je, že se do Petriho misek obsahujících živné médium, zaočkuje inokulum izolované ze vzorku. Takto připravené Petriho misky se nechají kultivovat po určitý čas a při určité konstantní teplotě v termostatu. Zaočkování inokula do agarového média se pro stanovení laktobacilů dělá přelitím potřebného objemu inokula (nejčastěji 1 ml) vytemperovaným agarem na cca 45 °C [38].

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Výběr mléka

Pro výrobu jogurtu bylo využito dvou druhů mléka. Bio nepasterované mléko plemene Jersey z mikro-farmy Bogarovo hospodářství s.r.o. a mléko trvanlivé Pragolaktos-3,5% plnotučné zakoupené v maloobchodním řetězci.

#### 3.2 Výběr jogurtové kultury

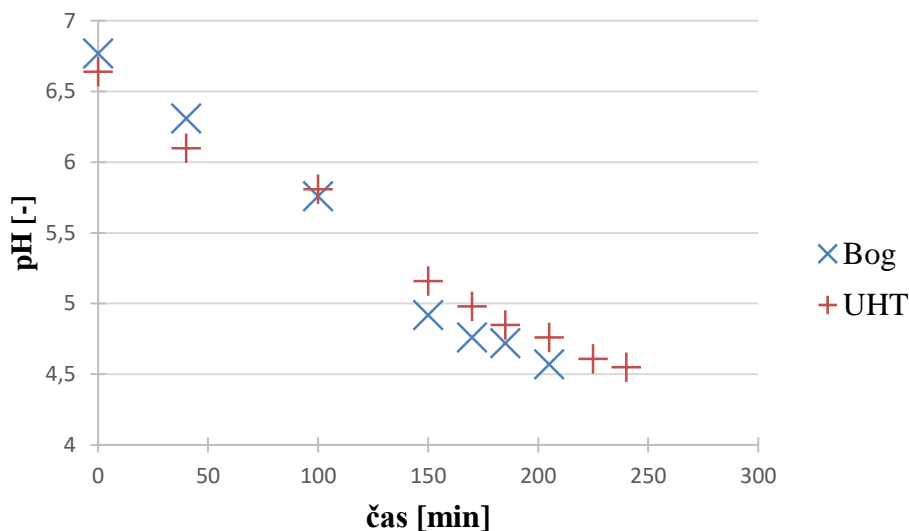
Jakožto startovací kultura byly zvoleny: Kultury pro přípravu pravého bulharského jogurtu pro domácí použití, sáček pro 1 – 5 l mléka s deseti opakovanými z Genesis Lab. Sofia, vyrobeného v Bulharsku.

Pro minimalizaci lag – fáze byl z této kultury za aseptických podmínek připraven jogurt (z UHT mléka), za stejných podmínek, které poté byly následně využity při fermentaci výsledného produktu. Takto připravené inokulum bylo připraveno den před výrobou jogurtu a uchováváno do zaočkování v lednici při 5 °C.

#### 3.3 Příprava jogurtu

Samotná příprava se odvíjela od specifických vlastností mléka. Po zaočkování mléka s předpřipravenou kulturou byla směs ponechána v termostatu bez míchání při 43 °C do dosažení požadovaného pH = 4,5, před kterou došlo k mírnému ochlazení. Následně byl produkt vytemperován a uskladněn při 5 °C v lednici.

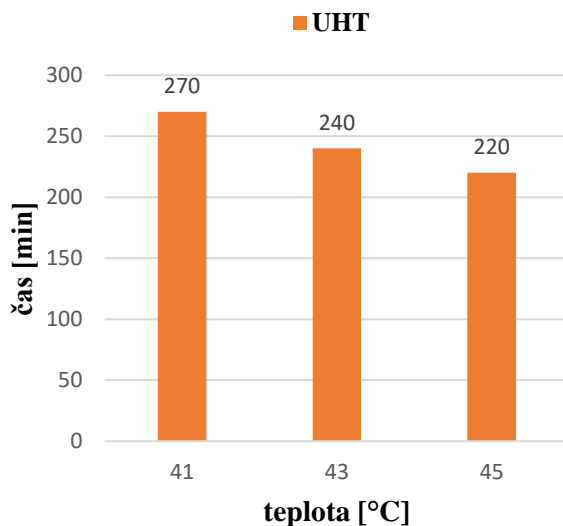
Na obrázku č. 4, lze pozorovat, že rychlost fermentace byla vyšší u vzorku nepasterovaného mléka oproti UHT mléku (při dodržení stejných podmínek kultivace), jelikož bylo dosaženo o 35 minut dříve pH, při kterém byl proces přípravy zastaven. Tento fakt, byl nejspíš způsoben počtem bakterií mléčného kvašení již přítomných v mléce, který dal společně se stejnou dávkou inokula vyššímu počtu MO na ml.



Obrázek 4 závislost pH na čase (při 43 °C) při přípravě jogurtu ze dvou typů mléka

Při výrobě jogurtu při různých podmínkách byly využity a potvrzeny informace získané při zpracování literární rešerše, např. vliv celkové sušiny [31] a teploty [25] na rychlost fermentace a výsledný produkt.

Využitím vyšších teplot v rozsahu optima uvedeného pro startovací kulturu vykazovala fermentace rychlejšího průběhu (viz obrázek č. 5) zároveň při vyšších teplotách byly získány produkty vykazující vyšší synerezi (vyšší množství oddělené syrovátky), tento parametr, avšak nebyl kvantifikován.



**Obrázek 5** Závislost doby fermentace pro dosažení  $pH = 4,5$  na teplotě procesu

Textura jogurtu byla analyzována za pomoci hodnotitelů při senzoričké analýze.

### 3.4 Příprava vzorku pro měření s využitím HPLC–RI

#### 3.4.1 Carrezovo vyčerení

0,5 ml vzorku mléka bylo smíseno s 0,5 ml (Milli-Q™) H<sub>2</sub>O ve zkumavce typu Eppendorf. Po promíchání bylo přidáno 25 μl Carrezova roztoku I (trihydrát hexakyanoželeznatodu draselného 15 g/100 ml), směs byla promíchána a následně bylo přidáno 25 μl Carrezova roztoku II (heptahydrát síranu zinečnatého 30 g/100 ml). Následně byla směs protřepána a vložena do centrifugy o 8000 otáčkách za minutu při 8 °C po 20 minut.

V případě stanovení vzorku jogurtu bylo 25 g vzorku smíseno s 25 g (Milli-Q™) H<sub>2</sub>O, ze kterého se napipetovalo 1 ml do zkumavky typu Eppendorf, následně se pokračovalo dle předchozího postupu.

#### 3.4.2 Filtrace supernatantu a ředění

Získaný supernatant byl zfiltrován přes 0,45 μm stříkačkový nylonový filtr. Pro samotné stanovení byl vzorek 10× naředěn, výsledné ředění bylo 20×.

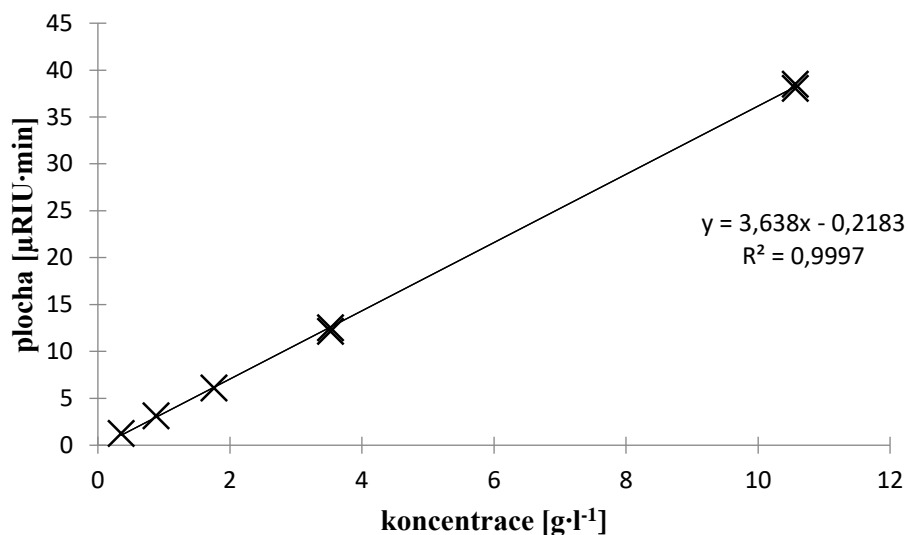
### 3.5 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s refraktometrickým detektorem (HPLC–RI)

#### 3.5.1 Chromatografické podmínky

typ kolony	Rezex – Phenomenex (ROA – organic acid OOH-0138-KO)
matrice	sulfonovaný styren divinylbenzen
velikost částic	8 mm
teplota kolony	60 °C
pumpa – tlak	35 bar
pumpa – objemový průtok	0,600 ml·min <sup>-1</sup>
mobilitní fáze	5mM kyselina sírová
detekce	RefractoMax 520 DIONEX Ultimate 3000
trvání měření	22 minut
objem vzorku	20 μl

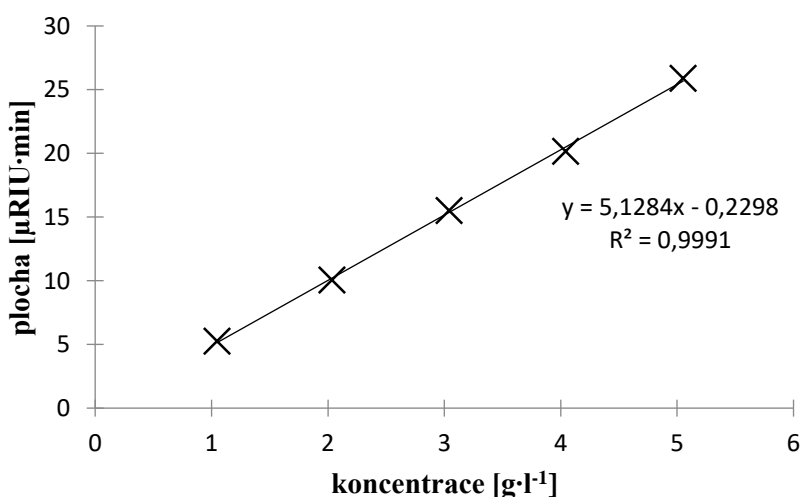
### 3.5.2 Kalibrace

Pro přípravu kalibračních roztoků kyseliny mléčné byla 80 % kyselina mléčná ředěna 10× (Milli-Q™) H<sub>2</sub>O. Takto naředěná kyselina byla ponechána hydrolyze ve zkumavkách s plastovým vodotěsným víkem při 85 °C po dobu 16 hodin, k získání pouze monomerů k. mléčné. Pro standardizaci této kyseliny byla využita potenciometrická titrace na hydroxid sodný (TA10<sup>plus</sup> SI Analytics). Hustota byla změřena pomocí pyknometru. Kalibrační křivka je uvedena na obrázku č. 6.

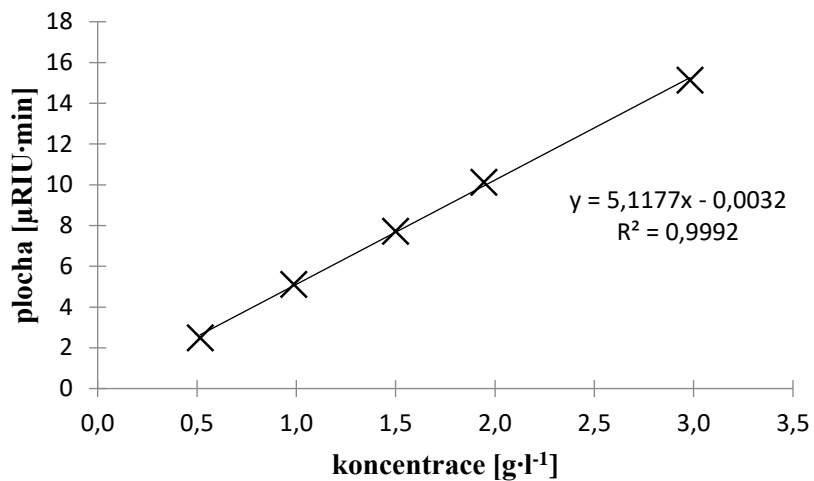


Obrázek 6 kalibrace – kyselina mléčná

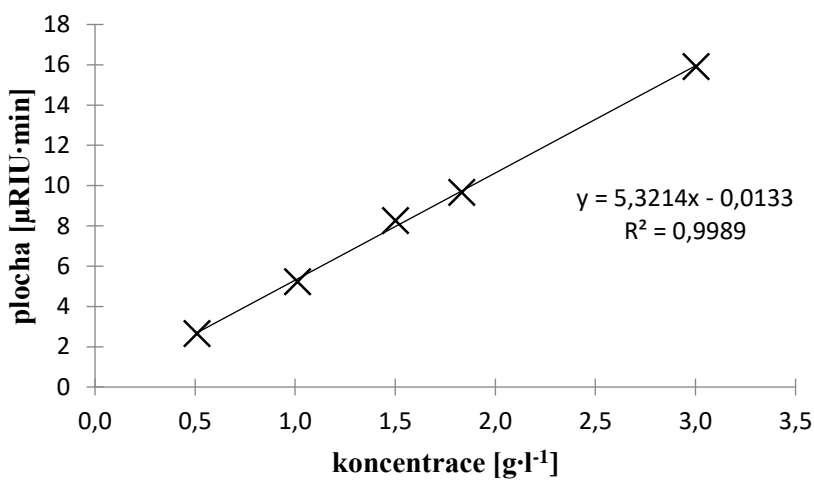
Pro přípravu kalibrační řady laktózy, glukózy a galaktózy byla navážka rozpuštěna v odměrné baňce a přepočtena na výslednou koncentraci. Jejich kalibrační křivky jsou uvedeny na obrázcích 7–9.



Obrázek 7 Kalibrační křivka – laktóza



**Obrázek 8** Kalibrační křivka – galaktóza



**Obrázek 9** Kalibrační křivka – glukóza

### 3.6 Stanovení sušiny

Pro stanovení sušiny mléka bylo využito vázkové stanovení. Podstatou této metody je sušení vzorku do konstantní hmotnosti při  $102\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ .

Do předem 1 h při dané teplotě vysušené a zvážené (s přesností na 0,1 mg) váženky s víčkem, se napipetovalo 3 ml vzorku a znova zvážilo. Bylo využito předsušení v sušárně při  $60\text{ °C}$  po dobu 30 minut. S následným sušením po 2 hodiny při  $102\text{ °C}$ . Po vychladnutí v exikátoru se váženky znova zvážily. Sušení se opakovalo tak dlouho, až se čtení nelišilo o více než 0,5 mg.

### 3.7 Nepřímé stanovení mikroorganismů

Pro kultivaci rodu *Lactobacillus* bylo využito médium Lactobacillus MRS Broth v množství 55,15 g na 1 l destilované vody. Pro kultivaci rodu *Streptococcus* bylo využito médium M17 Agar base v množství 48,25 g na 950 ml destilované vody. Média a 10% roztok Laktózy byla po vysterilizování ochlazená na  $45\text{--}50\text{ °C}$ . Poté se v poměru 1:19 přidal asepticky roztok laktózy do M17 média. Složení obou médií je uvedeno v tabulce č. 4. Do Petriho misek se vzorkem o daném ředění se přelilo médium. Po ztuhnutí média byl využit i druhý přeliv (stejným médiem) pro vytvoření anaerobních podmínek jak pro Laktobacily, tak pro Streptokoky. Kultivace proběhla v termostatu o teplotě  $37\text{ °C}$ .

**Tabulka 4** Výsledné složení kultivačního média

M17 Agar Base bez laktózy	výsledná koncentrace [g·l <sup>-1</sup> ]	Lactobacillus MRS Broth	výsledná koncentrace [g·l <sup>-1</sup> ]
enzymatický hydrolyzát kaseinu	5,00	proteosový pepton	10,00
sojový pepton	5,00	hovězí extrakt	10,00
hovězí extrakt	5,00	kvasničný extrakt	5,00
kvasničný extrakt	2,50	dextrosa	20,00
kyselina askorbová	0,50	polysorbát 80	1,00
β-glycerofosforečnan (disodný)	0,25	citran amonný	2,00
agar	19,00	octan sodný	5,00
		síran hořečnatý	0,10
+Laktóza (10% – 50 ml)	5,00	síran manganatý	0,05
		hydrogenfosforečnan (didraselný)	2,00

## 3.8 Senzorická analýza

### 3.8.1 Vzorky jogurtu pro senzorickou analýzu

Při senzorické analýze byly podávány 4 vzorky jogurtů (tabulka č. 5). Dva vzorky byly připraveny z nepasterovaného mléka (označení Bog), přičemž smetanová verze obsahovala extra oddělenou smetanu z husté verze a byla jemně promíchána. Zbylé dva jogurty byly zakoupeny v obchodním řetězci.

**Tabulka 5** Využité vzorky jogurtu a jejich označení

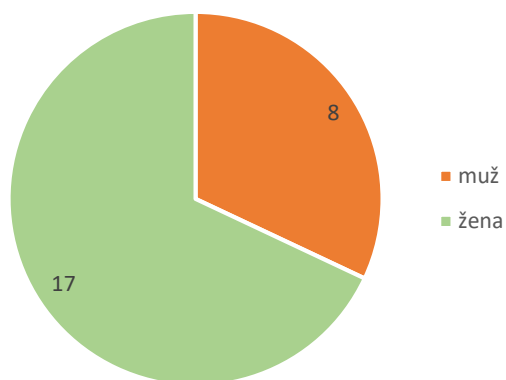
celý název výrobku	zkratka názvu
Selský jogurt bílý, Hollandia	Hollandia
Smetanový jogurt bílý, Kunín	Kunín – Smetanový
Jogurt z nepasterovaného mléka hustý – domácí produkce	Bog – Hustý
Jogurt z nepasterovaného mléka s přidanou smetanou míchaný – domácí produkce	Bog – Smetanový

### 3.8.2 Dotazník senzorické analýzy

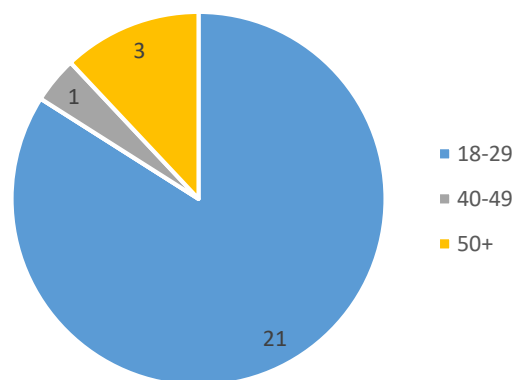
Senzorickou analýzu hodnotitelé provedli podle dotazníku uvedeném v příloze.

### 3.8.3 Složení hodnotitelské komise

Senzorické analýzy se zúčastnilo 25 hodnotitelů. Z toho 8 mužů a 17 žen. Téměř všichni posuzovatelé byli studenti, nebo zaměstnanci fakulty chemické. 84 % účastníků bylo ve věku od 18–29 let.



**Obrázek 10** Pohlaví

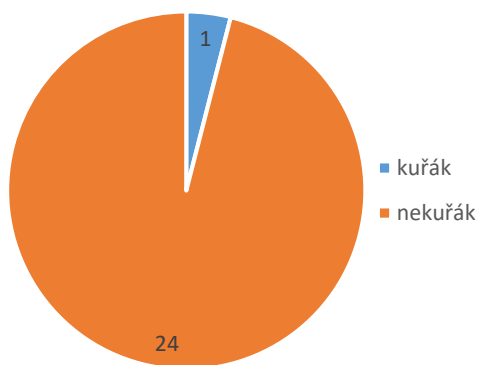


**Obrázek 11** věková kategorie

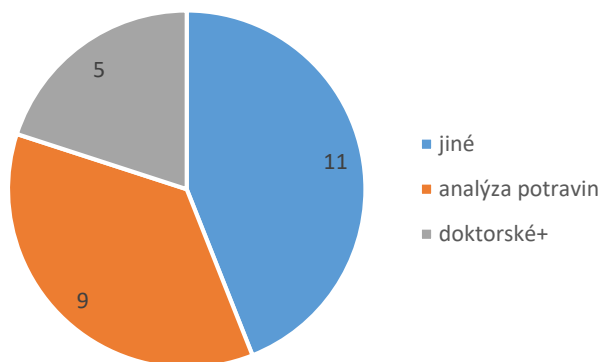
Co se kvalifikace účastníků pro hodnocení týče. 9 studentů již bylo absolventem předmětu senzorická analýza potravin, 11 hodnotitelů uvedlo jinou nebo žádnou kvalifikaci, lze je tedy zařadit do skupiny spotřebitelů.

96 % hodnotitelů bylo nekuřáky, což je z hlediska kvality smyslů pro senzorickou analýzu dobře.





**Obrázek 12** *Jste kuřákem?*



**Obrázek 13** *kvalifikace*

Pro vyhodnocení bylo využito všech 25 vyplněných dotazníků.

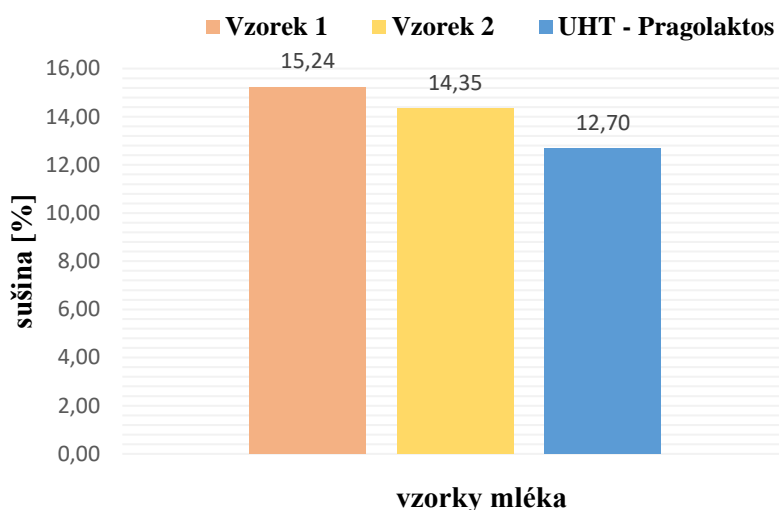
## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 4.1 Stanovení parametrů mléka

#### 4.1.1 Celková sušina v mléce

Pro měření byly využity dva vzorky mléka od dvou různých krav z mikrofarmy a jeden vzorek plnotučného UHT mléka – Pragolaktos.

Celková sušina byla u vzorků mléka z mikrofarmy v průměru 14,8 % a u UHT mléka 12,7 %, jak lze vidět na obrázku č. 14.



Obrázek 14 Množství sušiny

Všechna naměřená data jsou uvedena v příloze v tabulce č. 8.

#### 4.1.2 Mikrobiální rozbor mléka

Tabulka 6 Kultivace streptokoků na M17 médiu

<i>Streptococcus</i> – ředění ( $10^{-2}$ )	počet kolonií		CFU·ml <sup>-1</sup>
Bog-1	54	41	$4,75 \cdot 10^3$
Bog-2	46	38	$4,20 \cdot 10^3$

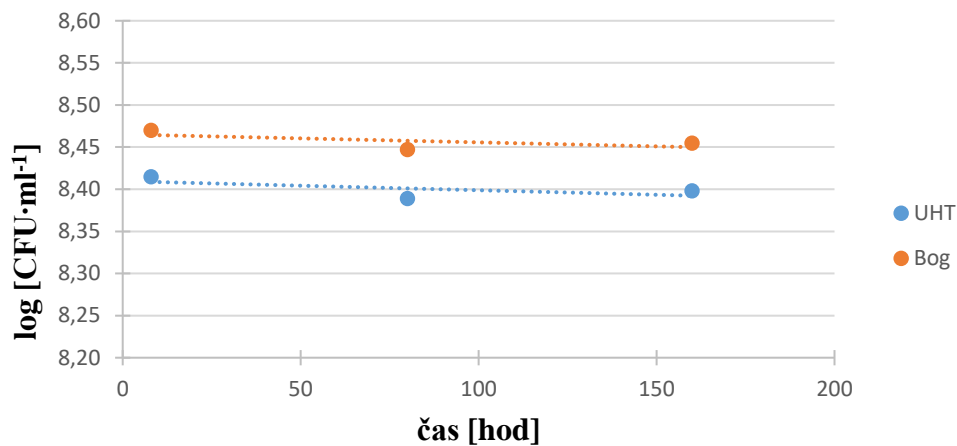
Tabulka 7 Kultivace laktobacilů na MRS médiu

<i>Lactobacillus</i> – ředění ( $10^{-2}$ )	počet kolonií		CFU·ml <sup>-1</sup>
Bog-1	102	112	$1,07 \cdot 10^4$
Bog-2	123	158	$1,41 \cdot 10^4$

Celkový průměrný obsah laktobacilů a streptokoků v 1 ml nepasterizovaného 1 den starého mléka byl  $1,69 \cdot 10^4$ . Při měření UHT nebyl pozorován vznik žádné kolonie, ani při ředění  $10^{-1}$ .

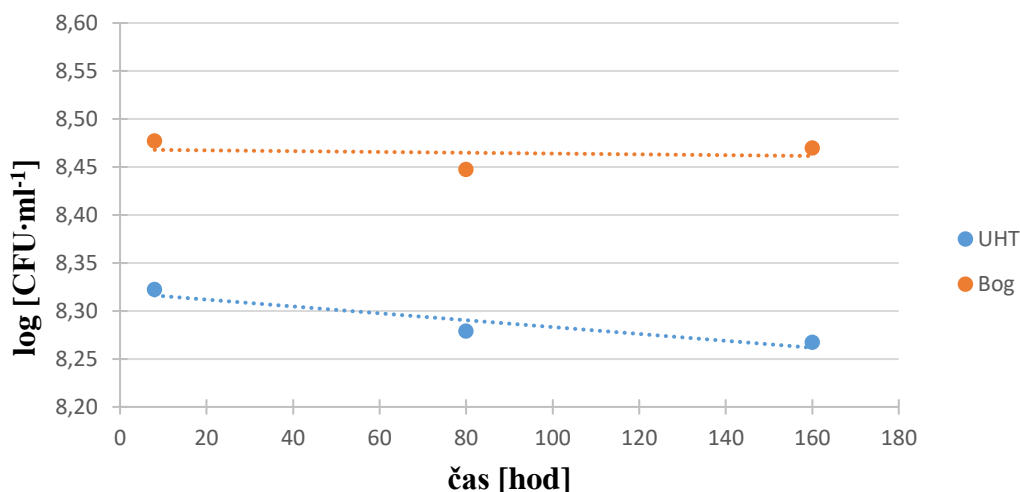
## 4.2 Mikrobiální rozbor jogurtu

Při stanovení počtu laktobacilů (obrázek č. 16) a streptokoků (obrázek č. 15) bylo naměřeno stabilně minimálně  $10^8$  zástupců u obou rodů na 1 ml jogurtu. V případě jogurtu z nepasterovaného mléka bylo množství laktobacilů stejné jako u streptokoků. UHT jogurt vykazoval vyšší počty streptokoků nad laktobacily.



**Obrázek 15** množství streptokoků v závislosti na čase

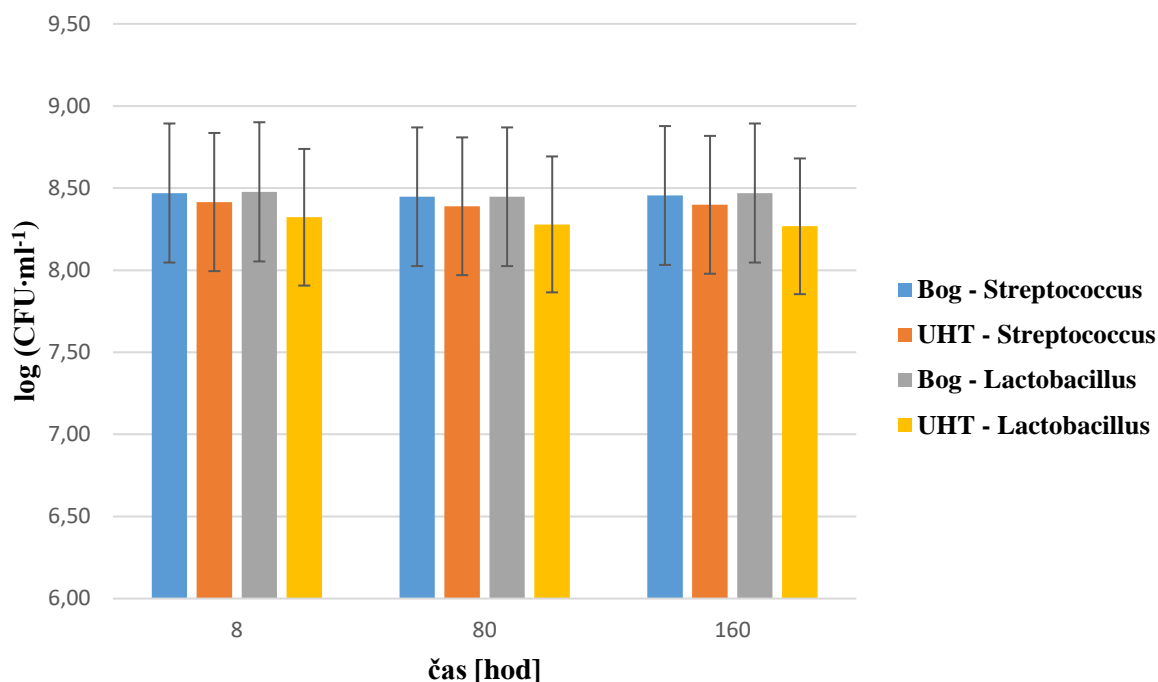
U obou grafů lze pozorovat, že vyšších počtů MO dosahoval jogurt z nepasterovaného mléka, to by vysvětlovalo o 2 % vyšší počet sušiny, které oproti UHT mléku tento vzorek obsahoval. MO měly k dispozici více nutrientů potřebných pro růst.



**Obrázek 16** množství laktobacilů v závislosti na čase

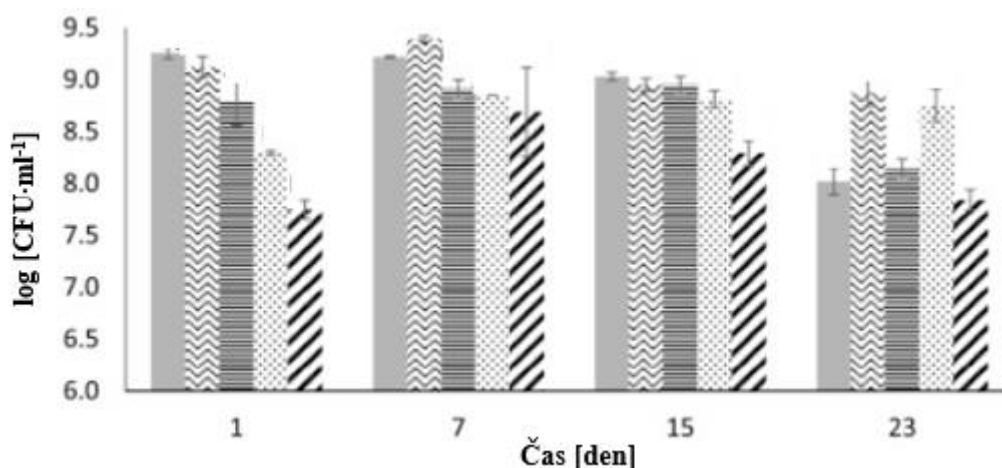
Je také možné, že velkou roli sehrál již přítomný počet živých MO v mléce na výsledek fermentace. Tuto hypotézu potvrzuje také fakt, že k ukončení fermentace snížením teploty (při pH 4,5) bylo prováděno v průměru o hodinu dříve než u UHT jogurtu.

Přestože z dat byly patrné mírné tendence poukazující na pokles živých MO v závislosti na 7denním skladování. Statisticky nedocházelo k žádným významným změnám (obrázek č. 17). U jogurtu tedy nedocházelo k žádným úbytkům, co se týče počtu MO schopných vytvořit kolonii na agarovém médiu.



**Obrázek 17**  $CFU \cdot ml^{-1}$  laktobacilů a streptokoků v závislosti na čase u dvou typu jogurtu

Pro porovnání je zde uveden taktéž sloupcový graf (obrázek č. 18), kdy byly porovnávány počty jak laktobacilů, tak streptokoků v závislosti na 23denním skladování. Jejich kontrolní pokus při 0,1MPa dosahoval vyššího počtu obou rodů MO a to v řádu  $10^9$ . Do sedmi dnů skladování nepozorovali změny, mezi 7 a 15 došlo k mírnému poklesu, mezi 15 a 23 dnem však došlo k významnému poklesu. [39]



**Obrázek 18** Množství *S. thermophilus* (zleva 0,1 MPa, 10 MPa, 20 MPa, 30MPa, 40MPa) v závislosti na skladování (při 8 °C)[39]

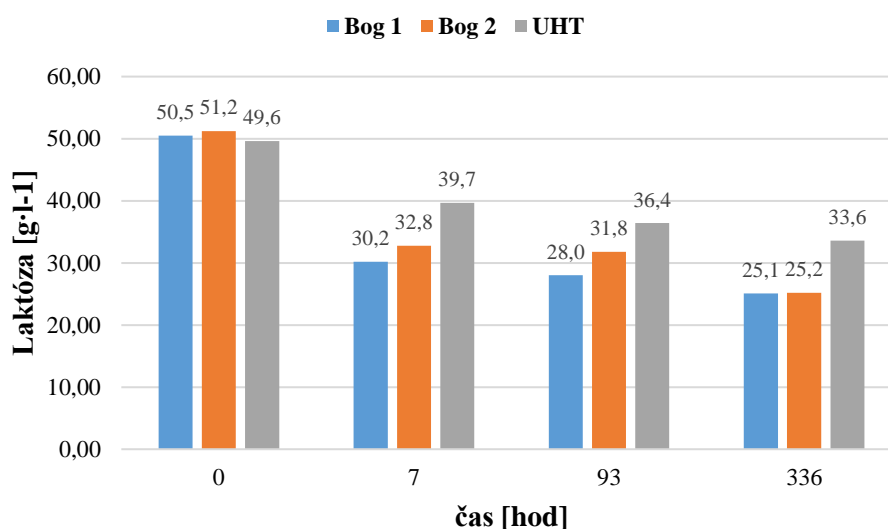
## 4.3 Stanovení laktózy, glukózy, galaktózy a kyseliny mléčné – HPLC

### 4.3.1 Stanovení laktózy

Při stanovení laktózy byla u reálných vzorků pozorována eluce látky o retenčním čase blízkém laktózy. Byla schopná absorbovat UV záření, látku se nepodařilo identifikovat. V rozhraní programu Chromeleon 7 pak byly píky laktózy manuálně integrovány. Plně neseparovaný pík neznáme látky od laktózy lze pozorovat na obrázku 45.

Na obrázku č. 19 je uveden pokles laktózy v závislosti na čase. Čas 0 reprezentuje množství laktózy v mléce, koncentrace laktózy v UHT mléce byla naměřena na  $(49,6 \pm 0,8) \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ , výrobce na obalu uvádí koncentraci sacharidů  $47 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Tento rozdíl může být dán chybou při integraci píků, anebo nepřesným ředěním při měření.

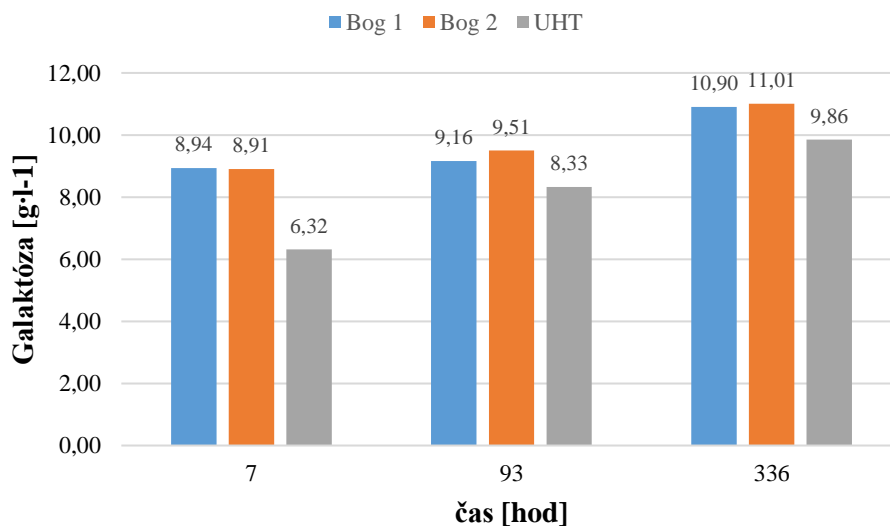
V grafu lze dále pozorovat vyšší pokles laktózy u vzorku farmářského mléka, tento pokles může být způsoben přítomností i dalších MO, než ze kterých se skládala startovací kultura (předpokládaný výskyt: např. *Lactobacillus acidophilus*). Dále lze pozorovat rychlejší průběh fermentace u jednoho vzorku farmářského mléka oproti druhému, tento rozdíl byl z důvodu odlišné kompozice mléka u různých jedinců stáda.



**Obrázek 19** Koncentrace laktózy před přípravou a po přípravě a v závislosti na skladování

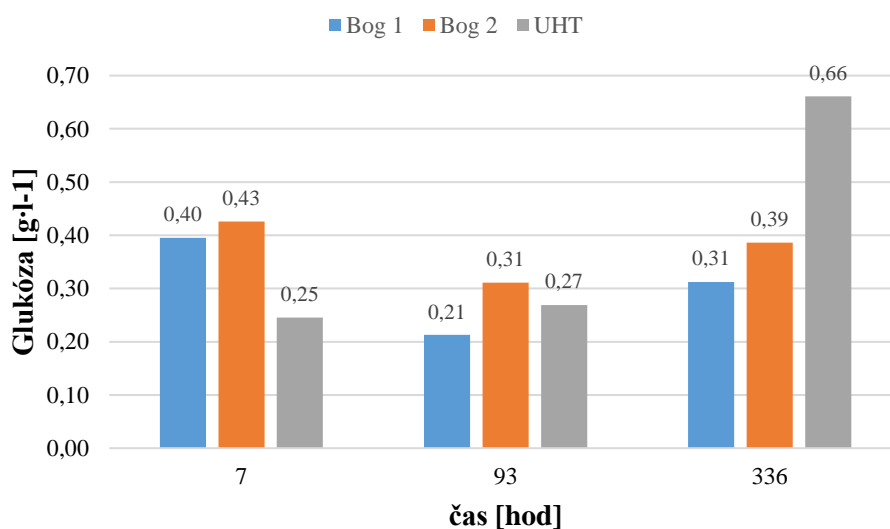
### 4.3.2 Stanovení galaktózy a glukózy

Stanovení galaktózy a glukózy bylo důležitým parametrem pro studium přípravy jogurtu. Vzorky mléka neobsahovaly galaktózu ani glukózu, což svědčí o minimální aktivitě laktázy i ve vzorku nepasterizovaného mléka. Ve vzorcích jogurtů byla galaktóza (obrázek č. 20) pozorována v koncentracích daleko převyšující koncentraci glukózy (obrázek č. 21). To svědčí o preferenci glukózy jakožto substrátu.



**Obrázek 20** Koncentrace galaktózy po přípravě jogurtu v závislosti na skladování

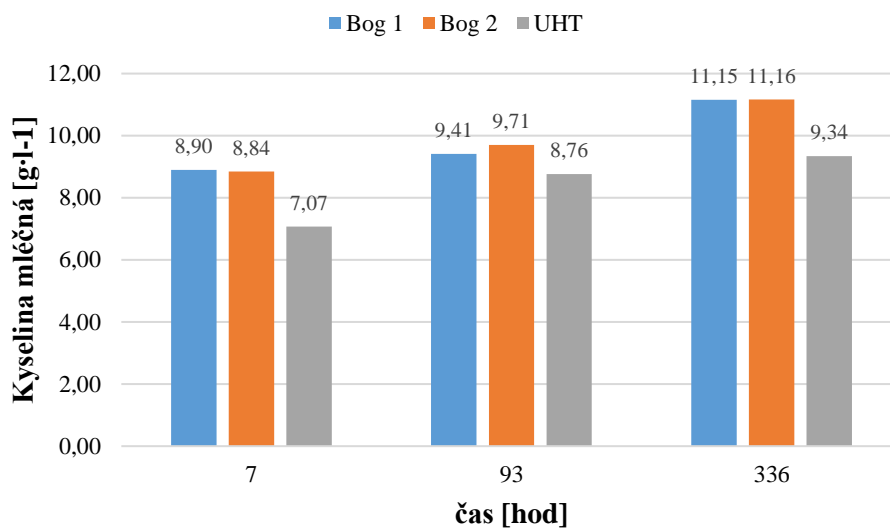
Koncentrace glukózy kolísala při skladování. Hlavní zaznamenaná odchylka byla ve čtrnáctý den skladování u UHT jogurtu, kdy bylo dosaženo hodnoty  $0,66 \pm 0,04 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ .



**Obrázek 21** Koncentrace glukózy po přípravě jogurtu v závislosti na skladování

### 4.3.3 Stanovení kyseliny mléčné

Obsah kyseliny mléčné (obrázek č. 22), od ukončení přípravy jogurtu po čtrnáctý den skladování, v průměru stoupl o  $2,29 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  u vzorku farmářského mléka. V případě UHT mléka o  $2,27 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Při skladování tedy došlo k sekundární fermentaci a další acidifikaci. Hodnota pH pak byla ve vzorku z UHT mléka 4,20 a u farmářského mléka 4,03 v průměru.

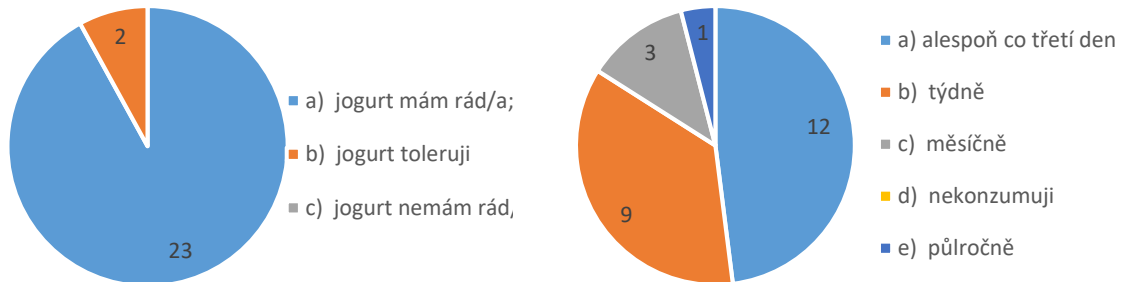


**Obrázek 22** Koncentrace kyseliny mléčné po přípravě jogurtu v závislosti na skladování

## 4.4 Senzorická analýza

### 4.4.1 Vyhodnocení dotazníku

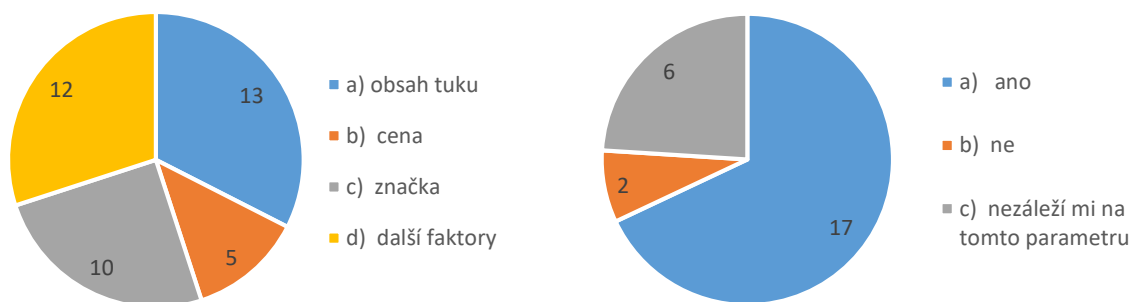
Z celkových 25 hodnotitelů 23 uvedlo, že jogurt mají rádi (obrázek č. 23). 12 účastníků uvedlo, že jogurt konzumují minimálně každý třetí den (obrázek č. 24). Jogurt je tedy velmi významnou potravinou podílející se na složení stravy vzorku hodnotitelů.



**Obrázek 23** Jaký je Váš vztah k jogurtům? **Obrázek 24** Jak často konzumujete jogurt?

Mezi nejvýznamnější kritérium při výběru jogurtu patřil obsah tuku a značka. (obrázek č. 25) V menší míře šlo hodnotitelům o cenu výrobku. V dalších kritériích hodnotitelé uváděli, že pro ně dle jejich osobních preferencí hraje roli, jak příchut', tak i naopak nepřítomnost aditiv, celkový obsah sacharidů, původ jogurtu (například pouze domácí).

Naprostá většina hodnotitelů (68 %) upřednostňuje jogurty s vyšším obsahem tuku, oproti těm s nižším podílem, důvodem může být jak chutnost krémovějšího výrobku, tak i současné dietární znalosti širší veřejnosti o skutečném vlivu nasycených tuků na lidské zdraví (obrázek č. 26).

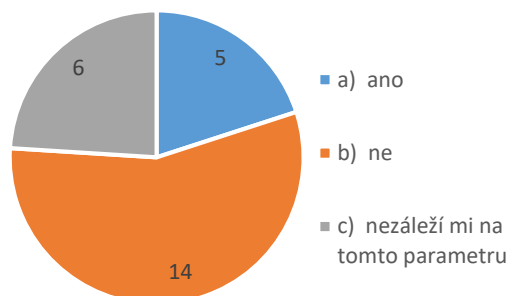
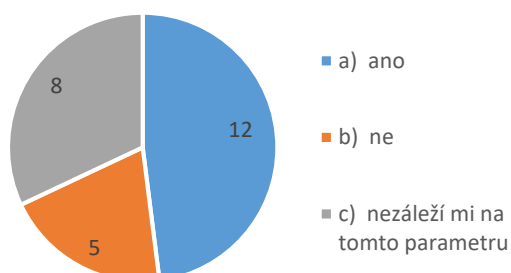


**Obrázek 25** Významná kritéria

**Obrázek 26** Upřednostňujete vyšší podíl tuku?

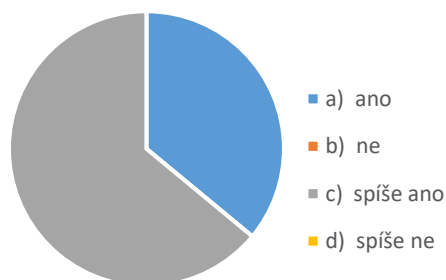
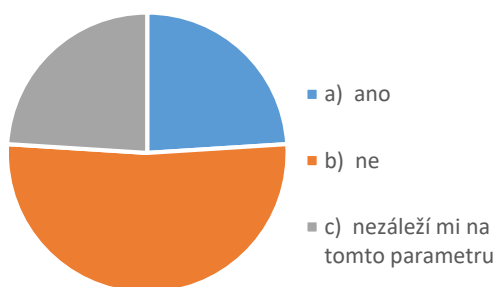


48 % hodnotitelů upřednostňuje gelovou strukturu výrobku (obrázek č. 27) a zároveň 56 % hodnotitelů nevyhledává kyselější chuť. (obrázek č. 28)



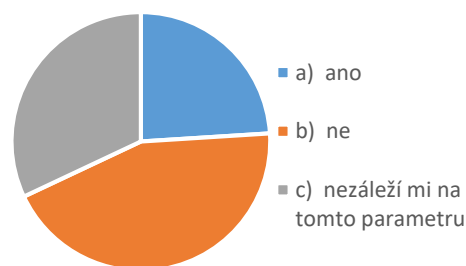
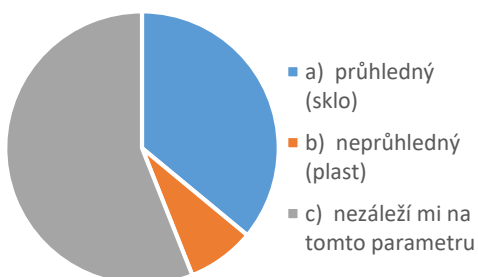
**Obrázek 27** *Upřednostňujete gelovější strukturu?* **Obrázek 28** *Upřednostňujete kyselější chuť?*

52 % hodnotitelů uvedlo, že jim nevadí, pokud se z jogurtu odděluje syrovátka (obrázek č. 29). Co se zdravotního aspektu týče, všichni hodnotitelé uvedli, že by si byli ochotni připlatit za výrobek, u kterého by očekávali zdravotní přínos (obrázek č. 30)



**Obrázek 29** *Vadí Vám, pokud se z jogurtu odděluje syrovátka?*

**Obrázek 30** *Koupili byste si jogurt za vyšší cenu, než je běžné, pokud byste věřili, že by měl mít pro Vás zdravotní přínos?*



**Obrázek 31** *Jaký preferujete obal jogurtového výrobku?*

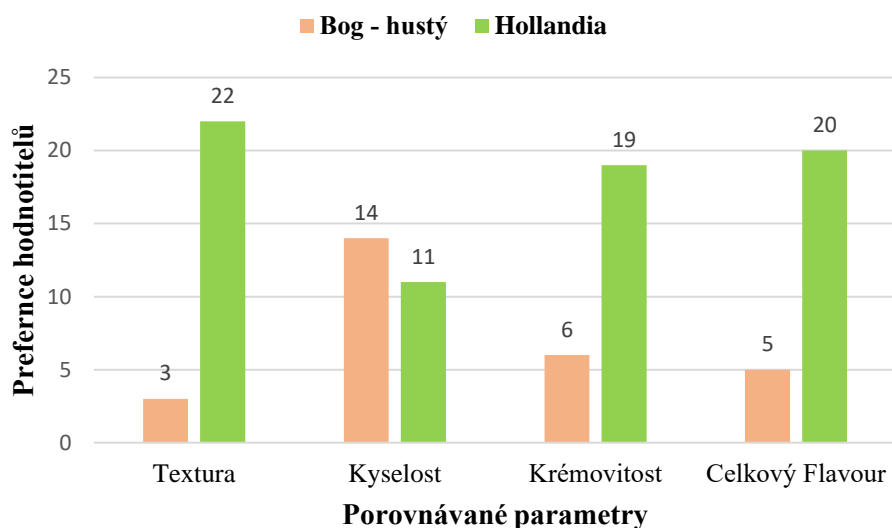
**Obrázek 32** *Vadí Vám přísady v bílém jogurtu jako například sušené mléko/mléčná bílkovina*

Hodnotitelé taktéž uvádí, že v 56 % jim nezáleží na typu obalu výrobku. Pokud si však vybrali, preferovali průhledné (skleněné) obaly (obrázek č. 31). Majoritě (44 %) hodnotitelů, nevadí přísady v bílém jogurtu (obrázek č. 32).

#### 4.4.2 Vyhodnocení párových porovnávacích testů

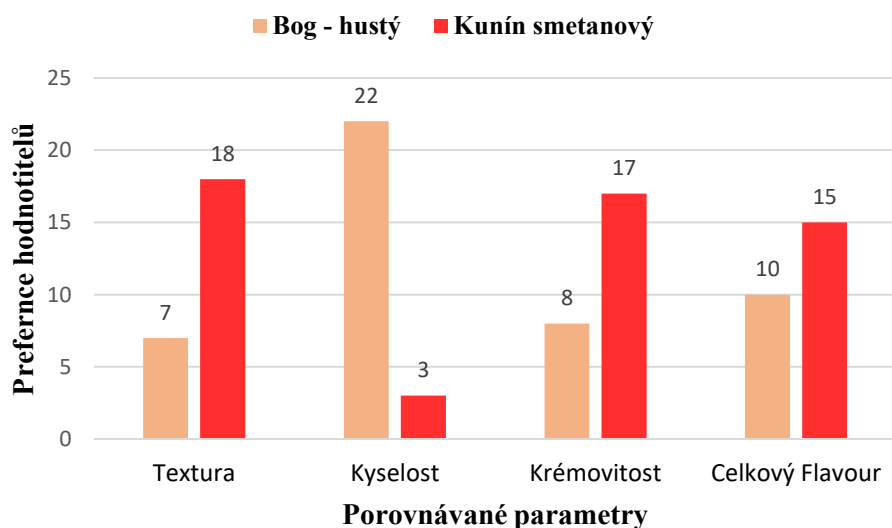
Pro 25 hodnotitelů je při 95 % pravděpodobnosti potřeba 18 stejných odpovědí, aby mohl být vyvozen závěr, že existuje vnímatelný rozdíl na základě jednostranného párového testu.

Při porovnání Hollandie a Bog – hustý (obrázek č. 33), došlo u tří kritérií k statisticky významné shodě, tedy textura, krémovitost, i celková chuť byla zhodnocena jako vyšší u Hollandie, při porovnávání kyselosti není prokázán statisticky významný rozdíl. Vzhledem vysoké porovnatelnosti těchto dvou výrobků, je bezpečné tvrdit, že Hollandie je lepší produkt.



**Obrázek 33** párový porovnávací test Bog – hustý a Hollandia

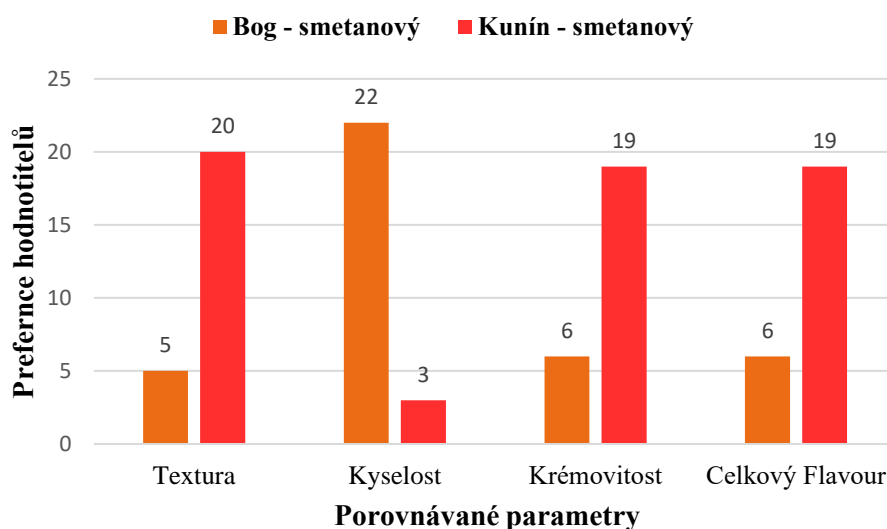
Bog – hustý, byl při porovnání se smetanovým Kunínem (obrázek č. 34) prokazatelně kyselější, zároveň s horší texturou. Rozdíl v krémovitosti byl pro  $\alpha=0,05$ , neprokázán.



**Obrázek 34** párový porovnávací test Bog – hustý a Kunín – smetanový

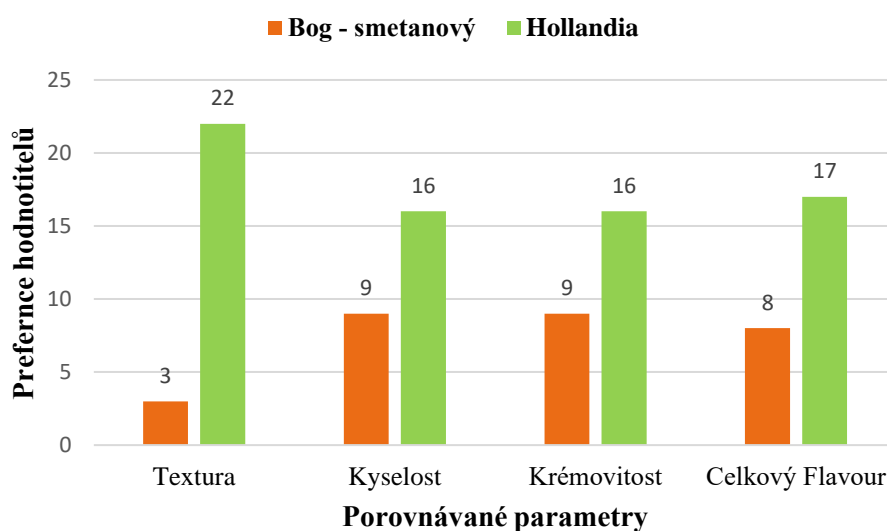
Ovšem při porovnání Bog – smetanový a Kunín – smetanový (obrázek č. 35), došlo ke statisticky významné shodě ve všech kritériích. Lepší výrobek je tedy Kunín – smetanový.

Zajímavé je, že Bog – smetanový dosáhl v porovnání se standardem (Kunín-smetanový) menší krémovitosti, než Bog – hustý. Vzhledem k povaze výrobku Bog – smetanový, který byl velmi řídký, lze předpokládat, že u něj hodnotitelé předpokládali menší tučnost, kterou poté i zaznamenali.



**Obrázek 35** párový porovnávací test Bog – smetanový a Kunín – smetanový

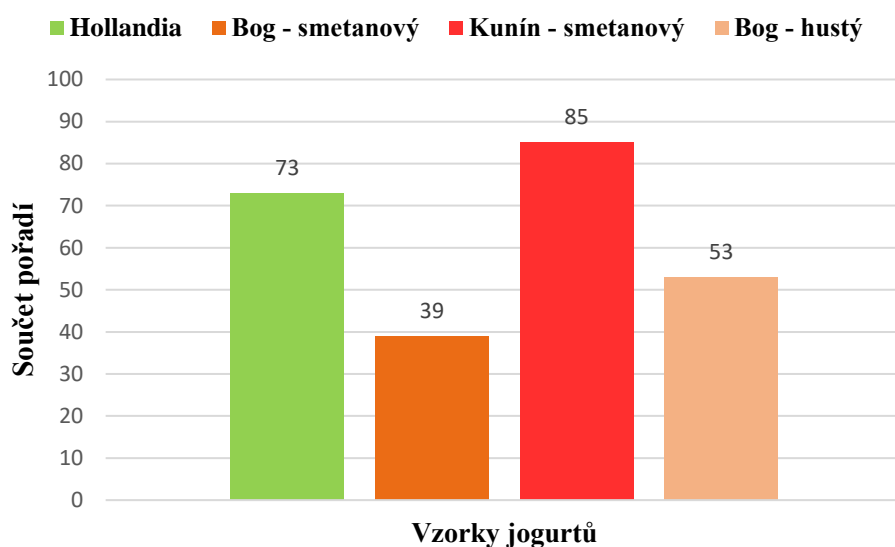
Při srovnání Bog – smetanový a Hollandie (obrázek č. 36), lze jednoznačně určit, že Hollandie má lepší texturu. Při porovnání Bog – jogurtů s Hollandií, vychází lépe s celkovou chutí Bog – smetanový oproti husté verzi (o 3 preference), což je překvapivé, jelikož při pořadovém testu dopadl na posledním místě.



**Obrázek 36** párový porovnávací test Bog-smetanový a Hollandia

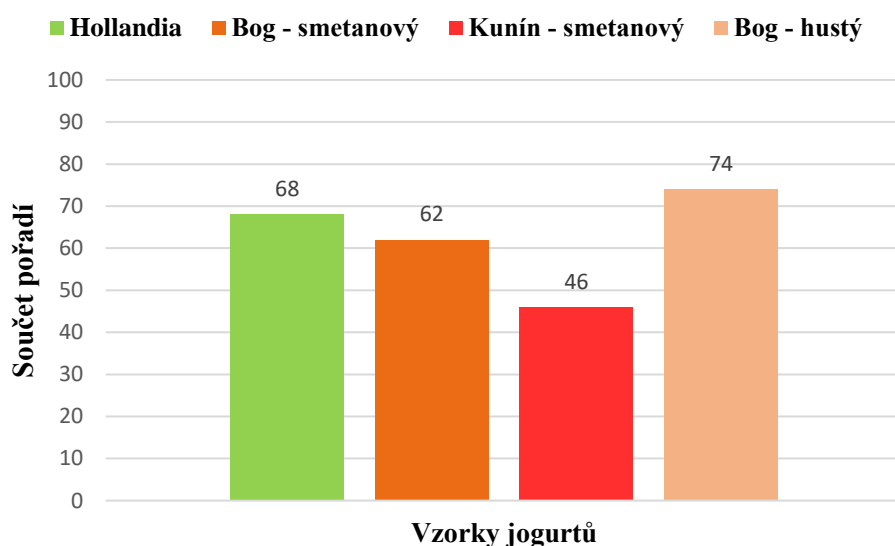
### 4.4.3 Pořadový test

Při vyhodnocení pořadových testů podle Kramera je při počtu 25 hodnotitelů a pravděpodobnosti 95 % kritický interval 53 – 72. Parametr, který dosáhl hodnoty součtu pořadí pod 53, lze označit jako významně horší, zatímco parametr o celkovém součtu pořadí vyšší jak 72, lze považovat za významně lepší.



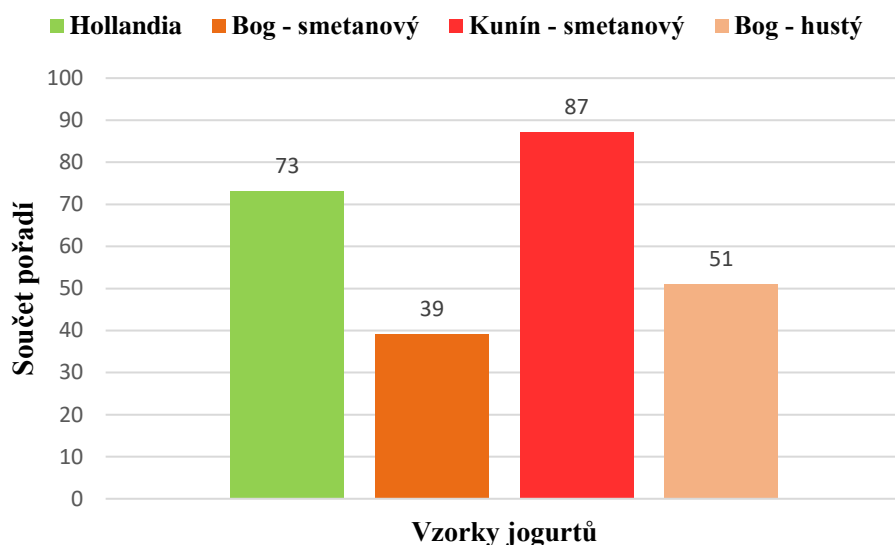
Obrázek 37 pořadový test pro parametr: textura

Při prvním porovnávání parametru – textuře (obrázek č. 37), lze bezpečně říct, že komerčně vyráběné jogurty dosáhly vynikajících výsledků a jejich textura byla v porovnání s testovanými jogurty významně lepší. Struktura Bog – smetanový vyšla dle předpokladu jako nejhorší z důvodu jeho neviskózní tekutosti, způsobené mnoha faktory, včetně přílišného rozmíchání výrobku před servírováním.



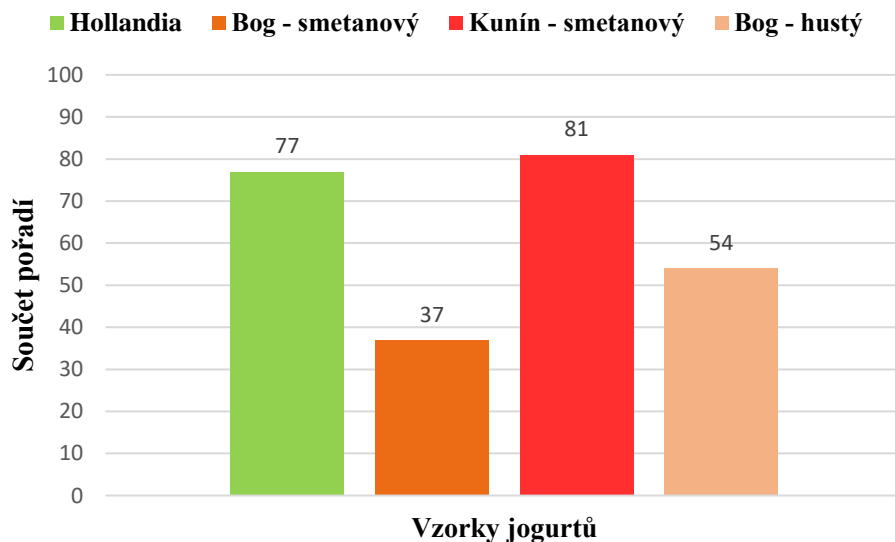
Obrázek 38 pořadový test pro parametr: kyselost

Při sledování parametru kyselosti (obrázek č. 38), vyšel jakožto se statisticky nejnižší kyselostí jogurt Kunín – Smetanový, tento výrobek taktéž dosáhl nejvyššího součtu pořadí u stanovení celkového chuti. Nekyselost byla pro konzumenty velmi významným parametrem, pozitivně ovlivňující jejich náklonost k tomuto výrobku.



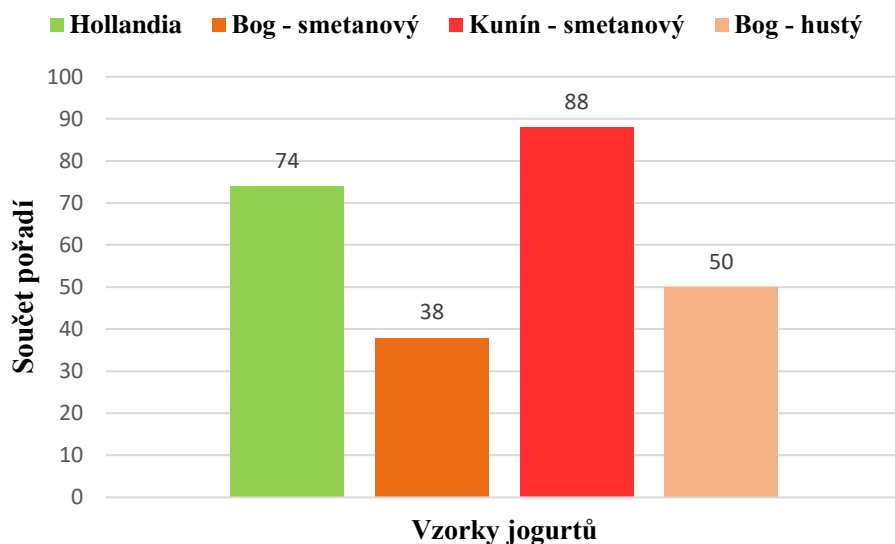
**Obrázek 39** pořadový test pro parametr: krémovitost

Při sensorickém stanovení krémovitosti (obrázek č. 39) je zajímavé, že hodnotitelé hodnotili Bog – Smetanový jako méně krémovitý oproti husté verzi, přestože oddělená smetana z mléka pro výrobu husté verze, byla využita pro smetanovou verzi, a tedy obsahovala vyšší % tuku.



**Obrázek 40** pořadový test pro parametr: celková chuť/flavour

Při stanovení celkové chuti (obrázek č. 40) byly komerčně vyrobené jogurty vyhodnoceny jako nejlepší, Bog – smetanový skončil na posledním místě se statisticky prokazatelnou pravděpodobností.



**Obrázek 41** pořadový test pro parametr: vizuální hodnocení

Při sledování vzhledu jogurtového výrobku (obrázek č. 41) dopadly komerční jogurty opět jako významně lepší. V případě připravených jogurtů lze předpokládat značné množství oddělené syrovátky u Bog – Hustý, jako hlavní parametr nízkého hodnocení. Ještě hůře však hodnotitelé brali výrobek, který byl sice homogenní, za to ale plně tekutý, jak tomu bylo v případě Bog – Smetanový.

## 5 ZÁVĚR:

Cílem této diplomové práce byla příprava jogurtu a studium procesu jeho přípravy, ale i změn při skladování. Mezi sledované parametry patřil obsah laktózy, glukózy, galaktózy a kyseliny mléčné pomocí HPLC. Dále byl sledován počet bakterií mléčného kvašení. Na závěr byl pak experimentálně připravený jogurt porovnáván sensorickou analýzou s komerčně dostupnými produkty.

Pro přípravu jogurtu byl využit postup, při kterém byla fermentace (při 43 °C) zastavena při pH = 4,5 zchlazením na 5 °C, přičemž čas fermentace byl individuální pro každý vzorek mléka.

Obsah laktózy ve vzorku UHT mléka byl v průměru  $49,6 \pm 0,8 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ , po fermentaci jogurt obsahoval  $39,7 \pm 0,7 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . V případě farmářského mléka (2 vzorky ze dvou krav) byl průměrný obsah laktózy ve mléce  $50,9 \pm 0,9 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ , po fermentaci se obsah laktózy snížil na  $31,5 \pm 1,51 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Po čtrnácti dnech byl obsah laktózy  $33,6 \pm 0,65 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  u UHT mléka, přičemž pH kleslo sekundární fermentací na 4,20. V případě farmářského jogurtu došlo k poklesu na  $25,1 \pm 1,2 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$  a pH = 4,04.

Skladování mělo tedy větší efekt na jogurt z nepasterizovaného mléka, to mohlo být způsobeno vyšší sušinou farmářského mléka  $14,79 \pm 0,48 \%$  oproti UHT mléku  $12,70 \pm 0,02 \%$ , dále také mohla mít vliv přítomnost mikroflóry, jelikož součet laktobacilů a streptokoků ve vzorku nepasterizovaného farmářského mléka byl  $1,69 \cdot 10^4 \text{ CFU}\cdot\text{ml}^{-1}$ , ve vzorku UHT mléka nebyla pozorována žádná kontaminace.

Při stanovování glukózy a galaktózy, bylo pozorováno, že zatímco množství galaktózy narůstalo, hladina glukózy byla konstantně nízká. Bylo tedy potvrzeno, že glukóza je preferovaným substrátem pro utilizaci.

Při sensorické analýze dosáhly komerční jogurty u většiny parametrů statisticky významně lepších výsledků. První místo na žebříčku v parametru celkové chuti obsadil jogurt Kunín – smetanový. Přestože míchaná verze Bog – jogurtu obsahovala více smetany než hustá verze, skončila na poslední příčce. Hlavním důvodem byla naprostá tekutost, bez žádné textury.

## 6 ZDROJE

- [1] PEREIRA, Paula c., 2014. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition* [online]. Elsevier, **30**(6), 619-627 [cit. 2019-01-08]. DOI: 10.1016/j.nut.2013.10.011. ISSN 0899-9007. Dostupné z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0899900713004607>
- [2] URUAKPA, F.o;ismond, 2002. Colostrum and its benefits: a review. *Nutrition Research* [online]. Elsevier, **22**(6), 755-767 [cit. 2019-01-08]. DOI: 10.1016/S0271-5317(02)00373-1. ISSN 0271-5317. Dostupné z: <https://www.sciencedirect-com/science/article/pii/S0271531702003731>
- [3] KALAČ, Pavel, 2011. The effects of silage feeding on some sensory and health attributes of cow's milk: A review. *Food Chemistry* [online]. Elsevier, **125**(2), 307-317 [cit. 2019-01-09]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.08.077. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0308814610011477>
- [4] MAURICE-VAN EIJDHOVEN, M.h.t., H. BOVENHUIS, H. SOYEURT a M.p.l. CALUS, 2013. Differences in milk fat composition predicted by mid-infrared spectrometry among dairy cattle breeds in the Netherlands. *Journal of Dairy Science* [online]. Elsevier, **96**(4), 2570-2582 [cit. 2019-04-21]. DOI: 10.3168/jds.2012-5793. ISSN 0022-0302. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0022030213000696>
- [5] MAURICE-VAN EIJDHOVEN, M.h.t., S.j. HIEMSTRA a M.p.l. CALUS, 2011. Short communication: Milk fat composition of 4 cattle breeds in the Netherlands. *Journal of Dairy Science* [online]. Elsevier, **94**(2), 1021-1025 [cit. 2019-04-21]. DOI: 10.3168/jds.2009-3018. ISSN 0022-0302. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S002203021100049X>
- [6] HAUG, A;hostmark, 2007. Bovine milk in human nutrition - a review. *Lipids In Health And Disease* [online]. BIOMED CENTRAL, **6** [cit. 2019-01-09]. DOI: 10.1186/1476-511X-6-25. ISSN 1476-511X. Dostupné z: <https://link-springer-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/article/10.1186/1476-511X-6-25>
- [7] VILLA, Caterina;costa, 2018. Bovine Milk Allergens: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. **17**(1), 137-164 [cit. 2019-01-08]. DOI: 10.1111/1541-4337.12318. ISSN 1541-4337. Dostupné z: <https://onlinelibrary-wiley-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/doi/full/10.1111/1541-4337.12318>
- [8] BROOKE-TAYLOR, Simon, Karen DWYER, Keith WOODFORD a Natalya KOST, 2017. Systematic Review of the Gastrointestinal Effects of A1 Compared with A2  $\beta$ -Casein. *Advances in Nutrition* [online]. Oxford University Press, **8**(5), 739-748 [cit. 2019-04-15]. DOI: 10.3945/an.116.013953. ISSN 2161-8313. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5593102/>
- [9] LU, Xia, Gregory YELLAND, Jiayi NI a Andrew CLARKE, 2016. Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows milk. *Nutrition Journal* [online]. London: BioMed Central, **15**(35), n/a [cit. 2019-04-15]. DOI: 10.1186/s12937-016-0147-z. ISSN 1475-2891. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/1797653445/>
- [10] GILLE, Doreen, Barbara WALTHER, René BADERTSCHER, et al., 2018. Detection of lactose in products with low lactose content. *International Dairy Journal* [online]. Elsevier, **83**, 17-19 [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2018.03.003. ISSN 0958-6946. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0958694618300608>



- [11] WAHLQVIST, Mark I., 2015. Lactose nutrition in lactase nonpersisters. *Asia Pacific journal of clinical nutrition* [online]. **24**(S1), S21-S25 [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.6133/apjcn.2015.24.s1.04. ISSN 0964-7058. Dostupné z: <https://search.proquest.com/docview/1752786984>
- [12] VASKOVA, Hana a Martina BUCKOVA, 2016. Measuring the lactose content in milk. *MATEC Web of Conferences* [online]. Les Ulis: EDP Sciences, **76**(<https://search.proquest.com/docview/2057233943>) [cit. 2019-04-15]. DOI: 10.1051/mateconf/20167605011. ISSN 22747214. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/2057233943/>
- [13] ERICH, Sarah, Theresa ANZMANN a Lutz FISCHER, 2012. Quantification of lactose using ion-pair RP-HPLC during enzymatic lactose hydrolysis of skim milk. *Food Chemistry* [online]. Elsevier, **135**(4), 2393-2396 [cit. 2019-04-23]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.07.059. ISSN 0308-8146. Dostupné z: [https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0308814617307136](https://www.sciencedirect.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0308814617307136)
- [14] LEÓN PELÁEZ, A.m., C.a. SERNA CATAÑO, E.a. QUINTERO YEPES, R.r. GAMBA VILLARROEL, G.I. DE ANTONI a L. GIANNUZZI, 2012. Inhibitory activity of lactic and acetic acid on *Aspergillus flavus* growth for food preservation. *Food Control* [online]. Elsevier, **24**(1-2), 177-183 [cit. 2019-05-09]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.09.024. ISSN 0956-7135. Dostupné z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0956713511003951>
- [15] WEMMENHOVE, Ellen, Hein j.f. VAN VALENBERG, Marcel h. ZWIETERING, Toon c.m. VAN HOOIJDONK a Marjon h.j. WELLS-BENNIK, 2016. Minimal inhibitory concentrations of undissociated lactic, acetic, citric and propionic acid for *Listeria monocytogenes* under conditions relevant to cheese. *Food Microbiology* [online]. Elsevier, **58**, 63-67 [cit. 2019-05-09]. DOI: 10.1016/j.fm.2016.03.012. ISSN 0740-0020. Dostupné z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0740002016302313>
- [16] ARYANA, Kayanush j. a Douglas w. OLSON, 2017. A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. *Journal of Dairy Science* [online]. Elsevier, **100**(12), 9987-10013 [cit. 2019-05-04]. DOI: 10.3168/jds.2017-12981. ISSN 0022-0302. Dostupné z: [https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0022030217310524](https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0022030217310524)
- [17] LAHTINEN, Sampo, 2012. Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects. 4th ed. Boca Raton: CRC Press, xviii, 779 s. : il. ; 27 cm. ISBN 978-1-4398-3677-4.
- [18] MUÑOZ, Susana Vargas, Francisco Quintanilla GUERRERO, Maykel González TORRES, Ma del Pilar Carreón CASTRO a Rogelio Rodríguez TALAVERA, 2017. Transformation kinetics of fermented milk using *Lactobacillus casei* (Lc1) and *Streptococcus thermophilus*: comparison of results with other Inocula. *Journal of Dairy Research*. **84**(01), 102-108. DOI: 10.1017/S0022029916000613. ISSN 0022-0299. Dostupné také z: [https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0022029916000613/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0022029916000613/type/journal_article)
- [19] RAKICKÁ, Milada, Andrea MARKO, Ernest ŠTURDÍK, Martina DANIHELOVÁ, Silvia MOŠOVSKÁ a Lucia JURÍKOVÁ, 2015. Vplyv fermentácie baktériami mliečného kysnutia na chemickú kompozíciu potravín. *Chemicke Listy* [online]. Czech Society of Chemical Engineering, **109**(5), 371-376 [cit. 2018-06-20]. ISSN 00092770. Dostupné z: [http://chemicke-listy.cz/docs/full/2015\\_05\\_371-376.pdf](http://chemicke-listy.cz/docs/full/2015_05_371-376.pdf)
- [20] WARD, Bruce, 2015. Bacterial Energy Metabolism. *Molecular Medical Microbiology* [online]. Elsevier, 2015, 201-233 [cit. 2019-05-08]. DOI: 10.1016/B978-0-12-397169-2.00011-1. ISBN 9780123971692. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123971692000111>
- [21] ZOTTA, Teresa, Annamaria RICCIARDI, Rocco G. IANNIELLO, Livia V. STORTI, Nicolas A. GLIBOTA a Eugenio PARENTE, 2018. Aerobic and respirative growth of

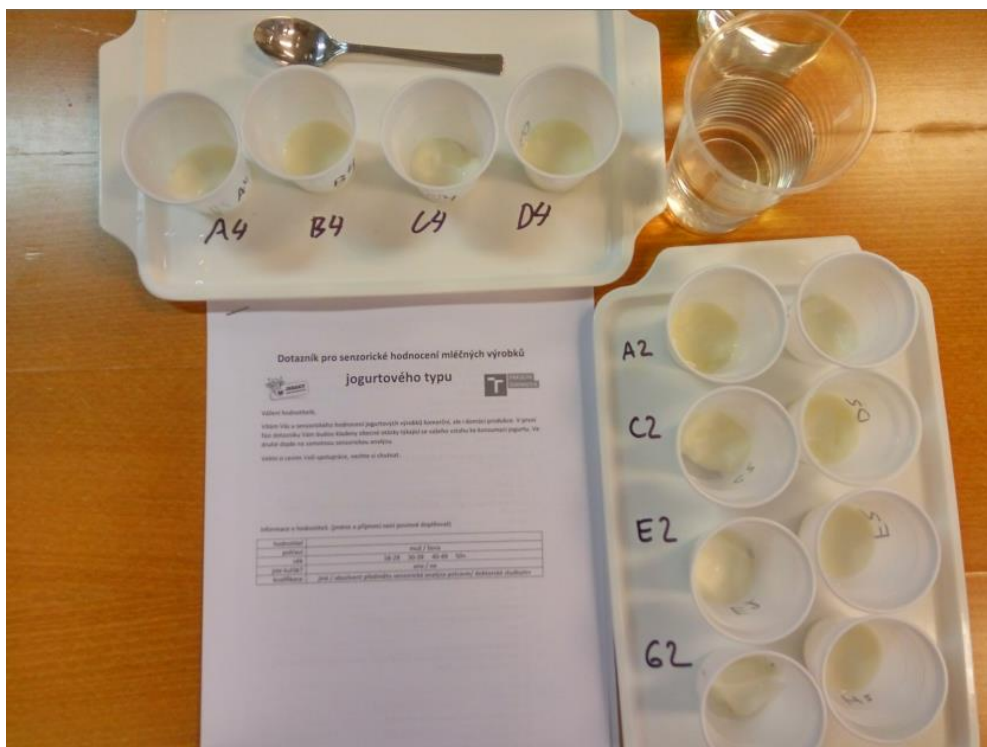
- heterofermentative lactic acid bacteria: A screening study. *Food Microbiology* [online]. **76**, 117-127 [cit. 2019-05-08]. DOI: 10.1016/j.fm.2018.02.017. ISSN 07400020. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002017306974>
- [22] MATER, Denis D.G., Laurent BRETIGNY, Olivier FIRMESSE, Maria-Jose FLORES, Agnès MOGENET, Jean-Louis BRESSON a Gérard CORTHER, 2005. Streptococcus thermophilus and Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus survive gastrointestinal transit of healthy volunteers consuming yogurt. *FEMS Microbiology Letters* [online]. Blackwell Publishing, 250(2), 185-187 [cit. 2018-06-20]. DOI: 10.1016/j.femsle.2005.07.006. ISSN 0378-1097.
- [23] MORRIS, James A., 2018. Optimise the microbial flora with milk and yoghurt to prevent disease. *Medical Hypotheses* [online]. Elsevier, 114, 13-17 [cit. 2018-06-20]. DOI: 10.1016/j.mehy.2018.02.031. ISSN 0306-9877. Dostupné z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0306987718300847>
- [24] MORELLI, Lorenzo, 2014. Yogurt, living cultures, and gut health. *The American journal of clinical nutrition* [online]. 99(5 Suppl), 1248S [cit. 2018-06-20]. DOI: 10.3945/ajcn.113.073072. Dostupné z: <https://academic.oup.com/ajcn/article/99/5/1248S/4577508?searchresult=1>
- [25] LOPES, Rita P., Maria J. MOTA, Carlos A. PINTO, Sérgio SOUSA, José A. LOPES DA SILVA, Ana M. GOMES, Ivonne DELGADILLO a Jorge A. SARAIVA, 2019. Physicochemical and microbial changes in yogurts produced under different pressure and temperature conditions. *LWT* [online]. **99**, 423-430 [cit. 2019-04-28]. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.09.074. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643818308065>
- [26] SODINI, Isabelle, Florent REMEUF, Samia HADDAD a Georges CORRIEU, 2004. The Relative Effect of Milk Base, Starter, and Process on Yogurt Texture: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. Taylor & Francis Group, **44**(2), 113-137 [cit. 2019-05-10]. DOI: 10.1080/10408690490424793. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://www-tandfonline-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/doi/abs/10.1080/10408690490424793>
- [27] JÄÄSKELÄINEN, A.j., K.-e. PEIPONEN a J.a. RÄTY, 2001. On Reflectometric Measurement of a Refractive Index of Milk. *Journal of Dairy Science* [online]. Elsevier, **84**(1), 38-43 [cit. 2019-04-21]. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74449-9. ISSN 0022-0302. Dostupné z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0022030201744499>
- [28] SHARIFI, Mohadeseh a Brent YOUNG, 2012. Milk total solids and fat content soft sensing via electrical resistance tomography and temperature measurement. *Food and Bioprocess Processing* [online]. Elsevier B.V, **90**(4), 659-666 [cit. 2019-04-21]. DOI: 10.1016/j.fbp.2012.05.001. ISSN 0960-3085. Dostupné z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S096030851200034X>
- [29] MATUMOTO-PINTRO, P.t., L. RABIEY, G. ROBITAILLE a M. BRITTEN, 2011. Use of modified whey protein in yoghurt formulations. *International Dairy Journal* [online]. Elsevier, **21**(1), 21-26 [cit. 2019-04-16]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2010.07.003. ISSN 0958-6946. Dostupné z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0958694610001755>
- [30] YADAV, Vijesh, Vijay GUPTA a Ganga MEENA, 2018. Effect of culture levels, ultrafiltered retentate addition, total solid levels and heat treatments on quality improvement of buffalo milk plain set yoghurt. *Journal of Food Science and Technology* [online]. New Delhi: Springer India, **55**(5), 1648-1655 [cit. 2019-04-21]. DOI: 10.1007/s13197-018-3076-3. ISSN 0022-1155. Dostupné z: <https://link-springer-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/article/10.1007/s13197-018-3076-3>

- [31] WU, Sha, Dong LI, Shu-jun LI, Bhesh BHANDARI, Bao-ling YANG, Xiao Dong CHEN a Zhi-huai MAO, 2009. Effects of Incubation Temperature, Starter Culture Level and Total Solids Content on the Rheological Properties of Yogurt. *International Journal of Food Engineering* [online]. **5**(2) [cit. 2019-04-29]. DOI: 10.2202/1556-3758.1436. ISSN 1556-3758. Dostupné z: <https://www.degruyter.com/view/j/ijfe.2009.5.2/ijfe.2009.5.2.1436/ijfe.2009.5.2.1436.xml>
- [32] NGUYEN, Hanh, Lydia ONG, Sandra KENTISH a Sally GRAS, 2014. The Effect of Fermentation Temperature on the Microstructure, Physicochemical and Rheological Properties of Probiotic Buffalo Yoghurt. *Food and Bioprocess Technology*[online]. Boston: Springer US, **7**(9), 2538-2548 [cit. 2019-04-28]. DOI: 10.1007/s11947-014-1278-x. ISSN 1935-5130. Dostupné z: <https://link.springer-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/article/10.1007/s11947-014-1278-x>
- [33] SAH, B.n.p., T. VASILJEVIC, S. MCKECHNIE a O.n. DONKOR, 2016. Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre-rich pineapple peel powder during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology* [online]. Elsevier, **65**, 978-986 [cit. 2019-05-01]. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.09.027. ISSN 0023-6438. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0023643815301985>
- [34] MCCANN, Thu h., Florence FABRE a Li DAY, 2011. Microstructure, rheology and storage stability of low-fat yoghurt structured by carrot cell wall particles. *Food Research International* [online]. Elsevier, **44**(4), 884-892 [cit. 2019-05-01]. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.01.045. ISSN 0963-9969. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0963996911000688>
- [35] MIOCINOVIC, Jelena, Nikola TOMIC, Biljana DOJNOV, Igor TOMASEVIC, Sanja STOJANOVIC, Ilija DJEKIC a Zoran VUJCIC, 2018. Application of new insoluble dietary fibres from triticale as supplement in yoghurt – effects on physico-chemical, rheological and quality properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. Chichester, UK: John Wiley, **98**(4), 1291-1299 [cit. 2019-05-01]. DOI: 10.1002/jsfa.8592. ISSN 0022-5142. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jsfa.8592>
- [36] BASIRI, Sara, Naghmeh HAIDARY, Seyed shahram SHEKARFOROUSH a Mehrdad NIAKOUSARI, 2018. Flaxseed mucilage: A natural stabilizer in stirred yogurt. *Carbohydrate Polymers* [online]. Elsevier, **187**, 59-65 [cit. 2019-05-01]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.01.049. ISSN 0144-8617. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0144861718300675>
- [37] DÖNMEZ, Özge, Burçe ataç MOGOL a Vural GÖKMEN, 2017. Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. *Journal of Dairy Science* [online]. Elsevier, **100**(2), 901-907 [cit. 2019-05-01]. DOI: 10.3168/jds.2016-11262. ISSN 0022-0302. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com/science/article/pii/S002203021630892X>
- [38] VESELÁ, Mária, 2004. *Praktikum z obecné mikrobiologie*. 3. vyd. Brno: VUT FCH, 99 s. ISBN 8021425679.
- [39] VIEIRA, Patrícia, Carlos A. PINTO, José A. LOPES-DA-SILVA, Fabienne REMIZE, Francisco J. BARBA, Krystian MARSZALEK, Ivonne DELGADILLO a Jorge A. SARAIVA, 2019. A microbiological, physicochemical, and texture study during storage of yoghurt produced under isostatic pressure. *LWT* [online]. **110**, 152-157 [cit. 2019-05-05]. DOI: 10.1016/j.lwt.2019.04.066. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com/science/article/pii/S0023643819303780>

## 7 SEZNAM ZKRATEK

BMK	bakterie mléčného kvašení
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie (Highperformance liquid chromatography)
MO	mikroorganismus
LC	kapalinová chromatografie
MS	hmotnostní spektrometrie
RI	refractive index (index lomu)
EOT	elektrická odporová tomografie

## 8 PŘÍLOHY



*Obrázek 42* Dotazník pro sensorické hodnocení a nachystané vzorky



*Obrázek 43* Samotné provedení sensorické analýzy na FCH

# Dotazník pro senzorické hodnocení mléčných výrobků



## jogurtového typu



Vážení hodnotitelé,

Vítám Vás u senzorického hodnocení jogurtových výrobků komerční, ale i domácí produkce. V první fázi dotazníku Vám budou kladeny obecné otázky týkající se vašeho vztahu ke konzumaci jogurtu. Ve druhé dojde na samotnou senzorickou analýzu.

Velmi si cením Vaší spolupráce, nechte si chutnat.

Informace o hodnotiteli. (jméno a příjmení není povinné doplňovat)

hodnotitel	
pohlaví	muž / žena
věk	18-29 30-39 40-49 50+
jste kuřák?	ano / ne
kvalifikace	jiné / absolvent předmětu senzorická analýza potravin/ doktorské studium+

## 1) Dotazník na preference hodnotitele

1. **Jaký je Váš vztah k jogurtům?**
  - a) jogurt mám rád/a;
  - b) jogurt toleruji
  - c) jogurt nemám rád/a.
2. **Jak často konzumujete jogurt.**
  - a) minimálně jednou za tři dny
  - b) týdně
  - c) měsíčně
  - d) nekonzumuji
  - e) jiné:
3. **Která kritéria jsou pro Vás důležitá při výběru jogurtu? (lze zaškrtnout více)**
  - a) obsah tuku
  - b) cena
  - c) značka
  - d) další faktory – doplňte prosím
4. **Upřednostňujete jogurty s vyšším podílem tuku oproti těm s nižším podílem?**
  - a) ano
  - b) ne
  - c) nezáleží mi na tomto parametru
5. **Preferujete jogurty o gelovější struktuře oproti jogurtům s nižší soudržností?**
  - a) ano
  - b) ne
  - c) nezáleží mi na tomto parametru
6. **Máte radši jogurty o kyselejší chuti?**
  - a) ano
  - b) ne
  - c) nezáleží mi na tomto parametru
7. **Vadí Vám, pokud se z jogurtu odděluje syrovátka?**
  - a) ano
  - b) ne
  - c) nezáleží mi na tomto parametru
8. **Koupili byste si jogurt za vyšší cenu, než je běžné, pokud byste věřili, že by měl mít pro Vás zdravotní přínos?**
  - a) ano;
  - b) ne;
  - c) spíše ano;
  - d) spíše ne.
9. **Jaký preferujete obal jogurtového výrobku?**
  - a) průhledný (sklo)
  - b) neprůhledný (plast)
  - c) nezáleží mi na tomto parametru
10. **Vadí Vám přísady v bílém jogurtu jako například sušené mléko/mléčná bílkovina**
  - a) ano
  - b) ne
  - c) nezáleží mi na tomto parametru

## 2) Senzorická analýza – párové zkoušky

Dle následujícího schématu ochutnejte pár výrobků, a porovnejte je dle daného kritéria párovou porovnávací zkouškou. Zaškrtněte kolonku výrobku, který vykazuje více danou vlastnost.

Při tomto typu hodnocení můžete libovolně ochutnávat z dvojice podaných výrobků. (Pro neutralizaci chuti je podávána voda)

### 1) Srovnání A2 s B2

		A2	B2
Textura	Který jogurt má vyšší viskozitu?		
		A2	B2
Kyselost	Který jogurt je kyselější?		
		A2	B2
Krémovitost	Který výrobek má tučnější/plnější chuť?		
		A2	B2
Celkový Flavour	Který výrobek Vám více chutná?		

### 2) Srovnání C2 s D2

		C2	D2
Textura	Který jogurt má vyšší viskozitu?		
		C2	D2
Kyselost	Který jogurt je kyselější?		
		C2	D2
Krémovitost	Který výrobek má tučnější/plnější chuť?		
		C2	D2
Celkový Flavour	Který výrobek Vám více chutná?		

### 3) Srovnání E2 s F2

		E2	F2
Textura	Který jogurt má vyšší viskozitu?		
		E2	F2
Kyselost	Který jogurt je kyselější?		
		E2	F2
Krémovitost	Který výrobek má tučnější/plnější chuť?		
		E2	F2
Celkový Flavour	Který výrobek Vám více chutná?		



#### 4) Srovnání G2 s H2

		G2	H2
Textura	Který jogurt má vyšší viskozitu?		

		G2	H2
Kyselost	Který jogurt je kyselejší?		

		G2	H2
Krémovitost	Který výrobek má tučnější/plnější chuť		

		G2	H2
Celkový Flavour	Který výrobek Vám více chutná?		

### 3) Senzorická analýza – pořadové testy

V závislosti na Vaší osobní preferenci seřaďte jogurty (A4 B4 C4 D4) podle daného kritéria

#### 1) Textura

nejhorší					nejlepší
----------	--	--	--	--	----------

#### 2) Kyselost

nejhorší					nejlepší
----------	--	--	--	--	----------

#### 3) Krémovitost

nejhorší					nejlepší
----------	--	--	--	--	----------

#### 4) Celkový flavour / chuť

nejhorší					nejlepší
----------	--	--	--	--	----------

### 4) Senzorická analýza – zrak

V závislosti na Vaší osobní preferenci na vzhled jogurtu seřaďte následující vzorky od nejméně přijatelného po nejlepší – A4 B4 C4 D4

nejhorší					nejlepší
----------	--	--	--	--	----------

**Tabulka 8** Naměřené hodnoty pro stanovení sušiny

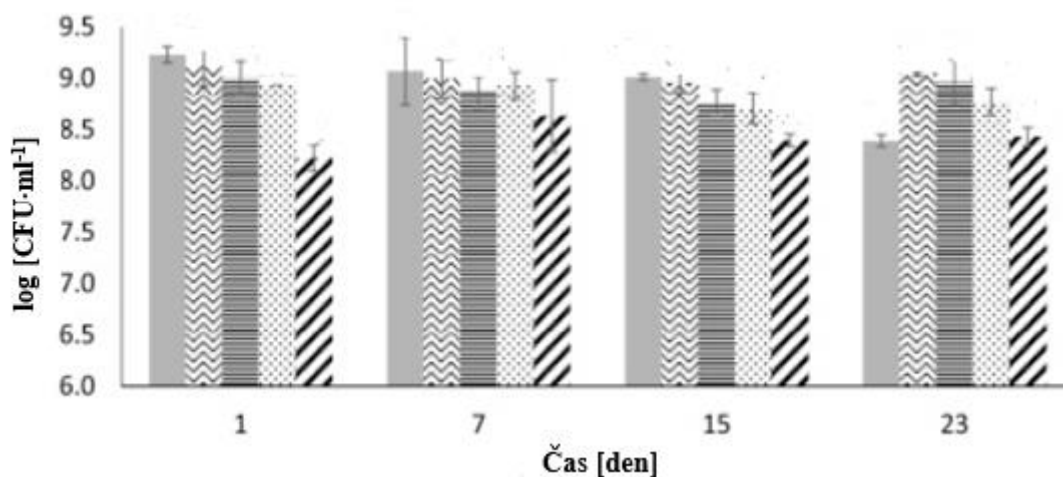
	č. měření	m váženka [g]	m váženka + mléko [g]	m váženka + sušina [g]	sušina (%)
	1	23,6095	26,7197	24,0831	15,2273
<b>Vzorek 1</b>	2	23,6555	26,7354	24,1251	15,2472
	3	24,0294	27,1255	24,5010	15,2321
	4	23,7812	26,8657	24,2238	14,3492
<b>Vzorek 2</b>	5	22,9542	26,0537	23,3988	14,3442
	6	23,2279	26,2819	23,6665	14,3615
	7	23,2319	26,3327	23,6248	12,6709
<b>UHT – Pragolactos</b>	8	24,7379	27,8262	25,1302	12,7028
	9	24,1526	27,2099	24,5413	12,7138

**Tabulka 9** Naměřená data pro stanovení počtu MO - Bog jogurt

BOG	Streptokokus – ředění ( $10^{-7}$ )				Lactobacillus – ředění ( $10^{-7}$ )			
	čas [hod]	1	2	CFU·ml <sup>-1</sup> log(CFU·ml <sup>-1</sup> )	1	2	CFU·ml <sup>-1</sup> log(CFU·ml <sup>-1</sup> )	
<b>8</b>	27	32	2,95·10 <sup>8</sup> 8,47	26	34	3,00·10 <sup>8</sup> 8,48		
<b>80</b>	26	30	2,80·10 <sup>8</sup> 8,45	31	25	2,80·10 <sup>8</sup> 8,45		
<b>160</b>	25	32	2,85·10 <sup>8</sup> 8,45	27	32	2,95·10 <sup>8</sup> 8,47		

**Tabulka 10** Naměřená data pro stanovení počtu MO - UHT jogurt

UHT	Streptokokus – ředění ( $10^{-7}$ )				Lactobacillus – ředění ( $10^{-7}$ )			
	čas [hod]	1	2	CFU·ml <sup>-1</sup> log(CFU·ml <sup>-1</sup> )	1	2	CFU·ml <sup>-1</sup> log(CFU·ml <sup>-1</sup> )	
<b>8</b>	24	28	2,60·10 <sup>8</sup> 8,41	19	23	2,10·10 <sup>8</sup> 8,32		
<b>80</b>	29	20	2,45·10 <sup>8</sup> 8,39	18	20	1,90·10 <sup>8</sup> 8,28		
<b>160</b>	24	26	2,50·10 <sup>8</sup> 8,40	16	21	1,85·10 <sup>8</sup> 8,27		



**Obrázek 44** Množství *L. Bulgaricus* (0,1 MPa, 10 MPa, 20 MPa, 30MPa, 40MPa) v závislosti na skladování (při 8 °C)

**Tabulka 11** Výsledky HPLC – Laktóza

čas [hod]	Laktóza [g·l <sup>-1</sup> ]		
	Bog vzorek č. 1	Bog vzorek č. 2	UHT
0	50,50	51,24	49,64
7	30,18	32,79	39,67
93	28,00	31,76	36,41
336	25,07	25,18	33,60

**Tabulka 12** Výsledky HPLC – Galaktóza

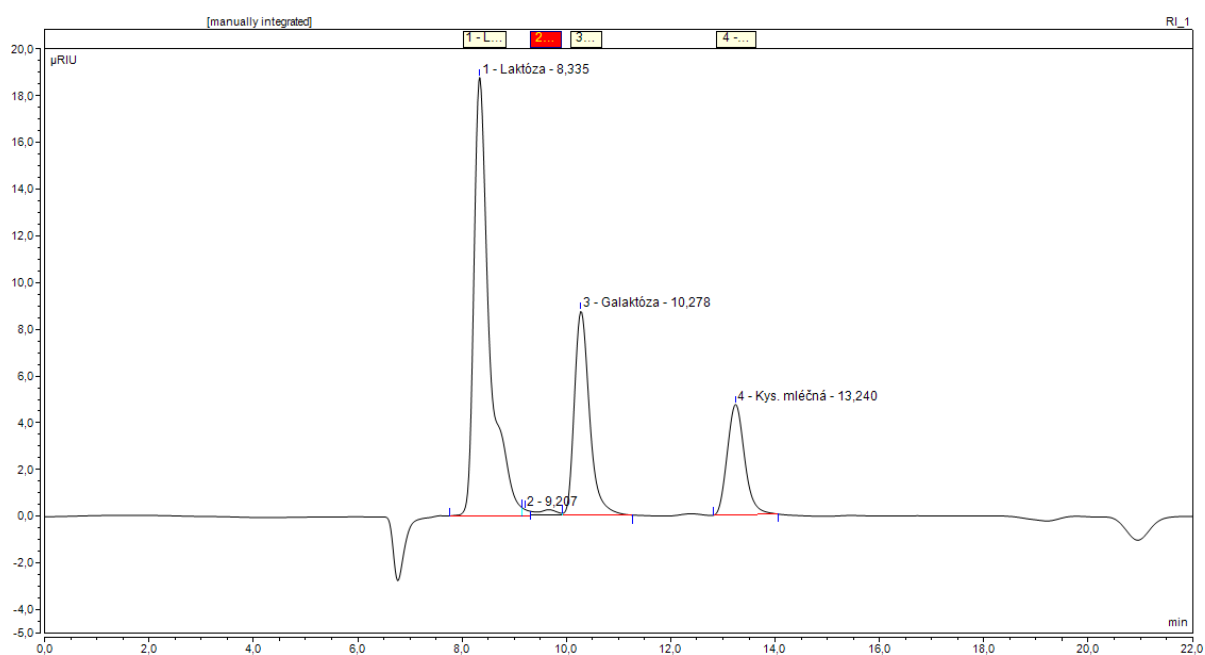
čas [hod]	Galaktóza [g·l <sup>-1</sup> ]		
	Bog vzorek č. 1	Bog vzorek č. 2	UHT
7	8,94	8,91	6,32
93	9,16	9,51	8,33
336	10,90	11,01	9,86

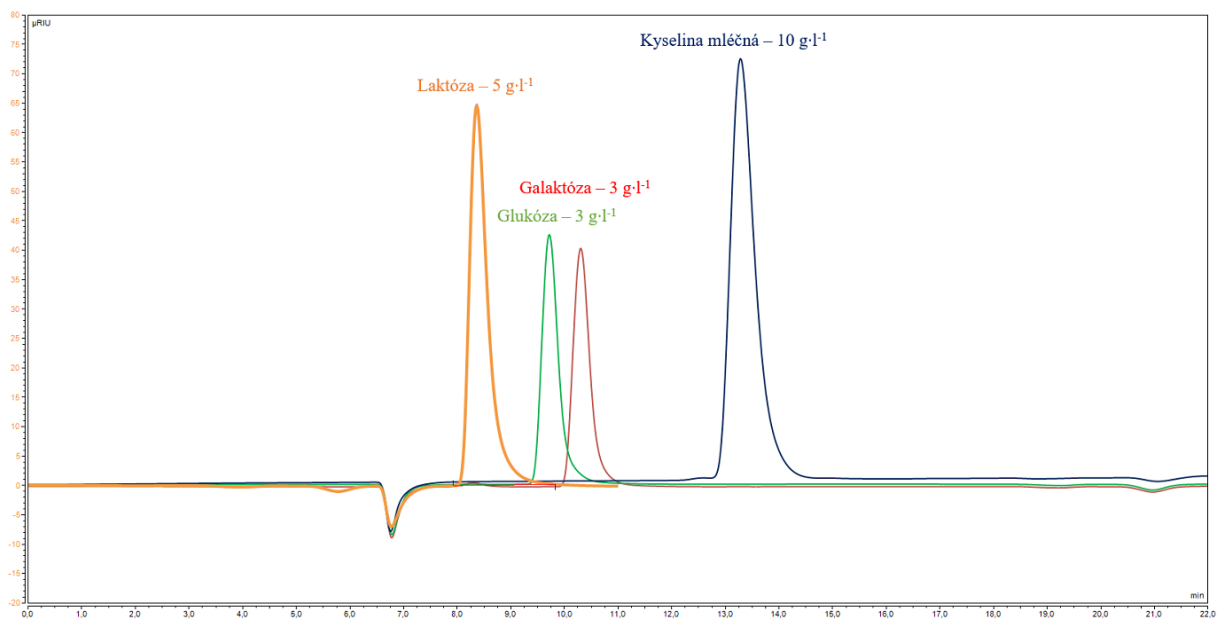
**Tabulka 13** *Výsledky HPLC – Glukóza*

čas [hod]	Glukóza [g·l <sup>-1</sup> ]		
	Bog vzorek č. 1	Bog vzorek č. 2	UHT
7	0,40	0,43	0,25
93	0,21	0,31	0,27
336	0,31	0,39	0,66

**Tabulka 14** *Výsledky HPLC – Kyselina mléčná*

čas [hod]	Kyselina mléčná [g·l <sup>-1</sup> ]		
	Bog vzorek č. 1	Bog vzorek č. 2	UHT
7	8,90	8,84	7,07
93	9,41	9,71	8,76
336	11,15	11,16	9,34

**Obrázek 45** *Chromatogram – vzorek jogurtu Bog – 336 hodin od přípravy*



**Obrázek 46** Souhrnný chromatogram obsahující kalibrační píky čtyř hlavních pozorovaných komponent v maximálních měřených koncentracích