



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

OPTIMALIZACE VÝROBY JOGURTU SE ZVÝŠENÝM OBSAHEM BÍLKOVIN Z PŠENIČNÝCH OTRUB

OPTIMIZATION OF THE PRODUCTION OF YOGURT WITH INCREASED PROTEIN CONTENT FROM WHEAT
BRAN

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Michaela Adamczyková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.

BRNO 2023

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1768/2022 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Michaela Adamczyková**
Studijní program: Chemie přírodních látek
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Optimalizace výroby jogurtu se zvýšeným obsahem bílkovin z pšeničných otrub

Zadání diplomové práce:

1. zpracování literární rešerše
2. výroba a charakterizace proteinového izolátu z otrub
3. enkapsulace proteinového izolátu různými způsoby
4. tvorba receptur pro výrobu vysokoproteinového jogurtu
5. analýza jogurtů se zaměřením na nutriční, reologické a sensorické vlastnosti
6. statistické zpracování dat
7. definování závěrů práce

Termín odevzdání diplomové práce: 8.5.2023:

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

Bc. Michaela Adamczyková
studentka

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá využitím pšeničných otrub ve formě proteinového izolátu jako aditiva v potravinářství, optimalizací receptury fortifikovaných jogurtů a enkapsulací bílkoviny rostlinného původu, využívanou jako metodu k zamaskování negativních sensorických vlastností produktů s přídavkem těchto proteinů.

Teoretická část se zabývá charakterizací fermentovaných mléčných výrobků, pšeničných otrub jako zdroj proteinu a možnostmi maskování negativních sensorických vlastností proteinových izolátů.

V experimentální části byly vyrobené jogurty sensoricky hodnoceny a analyzovány jejich nutriční a technologické vlastnosti.

Senzorickou analýzou jogurtů vyrobených z různých typů mléka bylo jako nejlepší pro výrobu fortifikovaných jogurtů určeno UHT mléko plnotučné. Jogurty připravené z tohoto mléka byly fortifikovány proteinovým izolátem z pšeničných otrub. Produkty tak měly zvýšenou nutriční hodnotu, zhoršily se ale jejich sensorické vlastnosti. Jogurty vykazovaly pocit písčitosti, který byl následně zmírněn pomocí mletí proteinového izolátu na jemnější částice. Receptura pro výrobu fortifikovaných jogurtů byla optimalizována přídavkem alternativní bílkoviny, což mělo pozitivní vliv, především pro jogurty s 10% obsahem bílkovin. Jogurty s proteinovým izolátem byly hodnoceny negativním skóre pro parametr hořké chuti. Enkapsulací bílkoviny došlo k zásadnímu snížení intenzity hořké chuti. Filtrací byla stanovena synereze všech připravených vzorků. Jogurt z plnotučného UHT mléka vykazoval synerezi 31,76 ml na 100 g jogurtu. Přídavek bílkoviny vedl ke změně synereze tohoto jogurtu. Z reologické analýzy bylo určeno, že 10% jogurt s enkapsulovanými částicemi měl vyšší hodnotu dynamické viskozity a meze toku. Data sensorických analýz byly vyhodnoceny pomocí analýzy hlavních komponent.

KLÍČOVÁ SLOVA

Jogurt, pšeničné otruby, enkapsulace, sensorická analýza

ABSTRACT

This thesis deals with the use of wheat bran in the form of protein isolate as an additive in the food industry, optimization of the formula of fortified yoghurts and the encapsulation of plant proteins, used as a method to mask the negative sensory properties of products with the addition of these proteins.

The theoretical part deals with the characterization of fermented milk products, wheat bran as a source of protein and the possibilities of masking the negative sensory properties of protein isolates.

The produced yoghurts were sensory evaluated and their nutritional and technological properties were analyzed in the experimental part.

By sensory analysis of yoghurts made from different types of milk, full-fat UHT milk was determined to be the best for the production of fortified yoghurts. Yoghurts prepared from this milk were fortified with wheat bran protein isolate. The products thus had an increased nutritional value, but their sensory values deteriorated. The yoghurts had a gritty feel, which was subsequently mitigated by grinding the protein isolate to finer parts. The formula for the production of fortified yoghurts was optimized by the addition of alternative protein, which had a positive effect especially for yoghurts with a 10% protein content. Yoghurts with protein isolate were evaluated with a negative score for the bitter taste parameter. Encapsulation of proteins significantly reduced the intensity of the bitter taste. Synergy of all prepared samples was determined by filtration. Yoghurt from full-fat UHT milk showed a syneresis of 31.76 ml per 100 g of yoghurt. The addition of protein led to a change in the synergy of this yoghurt. From the rheological analysis, it was determined that 10% yoghurt with encapsulated particles had a higher value of dynamic viscosity and yield stress. Sensory analysis data were evaluated using principal component analysis.

KEYWORDS

Yoghurt, wheat bran, encapsulation, sensory analysis

ADAMCZYKOVÁ, Michaela. *Optimalizace výroby jogurtu se zvýšeným obsahem bílkovin z pšeničných otrub*. Brno, 2023. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/149475>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Jaromír Pořízka.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

Bc. Michaela Adamczyková

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji Ing. Jaromíru Pořízkovi, Ph.D. a Ing. Zuzaně Slavíkové za odborné vedení práce, cenné rady a přátelský přístup. Obrovský dík všem svým blízkým za skvělou podporu během studia.

OBSAH

1	Úvod.....	8
2	Teoretická část.....	9
2.1	Fermentované mléčné výrobky	9
2.1.1	Laktátová fermentace	10
2.1.2	Bakterie mléčného kvašení.....	10
2.2	Jogurt	11
2.2.1	Nutriční vlastnosti jogurtu.....	12
2.3	Vysokoproteinové mléčné výrobky	13
2.3.1	Fortifikace mléčných výrobků proteinovými izoláty	13
2.3.2	Maskování negativních sensorických vlastností proteinových izolátů	15
2.4	Pšeničné otruby jako zdroj proteinu	19
2.4.1	Využití pšeničných otrub	20
2.4.2	Chemické složení pšeničných otrub	21
2.4.3	Vlastnosti a kvalita proteinů pšeničných otrub	23
2.5	Analýza nutričních a technologických vlastností jogurtů.....	23
2.5.1	Stanovení celkového dusíku dle Kjeldahla	23
2.5.2	Reologické vlastnosti jogurtu.....	24
2.5.3	Stanovení synereze jogurtů	24
2.5.4	Senzorická analýza	25
2.6	Statistické zpracování dat	25
2.6.1	Korelační analýza	25
2.6.2	Analýza hlavních komponent	26
3	Experimentální část	27
3.1	Použité materiály a zařízení.....	27
3.1.1	Chemikálie	27
3.1.2	Pomůcky a přístroje.....	27
3.1.3	Použitá kultura.....	27
3.1.4	Použitá mléka pro výrobu jogurtů	27
3.1.5	Pšeničné otruby	28
3.1.6	Sušené mléko.....	28
3.2	Výroba jogurtů.....	29
3.3	Stanovení sušiny mléka	31
3.4	Příprava a charakterizace proteinového izolátu z otrub.....	31
3.5	Mletí proteinového izolátu na kulovém mlýnu.....	33
3.6	Měření velikosti částic proteinového izolátu	33

3.7	Enkapsulace bílkovin.....	33
3.8	Stanovení velikosti enkapsulovaných částic.....	34
3.9	Stanovení celkového dusíku dle Kjehdala.....	35
3.10	Stanovení synereze jogurtů.....	35
3.11	Reologická analýza.....	36
3.12	Senzorická analýza.....	37
3.13	Statistické vyhodnocení.....	37
4	Výsledky.....	38
4.1	Vliv typu mléka na senzorické vlastnosti jogurtu.....	38
4.1.1	Celková sušina mléka.....	41
4.2	Charakterizace proteinového izolátu z pšeničných otrub.....	42
4.3	Fortifikace jogurtu proteinovým izolátem z pšeničných otrub.....	42
4.3.1	Vliv velikosti částic proteinového izolátu na senzorické vlastnosti jogurtu.....	46
4.4	Optimalizace receptury pomocí alternativní bílkoviny.....	47
4.5	Vliv enkapsulace bílkoviny na senzorické vlastnosti.....	51
4.5.1	Celkový dusík v enkapsulovaných částicích.....	57
4.5.2	Velikost enkapsulovaných částic.....	57
4.6	Hodnocení fyzikálních vlastností vyrobených jogurtů.....	58
4.6.1	Synereze jogurtů.....	58
4.6.2	Reologické vlastnosti jogurtu.....	59
4.7	Komplexní hodnocení vzorků z hlediska vícerozměrné analýzy dat.....	61
5	Závěr.....	63
6	Použitá literatura.....	65
7	Seznam použitých zkratk.....	74
8	Seznam příloh.....	75
9	Přílohy.....	76

1 ÚVOD

Cílem této práce je charakterizace proteinového izolátu z otrub a jeho enkapsulace, optimalizace výroby vysokoproteinových jogurtů a jejich analýza se zaměřením na nutriční, reologické a sensorické vlastnosti. V poslední době narůstá zájem o zdravou a funkční výživu. Projevuje se to velkou poptávkou po doplňcích stravy a potravinách s vysokým obsahem bílkovin. Ve větší míře je možné setkat se na trhu s bílkovinami živočišného původu. Nejčastěji je využívána syrovátka ať už ve formě proteinového koncentrátu či izolátu, nebo jako aditivum pro navýšení nutriční hodnoty různých potravin, jako jsou mléčné výrobky, pečivo, těstoviny, proteinové tyčinky atd. Z ekologických, etických či zdravotních důvodů je stále větším a větším cílem nahrazovat živočišné složky potravin těmi rostlinnými. To se týká i proteinových izolátů, kterými je možné potraviny fortifikovat. Rostlinným zdroji bílkovin jsou například sója, luštěniny nebo cereálie, mezi nimi i pšeničné otruby.

Pšeničné otruby jsou obalovými vrstvami pšeničného zrna a jsou vedlejším produktem procesu mletí na mouku. Z velké části jsou otruby považovány za odpadní materiál, popřípadě využívány jako krmivo. Pšeničné otruby mají ale velký potenciál pro svou nutriční hodnotu a obsah zdraví prospěšných látek. V posledních letech se proto mnoho studií zaměřuje na valorizaci otrub, což je také jednou z možností, jak napomoci k lepšímu životnímu prostředí. Lze je využít například pro přípravu biouhlu, jako adsorbenty toxických látek nebo k extrakci kyseliny ferulové.

Tato práce je zaměřena na fortifikaci jogurtů, které už sami o sobě mají skvělou nutriční hodnotu, a navíc díky fermentaci, kterou prochází v procesu výroby, obsahují probiotika, které jak je známo mají významný vliv na lidské zdraví. Kvůli tomu, že jsou otruby zdrojem i bílkovin, je do jogurtů přidáván proteinový izolát z pšeničných otrub. Nevýhodou při fortifikaci potravinových výrobků pomocí proteinových izolátů rostlinného původu jsou jejich špatné sensorické vlastnosti, mezi které patří zejména hořká chuť a pocit písčitosti. Hlavním cílem této práce je zbavit se negativních vlastností fortifikovaného jogurtu pomocí enkapsulace izolátu.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Tato práce je zaměřena na charakterizaci jogurtu s vysokým obsahem bílkovin získaných z pšeničných otrub, zejména jeho nutričních, reologických a senzorických vlastností.

Teoretická část se zabývá charakterizací fermentovaných mléčných výrobků, pšeničných otrub jako zdroj proteinu a možnostmi maskování negativních senzorických vlastností proteinových izolátů.

2.1 Fermentované mléčné výrobky

Kysanými nebo zakysanými mléčnými výrobky se dle české legislativy a vyhlášky č. 397/2016 Sb, o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje rozumí mléčné výrobky získané kysáním mléka, smetany, podmáslí, syrovátky nebo jejich směsi za použití mikroorganismů uvedených v tabulce (Tabulka 1), tepelně neošetřené po kysacím procesu [1].

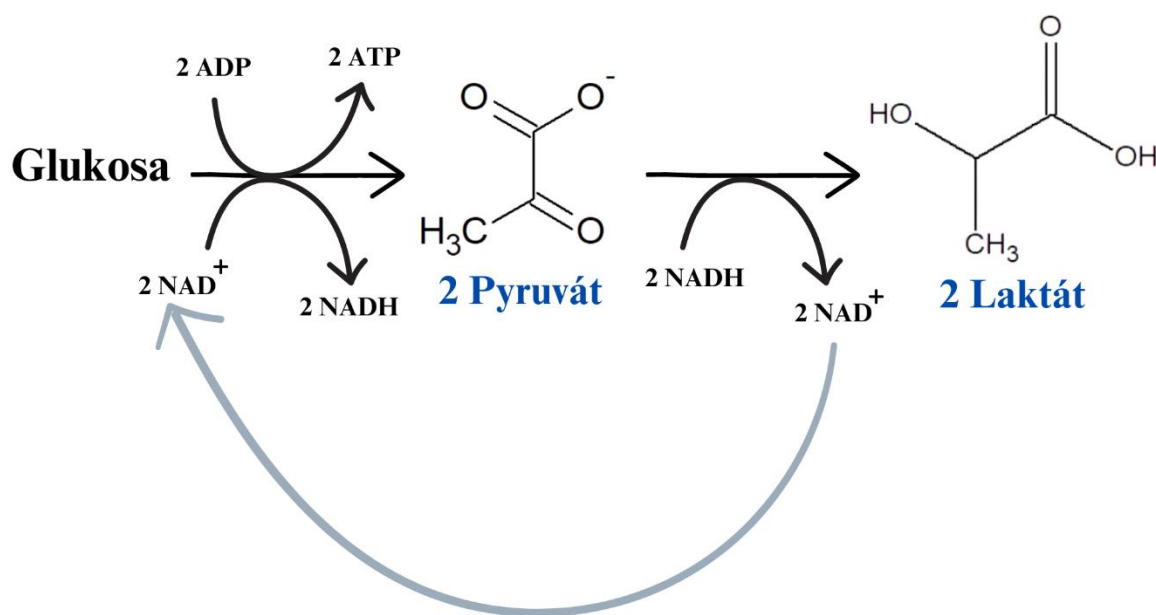
Fermentované mléko a výrobky z něj oproti nefermentovanému mléku mají výraznější chuť a texturu, nízkokalorický obsah a nutriční benefity, jsou schopny emulpace a pění [2].

Tabulka 1: Mikrobiologické požadavky na jednotlivé mléčné výrobky a na druhy živých mikroorganismů mléčného kysání v kysaných mléčných výrobcích [1].

Výrobek	Použité mikroorganismy
Kysané či zakysané mléčné výrobky dále neuvedené, například kysané mléko, smetanový zákys, zakysané podmáslí, zakysaná smetana, kysané mléčné nápoje	Monokultury nebo směsné kultury bakterií mléčného kvašení
Acidofilní mléko	<i>Lactobacillus acidophilus</i> a další mezofilní, případně termofilní kultury bakterií mléčného kysání
Jogurty včetně jogurtového mléka	Sybiotická směs <i>Streptococcus thermophilus</i> a <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i>
Kefír	Zákys připravený z keřirových zrn nebo keřirové kultury, jehož mikroflóra se skládá z kvasinek zkvašujících i nezksašujících laktózu a mezofilních a termofilních bakterií mléčného kysání, rostoucí ve vzájemném společenství
Keřirové mléko	Zákys skládající se z kvasinkových kultur a mezofilních a termofilních kultur bakterií mléčného kysání rostoucí ve vzájemné symbióze
Kysaný mléčný výrobek s bifidokulturou	<i>Bifidobacterium sp.</i> v kombinaci s mezofilními a termofilními bakteriemi mléčného kysání

2.1.1 Laktátová fermentace

Mléčné kvašení je biotechnologický proces a je jednou z nejběžnějších a nejjednodušších metod využívaných i v domácnostech pro konzervaci potravin, jako jsou například mléčné výrobky, zelenina a maso [3; 4]. Je rozlišováno homofermentativní a heterofermentativní mléčné kvašení. Schéma homofermentativního mléčného kvašení, využíváno při výrobě jogurtu je zobrazeno níže (Obrázek 1) [5]. Bakterie mléčného kvašení jsou schopny přeměňovat molekuly glukosy na molekuly kyseliny mléčné [4; 6]. Mezi tyto bakterie se řadí například *Lactobacillus spp.*, *lactococci*, *Streptococcus thermophilus* a *leuconostocs*. Přítomnost kyseliny mléčné v potravine zabraňuje růstu dalších a potenciálně škodlivých bakterií jiných druhů a tím napomáhá aktivitě kvasinek [4].



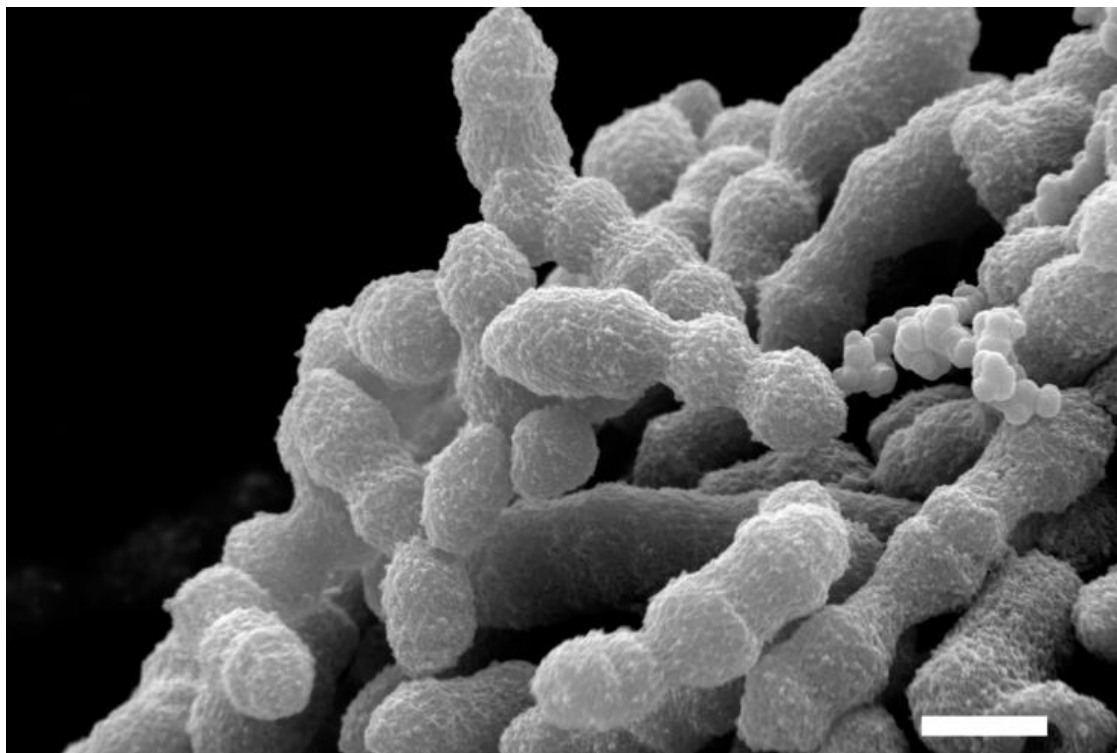
Obrázek 1: Schéma homofermentativního mléčného kvašení

2.1.2 Bakterie mléčného kvašení

Bakterie mléčného kvašení se dělí na homofermentativní a heterofermentativní dle konečného produktu kvašení a řadí se mezi ně různé rody [7]. Homofermentativními jsou rody *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, které kvašením vytvářejí pouze jeden produkt – kyselinu mléčnou a mezi heterofermentativní se řadí *Lactobacillus* a *Leuconostoc*, které se vyznačují produkcí nejen kyseliny mléčné, ale více produktů, například oxidu uhličitého, kyseliny octové či ethanolu [7; 5]. Bakterie mléčného kvašení mají pozitivní efekt na imunitní a trávicí systém. Jogurtová kultura zmírňuje laktosovou intoleranci [8]. Jogurt obsahuje přibližně o 31 % méně laktosy než mléko samotné. Pro lidi trpící laktosovou intolerancí je tak jogurt skvělým zdrojem vápníku a vitamínu D [9]. Během fermentace jsou uvolněné BCAA (aminokyseliny s rozvětveným řetězcem) spojené s pozitivním efektem pro udržování správné tělesné hmotnosti, syntézu bílkovin a funkci svalů [8].

Nejběžněji průmyslově používanou startovací kulturou mléčného kvašení je grampozitivní fakultativně anaerobní bakterie *Streptococcus thermophilus* [10]. *S. thermophilus* (Obrázek 2) je jediným druhem rodu streptokok, který pochází z mléčných výrobků. Všeobecně je považován za bezpečný druh (GRAS). Ostatní druhy, jako například *S. salivarius* nebo *S. vestibularis*, jsou spojovány s infekcemi člověka [11]. Kromě přeměny laktosy

na kyselinu mléčnou má *S. thermophilus* schopnost syntetizovat exopolysacharidy, které vysoce váží vodu, což může vést ke snížení synereze jogurtu [12]. Pro výrobu jogurtu se jako startovací kultura používá kombinace *S. thermophilus* a gram pozitivních bakterií *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* [1].



Obrázek 2: SEM mikrofotografie *Streptococcus Thermophilus* [12]

Střevní mikroflóra je důležitým ukazatelem zdraví [13]. Neovlivňuje pouze imunitní systém, ale také zahrnuje nejrůznější mikrobiologické, chemické, biochemické a neurochemické cesty. Narušení střevní mikroflóry se označuje jako dysbióza, která může být spouštěčem obezity, zánětů a diabetu 2. typu [13].

2.2 Jogurt

Za jogurt je dle vyhlášky 397/2016 Sb. považován mléčný výrobek získaný kysáním mléka, smetany, podmáslí nebo jejich směsi pomocí mikroorganismů (Tabulka 1), u kterého lze zvýšit obsah sušiny pouze přidáním mléčné bílkoviny, sušeného nebo zahuštěného mléka, nebo odebráním syrovátky, tepelně neošetřený po kysacím procesu [1].

V různých státech definice jogurtu a předpisy týkající se přijatelnosti přísad, minimální požadované množství živých organismů a konečné pH, mohou být odlišné, než s jakou se setkáváme v České republice [8; 14]. Podle Codex Alimentarius, který je uznáván mezinárodně, je jogurt definován jako fermentovaný mléčný výrobek charakterizovaný kombinací dvou speciálních startovacích kultur – *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus* používaných při procesu fermentace [8; 3]. U jogurtových výrobků mohou být kromě základní jogurtové kultury přidávány kmeny produkující kyselinu mléčnou a pomáhající dotvářet specifickou chuťovou nebo texturovou charakteristiku výrobku. Musí však být zachován optimální poměr obou základních kmenů jogurtové kultury. Dle české legislativy je rozlišován jogurt, jogurt smetanový, jogurt bílý

smetanový a jogurtové mléko. Bílý jogurt smetanový musí obsahovat nejméně 10 %hm. tuku a bílý jogurt méně než 10 %hm. tuku. Jogurtové mléko je mléko s obsahem tuku nejméně 0,5 %hm. a obsahem tukuprosté sušiny 8,0 %hm. Jako „jogurtový“ lze označit mléčný výrobek, v němž jogurt tvoří nejméně 50 % hmotnostních tohoto výrobku. Za bílý jogurt lze označit všechny druhy jogurtu bez přidané ochucující složky [1].

2.2.1 Nutriční vlastnosti jogurtu

Jogurt je skvělým zdrojem zejména bílkovin, ale i tuků, sacharidů a řady vitaminů a minerálních látek. Nutriční vlastnosti jogurtu se odvíjejí především od nutričních vlastností mléka použitého pro výrobu jogurtu.

Oproti mléku bývá jogurt bohatší na bílkoviny, jelikož se při výrobě jogurtu přidává k mléku kromě startovací kultury také syrovátka nebo sušené mléko. Jogurt obsahuje vysoce kvalitní proteiny kaseiny (α -s1-kasein, α -s2-kasein, β -kasein, κ -kasein), které zastupují 80 % bílkovin v jogurtu [8]. Dále obsahuje syrovátkové proteiny – β -laktoglobulin, α -laktalbumin, laktoferin, imunoglobuliny, glykomakropeptidy, enzymy a růstové faktory [15]. Kaseinové i syrovátkové proteiny jsou bohaté na esenciální aminokyseliny. Bílkoviny v jogurtu jsou zcela stravitelné, to je do jisté míry způsobeno i tím, že k počáteční fázi proteolýzy dochází díky startovacím mikroorganismům [16]. α -laktalbuminy bohaté na tryptofan mohou zvyšovat uvolňování serotoninu kontrolujícího příjem potravy. Serotonin je hormon produkovaný signály v mozku, které inhibují příjem potravy [13]. Proces mléčného kvašení vede k uvolňování bioaktivních peptidů pozitivně působící na imunitní, trávicí, kardiovaskulární a nervový systém [8]. Příjem těchto bílkovin v jogurtu poté stimuluje uvolňování gastrointestinálních hormonů, což vede ke snižování chuti k jídlu a tím krátkodobě snižuje spotřebu jídla. Syrovátkové proteiny tak hrají roli při prevenci metabolického syndromu [13].

Celkové množství sacharidů v jogurtu závisí na tom, zda je jogurt z odtučněného mléka či nikoliv a jejich rozsah se pohybuje mezi 4,7 – 18,8 g na 100 g jogurtu. Dominantním cukrem v bílém jogurtu je laktosa, která je obsažena v mléce většiny savců a může dosahovat až 98 % celkových sacharidů. Jedná se o disacharid skládající se z D-glukosy a D-galaktosy spojené 1,4 – glykosidickou vazbou [17; 8].

Jogurtovou texturu udávají lipidy, které se běžně vyskytují v mléce. V závislosti na použitém mléce a výrobním procesu se obsah lipidů v jogurtu liší z hlediska jejich množství, ale z hlediska kvality se oproti lipidům vyskytujících se v syrovém mléce neliší. Množství tuku musí odpovídat české legislativě a musí být vyznačeno na obalu jogurtu [8].

Ačkoliv mají mléko a jogurt víceméně stejné nutriční složení, jogurt díky specifickým výrobním procesům a fermentaci obsahuje větší množství některých živin než samotné mléko. Jsou to kromě proteinů například riboflavin, vitamin B6, vitamin B12, vápník, draslík, zinek a hořčík. Vápník je minerální látkou obsaženou v jogurtech a je to látka, která je považována za užitečnou v metabolismu glukosy. Bylo zjištěno, že vápník významně snižuje riziko onemocnění diabetes typu 2, jelikož vápník podporuje uvolňování inzulínu. Vápník v jogurtu ve srovnání s izolovaným samotným vápníkem je biologicky dostupnější chrání i další nutrienty a bioaktivní látky před degradací. Koncentrace vápníku v krvi nezávisí pouze na tom, kolik je ho přijatého z potravy, ale je řízena i hormony. Příjem vápníku ovlivňuje produkci vitaminu D a zlepšuje poměr HDL a LDL cholesterolu [13; 18].

Další látkou ovlivňující metabolismus glukosy je vitamin K, obzvláště ten v jogurtu, jelikož fermentované mléčné výrobky obsahují dvě formy vitaminu – vitamin K1 (fylochinon) a vitamin K2 (menachinon). Má pozitivní efekt i na dyslipidémii, oxidační stres a záněty [13].

Hlavním vedlejším produktem výroby jogurtů, sýrů a dalších mléčných výrobků je syrovátka [19]. Na základě výrobního procesu je syrovátka rozdělena do dvou skupin, na „sladkou“ a „kyselou“ syrovátku. Kyselou syrovátku lze získat kyselým vysrážením kaseinů při výrobě jogurtů řeckého typu nebo čerstvých sýrů, jako je například Cottage a Ricotta. Zatímco sladká syrovátka se získává při výrobě tvrdých sýrů. Je možné se setkat s pojmem „slaná“ syrovátka, vyznačující se vysokou koncentrací solí, která se aplikuje během solení některých odrůd sýra, jako je například Cheddar [20]. Po oddělení kaseinu od mléka následuje koagulace kaseinových proteinů působením sířidla (sladká syrovátka) nebo organické kyseliny (kyselá syrovátka) a zbývající vodnatou řídkou tekutinou je právě syrovátka [19; 21]. Barva syrovátky závisí na kvalitě a druhu mléka a může být žlutozelená či namodralá. Vyrobít syrovátku lze z jakéhokoli druhu mléka. Nejčastěji je to však mléko kravské, ale dá se využít i ovčí, kozí či velbloudí [19]. Uvolňováním syrovátky se rozumí synereze, která je považována za hlavní viditelnou vadu jogurtu, k níž dochází během jeho skladování. Synereze jogurtu je závislá na vaznosti vody. Čím je vaznost vody vyšší, tím dochází k nižšímu uvolňování syrovátky. S narůstající dobou skladování je synereze jogurtu vyšší a vaznost vody se zároveň snižuje, což bylo ověřeno Dimitrellou a kol. [22].

2.3 Vysokoproteinové mléčné výrobky

Česká legislativa ani Codex alimentarius nedefinuje jogurty s vysokým obsahem bílkovin. Codex alimentarius ale definuje termín koncentrované fermentované mléko, kterým se výrobci vysokoproteinových jogurtů řídí. Dle tohoto by takové jogurty měly obsahovat minimálně 5,6 % bílkovin a méně než 15 % tuku. Obsah bílkovin v jogurtu lze zvýšit buď před fermentací fortifikací sušeným mlékem, odpařením nebo membránovou filtrací, nebo po fermentaci pasírováním, mechanickou separací či také membránovou filtrací [23].

Zájem o jogurty s vysokým obsahem bílkovin se zvyšuje, což je spojeno se snahou o snížení tělesné hmotnosti a se zájmem spotřebitelů o produkty s omezeným množstvím aditiv. Běžně se do jogurtů přidává syrovátkový protein, který má schopnost zvyšovat aminokyselinový profil plazmy a spouštět syntézu bílkovin ve svalech [23].

Proteiny jsou důležitými makroživinami pro správné fungování lidského těla (stavební materiál pro svaly, regulace trávení a hladiny cukru v krvi, napínání a natahování svalů, pevnost a pružnost kůže atd.). Doporučená denní dávka bílkovin pro zdravého dospělého člověka s minimální fyzickou aktivitou je 0,8 g na kg tělesné hmotnosti [24; 25].

2.3.1 Fortifikace mléčných výrobků proteinovými izoláty

Proteinové izoláty jsou tou nejrafinovanější formou bílkovin s jejich nejvyšší koncentrací. Na rozdíl od mouky nebo proteinových koncentrátů neobsahují izoláty dietní vlákninu. Proteinové izoláty jsou považovány za složky mající významnou roli při vývoji nových potravinových výrobků se zvýšeným obsahem bílkovin, jako je pečivo, kojenecká výživa, dětské mléčné výrobky a další. Fortifikace mléčných výrobků je využívána především pro vylepšení jejich nutriční hodnoty a je to způsob, jak zvýšit příjem bílkovin v lidské stravě. Studie jsou zaměřovány na sensorické a reologické vlastnosti mléčného výrobku po přidání proteinového izolátu, jako je synereze jogurtu, změna textury a viskozity. Tyto vlastnosti závisí na druhu přidávané bílkoviny či použitých mikroorganismů při fermentaci mléka [26].

2.3.1.1 Živočišné proteinové izoláty

Živočišné bílkoviny obsahují kompletně všechny esenciální aminokyseliny. U rostlinných proteinů tomu tak není, většinou jedna nebo dvě aminokyseliny se v dané bílkovině vůbec nevyskytují [26]. V potravinářském průmyslu je možné setkat se nejčastěji se syrovátkovou bílkovinou. Je to díky jejím výhodným funkčním vlastnostem, jako je gelovatění, pěnění, emulgace, rozpustnost a dobré tepelné vlastnosti [27]. Surovátka je kapalný vedlejší produkt při výrobě sýrů či jiných mléčných výrobků a je zpracovávána sprejovým sušením do formy proteinového koncentráту, izolátu či hydrolyzáту. Při výrobě syrovátkového proteinového izolátu je odstraněno značné množství tuku a laktosy, díky čemuž je umožněna konzumace této bílkoviny i lidem s intolerancí laktosy. Bílkovina je využívána jako přísada do různých druhů mléčných výrobků, masa a pekařských výrobků [26]. Důležitou oblastí studia fortifikace potravin syrovátkovými proteiny je studium interakcí mezi bílkovinou a složkou potravy. Interakce syrovátkového proteinu a polysacharidů má přímý vliv na makroskopické vlastnosti výrobků, jako je tekutost, stabilita, textura a senzorické vlastnosti [28].

Do potravinových výrobků se přidává také sušené mléko. Pro jogurty je vhodnější použít sušené mléko odstředěné než plnotučné sušené mléko, které dává jogurtu žluklou pachut'. Přídavek sušeného mléka při výrobě jogurtu se pohybuje v rozmezí 1–6 %, doporučené množství je mezi 3–4 %. Obecně platí, že přídavek 2 % odstředěného sušeného mléka zlepšuje kvalitu textury jogurtu a přidání většího množství než 6 % vyvolává v jogurtových výrobcích práškový pocit v ústech. Produkty obohacené o tuto složku mají bohatý obsah tyrosinu a minerálních látek, jako je vápník, hořčík, měď, zinek, draslík a mangan [29].

Za nejdůležitější třídu mléčných proteinů jsou považovány kaseiny. Jejich vazebné, pěňivé, gelotvorné, zahušťovací a emulgační schopnosti jsou způsobeny především vysokým obsahem prolinu. Micelární kaseiny jsou získávány snížením koncentrace syrovátkového proteinu pomocí mikrofiltrace. Kaseináty jsou připravovány okyselením odstředěného mléka, což vede ke srážení kaseinu, následuje promývání vodou k odstranění rozpustných složek a konečná neutralizace. Množství přídavku těchto složek do jogurtové směsi je pouze 1 až 2 %. Vyšší množství přídavku kaseinátu může způsobit nekontrolované zahušťování výrobku [29].

2.3.1.2 Rostlinné proteinové izoláty

Trendem poslední doby je navyšování příjmu rostlinných zdrojů potravin a nahrazování tak těch živočišných ať už z ekologických, etických či zdravotních důvodů. Týká se to i fortifikace potravinových výrobků bílkovinami. Bílkoviny živočišného původu mají vysoké nutriční hodnoty díky svému složení aminokyselinového profilu a vysoké stravitelnosti. Strava bohatá na živočišné bílkoviny je ale náročná na zdroje těchto bílkovin a zároveň je spojena se zdravotními potížemi a riziky, jako jsou kardiovaskulární onemocnění, rakovina a zvýšená úmrtnost [30]. Nejběžnější náhražkou živočišného proteinu je sójový protein. Produkty se sójovým proteinem jsou ideálním zdrojem některých esenciálních aminokyselin, které jsou v nedostatku v cereáliích. Sójový proteinový izolát obsahující minimálně 90 % bílkovin byl navržen tak, aby byl stejně funkční jako živočišné proteinové izoláty. Má jemnou příchut', skvělé nutriční vlastnosti, některé mohou emulgovat tuk a vázat vodu. Díky tomu může být přidáván do potravin a zlepšovat tak jejich senzorické vlastnosti, jako je například vlhkost, aniž by to negativně ovlivnilo texturu dané potravy. Pro využití při výrobě mléčných výrobků jsou izoláty nejpříjemnější formou kvůli jemným malým částicím a jejich schopnosti dispergovat. Kolem 10 % kojenců krmenými umělým mlékem je krmeno výživou s přídavkem sójového proteinu. To je doporučováno jedincům alergickým na mléčnou bílkovinu a těm, kteří mají intoleranci laktosy či nedostatek laktasy. S vývojem

rozpuštěných koncentrátů a izolátů byla umožněna výroba kvalitnější dětské výživy na bázi sóji mající tak lepší barvu, chuť a vůni. Sójový protein je využíván i při výrobě tavených sýrů jako náhrada až 50 % kaseinátu sodného. Takovéto sýry jsou ale problematické na potravinách (např. pizza), kde by se sýr měl roztékat. Sýr s přídatkem sójového proteinu se netaví a má vláknitou strukturu charakteristickou pro mozzarella. K dostání je na trhu také směs sójové a mléčné bílkoviny, která je kombinovaná tak, aby byl obsah bílkovin podobný mléku, a aby sloužila jako přísada do pekařských výrobků, omáček, masných výrobků a dalších [31].

Zdrojem bílkovin jsou i obilná zrna a pseudoobiloviny. Obiloviny obsahují 8–11 % proteinů, které jsou bohaté na aminokyseliny obsahující síru, a mají nízký obsah lysinu, threoninu a tryptofanu. Většina cereálních proteinů je málo rozpustných ve vodě, proto se většinou používají spíše pro fortifikaci pevných potravin. Dlouho využívaným, například jako ingredience do náhražek masa, je pšeničný lepek, který má výborné reologické vlastnosti [30]. V současné době je využíváno jako zdroj proteinů nejen pšeničné zrno, ale i pšeničné otruby, blíže specifikované v kapitole 2.4. Lepek je spojený s onemocněním celiakie. Lidé s tímto autoimunitním onemocněním lepek konzumovat nemohou. To lze řešit vyžitím jiného zdroje. Lze použít například bezlepkový rýžový protein. Jeho hypoalergenní vlastnosti umožňují náhradu za sójový protein, například do kojenecké výživy. Používá se také ale do nápojů, cereálních tyčinek či masných výrobků. Jeho nevýhodou ale je, že má charakteristický zápach [32]. Vyšší obsah bílkovin v porovnání s ostatními cereáliemi má oves, nicméně stejně jako ostatní obiloviny postrádá aminokyselinu lysin. Ovesná zrna jsou spotřebitelsky vysoce přijatelná a hojně využívána do běžných výrobků, jako jsou nápoje či pečivo [33]. Brückner-Gühmann a kol. sledovali rozdíly jogurtů fortifikovaných odstředěným mlékem, ovesným proteinovým koncentrátem a izolátem. Došli k závěru, že proteinový izolát je skvělým zdrojem pro vylepšení nutriční hodnoty jogurtu, ale není tak dobře využitelný z technologického hlediska oproti proteinovému koncentrátu, který se ukázal jako dobrý zdroj pro náhradu živočišné bílkoviny, jelikož nezvyšuje synerezi jogurtu a má lepší sensorické vlastnosti než jogurt s izolátem [33]. Dalšími skvělými obilnými zdroji proteinů, a navíc vhodnými zdroji pro lidi trpící celiakií, jsou pseudoobiloviny amarant, quinoa nebo pohanka [30].

Roste produkce hrachu a s tím možností jeho využití, zejména jako náhrada živočišných nebo sójových proteinů. Ve srovnání s obilnými proteiny má hrachový protein lépe vyvážený aminokyselinový profil s vysokým obsahem lysinu, ale za to relativně menším obsahem aminokyselin obsahující síru. Hrachový protein během zpracování potravin může tvořit slabší a méně elastické gely než protein sójový. Očekává se, že celosvětový trh s hrachem bude růst a hrachová bílkovina bude používána v nejrůznějších potravinách a doplňcích stravy [34].

2.3.2 Maskování negativních sensorických vlastností proteinových izolátů

Chuť je sensorickou odpovědí, která je výsledkem interakce substrátu a receptoru na úrovni mikrovilózní membrány. Rozeznáváme čtyři chutě – sladkou, kyselou, hořkou a slanou. Pátou chutí je umami a je to chuť glutamátu sodného. Především ve farmaceutickém průmyslu jsou pro maskování chutí značně důležité lipidy a vyvíjení různých systémů pro uvolňování látek do těla, jako jsou liposomy, fytosomy, ethosomy, pevné lipidové nanočástice a mikročástice. Lipidy nacházejí své uplatnění při modifikaci uvolňování, tvoří ochranu proti vlhkosti a zjednodušují polykání a díky těmto vlastnostem jsou efektivní při maskování hořké chuti. Vzhledem k tomu, že jsou lipidy hydrofobními látkami, tak jsou snadno stravitelné ve vodném prostředí lidského těla a snadno se vstřebávají. Glycerol a mastné kyseliny spolu reagují za vzniku triacylglycerolů obsahující ve své struktuře esterové vazby, které jsou v přítomnosti

vody a monoacylglycerolu hydrolyzovány, což vede ke tvorbě volných mastných kyselin rozpustných ve vodě s následnou absorpcí v lidském těle [35].

Používání rostlinných i živočišných proteinových izolátů do potravin, často vyvolává hořkou chuť výsledného produktu. Existuje řada způsobů, jak se hořké chuti zbavit. Je možné využít selektivní extrakci rozpouštědlem, adsorpci makroporézní pryskyřicí nebo aktivním uhlím. Tyto metody ale mohou vést ke ztrátě peptidů nebo aminokyselin. Hořkost lze maskovat přidáním jiných přísad, jako je cyklodextrin, maltodextrin nebo polyfosfáty. Sladidla a příchutě jsou používány pro potlačení vnímání hořké chuti. Bylo zjištěno, že peptidy enzymového hovězího proteinového hydrolyzátu mohou fungovat jako blokátory chuťových receptorů T2R4. Využití různých látek k maskování chuti je sice účinné, ale některé mohou způsobit ztrátu funkčnosti. K vylepšení chuti proteinových izolátů se dá využít i Maillardova reakce, která sice dokáže zabránit špatné chuti peptidů, ale zároveň může změnit jejich strukturu, což může vést ke změně jejich biologické aktivity. Vhodnou metodou pro odstranění hořkosti bílkovin je enkapsulace, která brání vystavení se peptidů receptorům hořké chuti, a navíc je to technologie, která neovlivňuje molekulární strukturu a fyziologickou funkci těchto peptidů [36].

2.3.2.1 *Enkapsulace*

K zamaskování chuti je využívána enkapsulace [37]. Enkapsulace je proces zachycení jedné látky dovnitř látky druhé [38]. Obalovanou látkou mohou být látky pevné, kapalné i plynné a mohou to být čisté materiály nebo směsi [39]. Membrána, která obklopuje a uzavírá tak vnitřní fázi, může být vyrobena z cukrů, gum, proteinů, polysacharidů, lipidů a syntetických polymerů [39]. Díky enkapsulaci dochází k postupnému uvolňování substancí, což je hojně využíváno ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu [39; 40]. Enkapsulované materiály jsou chráněny před vlhkostí, teplem, vzduchem, světlem a dalšími extrémními podmínkami a díky tomuto mají lepší stabilitu a delší životaschopnost [40; 37]. Produkt může být enkapsulačními technikami určen k pomalému uvolňování v čase nebo k uvolnění v určitém bodě [41].

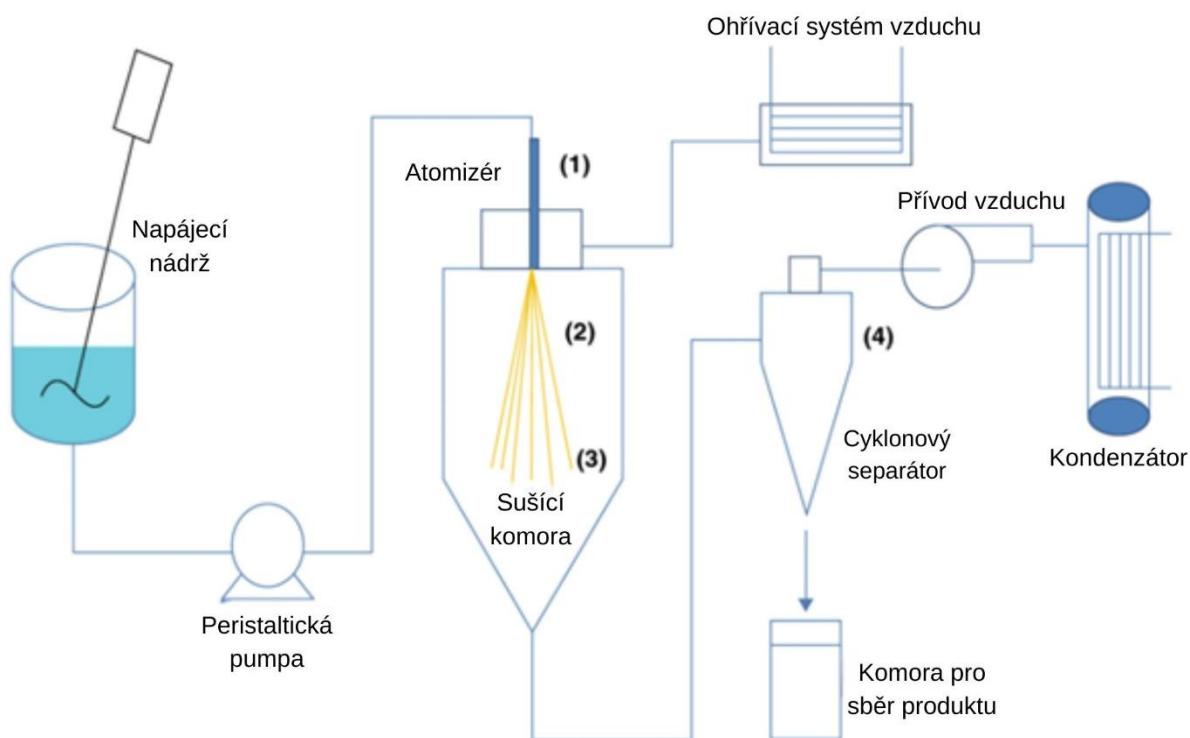
Obecně enkapsulace zahrnuje tři kroky: vytvoření stěny kolem materiálu; zajištění, aby nedocházelo k úniku; udržení nežádoucích materiálu mimo kapsle [37].

Enkapsulace zahrnuje techniky, jako jsou sprejové sušení, sprejové chlazení, extruze, odstředivá extruze, fluidní vrstva, enkapsulace do lypozomů, koacervace, lyofilizace a kokrytalizace [37; 40].

Obalových látek, které je možné využít pro enkapsulaci materiálu, je celá řada. V potravinářském průmyslu jich ale není povoleno tolik jako ve farmaceutickém, jelikož hodně látek není považováno za GRAS materiály. Při výběru zapouzdřovacího materiálu pro enkapsulaci je třeba myslet na funkčnost finálního produktu, typ uvolňování enkapsulátu, stabilitu a náklady. Materiál musí být požitelný, biodegradabilní a schopen vytvořit bariéru mezi vnitřní obalovanou fází a jejím prostředím. Kromě toho musí poskytovat maximální ochranu aktivní látky před vlivy životního prostředí, udržení aktivní látky v kapsli během zpracování a doby skladování, nesmí s aktivní látkou reagovat a měl by splňovat dostatečné reologické vlastnosti i ve vysokých koncentracích. Nejpoužívanějšími materiály pro enkapsulaci aktivních látek v potravinářském průmyslu jsou polysacharidy. Využívá se škrob a jeho deriváty, jako je například amylosa, amylopektin, dextryny, maltodextryny, polydextrosa, celuloza. Uplatňují se i rostlinné extrakty (arabská guma, karaya guma, mesquite guma, pektiny a rozpustné polysacharidy ze sójových bobů), extrakty mořských řas (karagenany a alginát), mikrobiální a živočišné produkty (dextran, chitosan, xanthan, gellan),

ale také modifikované polysacharidy, proteiny (kasein, želatina, lepek), lipidy (včelí vosk, karnaubský vosk, kandelilový vosk) [38].

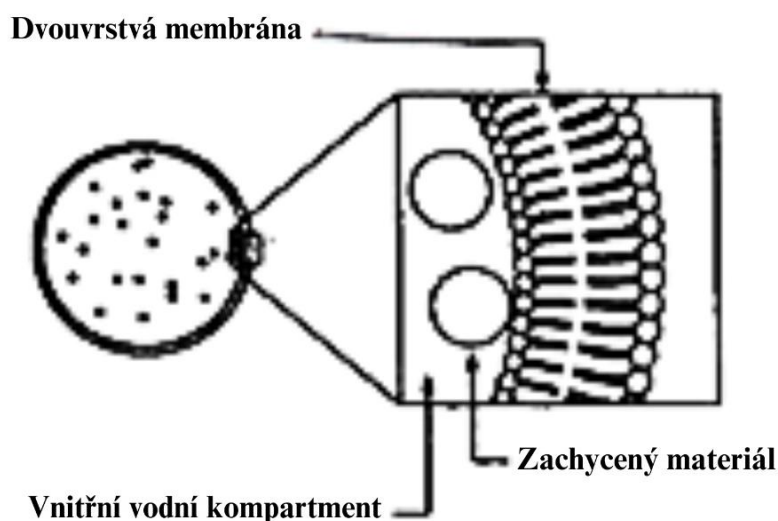
Nejpoužívanější metodou enkapsulace v potravinářském průmyslu je sprejové sušení, jelikož zařízení je snadno dostupné a výrobní náklady jsou nižší než u ostatních metod enkapsulace [41]. Sprejové sušení (Obrázek 3) je transformace daného materiálu v tekuté podobě (emulze, disperze, roztok) na prach [42]. Materiál pro enkapsulaci je homogenizován obvykle v poměru 1:4 (aktivní látka:nosičový materiál) [37]. Směs je následně převedena do sprejové sušárny, atomizována pomocí trysky, voda ze směsi je vypařena během kontaktu směsi s horkým vzduchem a kapsulovaný materiál je sesbírán poté, co spadá na dno sušárny [37]. Velikost částic prachu se pohybuje od 1–60 μm . Na velikosti částic má vliv atomizér. Čím větší velikost kapénky, tím větší je částice na konci procesu [42].



Obrázek 3: Proces enkapsulace sprejovým sušením. (1) Atomizace; (2) Rozprašování, kontakt s horkým vzduchem; (3) Evaporace; (4) Separace produktu – převzato a upraveno [43]

Další hojně využívanou metodou je enkapsulace do liposomů. Liposomy (Obrázek 4) jsou sférické měkké částice skládající se z jedné nebo více fosfolipidových dvojvrstev, které zaobalují vodné médium [44]. Díky přítomnosti hydrofobní i hydrofilní fázi ve struktuře liposomu se dají využívat pro zachycování a uvolňování látek, které jsou rozpustné jak v tucích, látek rozpustných ve vodě i amfifilních materiálů [45]. Obecně jsou sestavovány z čistých lipidů nebo jejich směsi. Rozpustnost molekul lipidů výrazně ovlivňuje dynamiku výměny mezi dvojvrstvou a okolním prostředím. Nejvíce využívanými lipidy jsou fosfolipidy, zejména fosfatidylcholin, který je nábojově neutrální, záporně nabitá kyselina fosfatidová, fosfatidylglycerol, fosfatidylserin atd. K získání liposomů se dají využít i rostlinné a živočišné extrakty. Z rostlin či sinic se nejvíce získávají fosfoglyceridy a glykosylglyceridy, zatímco z erytrocytů nebo jaterních buněk se získávají fosfoglyceridy, sfingolipidy a steroly [44]. Nejběžnějším fosfolipidem je hydrofobní fosfatidylcholin izolovaný ze sóji nebo vaječných

žloutků. Liposomy se snadno vyrábějí, dají se skladovat lyofilizací a vlastnosti, jako jsou permeabilita, stabilita, povrchová aktivita a afinita se mohou lišit složením lipidů a velikostí částic. Velikost liposomálních částic se v průměru pohybuje od 25 nm do několika mikronů. Své využití najdou v medicíně, kosmetice, farmaceutickém i potravinářském průmyslu, kde byly vyvinuty pro přenos proteinů, enzymů, vitaminů, antioxidantů, chutí a vůní. Velkou výhodou oproti jiným enkapsulačním technikám je stabilita liposomů, díky které se mohou dostat ve vodě rozpustné materiály i do prostředí s vysokou aktivitou vody [37; 45].



Obrázek 4: Schéma liposomu – převzato a upraveno [37]

Na základě lipidového složení, způsobu přípravy a průměru částic se liposomy rozdělují do 5 skupin (Tabulka 2).

Tabulka 2: Rozdělení liposomů [46]

Název skupiny	Označení	Velikost částic	Počet lipidových dvojevrstev
Multilamelární vesikuly	MLV	0,5 – 5 μm	5 - 20
Malé unilamelární vesikuly	SUV	20 – 200 nm	1
Velké unilamelární vesikuly	LUV	více než 200 nm	1
Obří unilamelární vesikuly	GUV	více než 1 μm	1
Multivesikulární vesikuly	MVV	více než 1 μm	multilipidová dvojevrstva

Pro zaručení dobré enkapsulace je nutná kontrola retence a uvolňování materiálu, což lze několika způsoby [47]:

- Čím větší velikost pórů, tím rychlejší uvolňování. Velikost pórů hydrogelové matrice je možné kontrolovat množstvím biopolymeru a síťovacího činidla.
- Čím menší částice, tím rychleji dochází k uvolňování. Velikost částic lze upravit změnou podmínek během přípravy nebo výrobní metody.
- Mezi bioaktivní látkou a biopolymerem se uplatňují různé interakce, např. hydrofobní, vodíkové můstky nebo elektrostatické síly.

- Hydrogelové částice mohou být navrženy tak, aby disociovaly po vystavení specifickým podmínkám a tím užitečněji uvolní svůj obsah.
- Kuličky lze obalit větším počtem biopolymerních vrstev nebo jiných materiálů pro změnu jejich propustnosti.

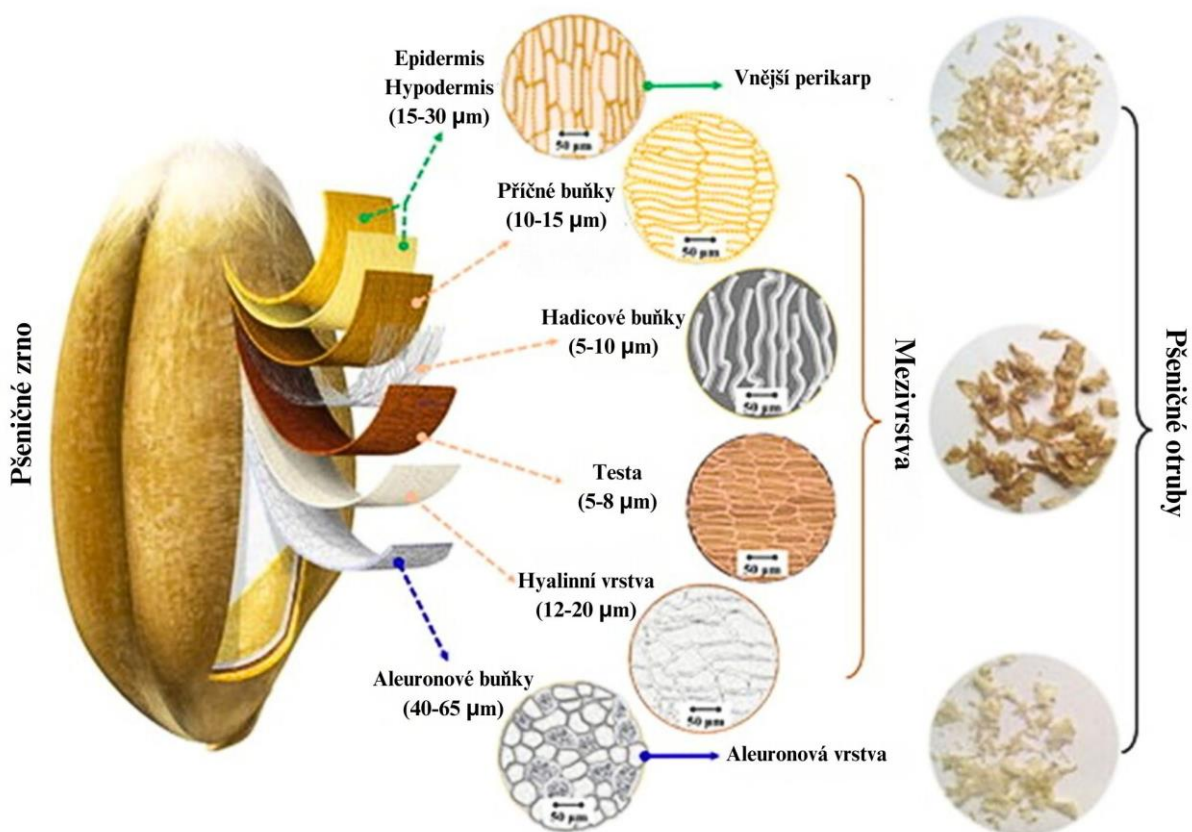
Bílkoviny a peptidy jsou bioaktivní látky, vyznačující se nutričními, antimikrobiálními, antioxidantními, chuťovými, protihypertenzními, protidiabetickými a protirakovinnými vlastnostmi. Přidávání bioaktivních proteinů do různých potravin bývá často problematické kvůli jejich náchylnosti k chemické či biochemické degradaci, ke vzájemnému seskupování a taky k pachutím, jako je hořkost a svíravost. Je snaha tento problém řešit enkapsulací proteinů. Pro enkapsulaci proteinů jsou vhodné hydrogelové kuličky z biopolymerů, protože jejich příprava probíhá za mírných podmínek, které nemění vlastnosti proteinů a také protože mohou být připraveny z potravinových složek. Hojně využívaným biopolymerem je alginát, což je záporně nabitý polymer izolovaný z hnědých řas, který má schopnost tvořit silné hydrogely. Alginátové částice obalující protein lze vyrobit extruzí roztoku alginátu sodného obsahujícím bílkovinu do dvojmocného síťovacího roztoku. Často se využívá roztok obsahující Ca^{2+} ionty. Gelace nastává výměnou Na^+ iontů alginátu sodného s Ca^{2+} ionty síťovacího činidla. Proteiny mohou být chráněny alginátovými částicemi, které mají dostatečně malé póry a specifické interakce mezi proteinem a hydrogelem. Proteiny jsou uvolněny, jakmile se tyto podmínky změní [47].

Bioaktivní peptidy jsou enkapsulovány nejčastěji kvůli maskování jejich hořké chuti, která je důsledkem vystavení hydrofobním aminokyselinových zbytků chuťovým receptorům. Dalším důvodem enkapsulace může být také zajištění nižších hygroskopických vlastností k zajištění požadované textury a stability během skladování peptidů a proteinových hydrolyzátů. Bylo publikováno mnoho přístupů enkapsulace peptidů, a to pomocí lipozomů, emulzí, mikrokapslí či anohydrogelů. Metody mají však své výhody i nevýhody. U přípravy lipozomů je častým problémem její vysoká cena. Enkapsulace do mikrokapslí snižuje biologickou aktivitu polypeptidů, kvůli vysoké teplotě používané během zpracování [48; 49].

V potravinářském průmyslu je díky enkapsulaci poskytnuta ochrana chutě, vůně nebo určité ingredience. Dá se využít pro separaci částic, které by mohly ovlivňovat chuť či vůni ostatních ingrediencí. V potravinářství se enkapsulují kyseliny, lipidy, enzymy, mikroorganismy, umělá sladidla, vitaminy a minerální látky, vodu, kypřící látky, barviva, soli. Je možné například separovat olej z vaječných bílků pro větší objem při jejich šlehání [41].

2.4 Pšeničné otruby jako zdroj proteinu

Pšeničné otruby jsou hlavním vedlejším produktem při mletí pšenice [50]. Je to vnější část pšeničného zrna sestávající z perikarpu (epidermis, hypodermis a vnitřní perikrap), obalu semene (testa) a hyalinní vrstvy [50; 51]. Schéma obalových vrstev pšeničného zrna je vyobrazeno na obrázku (Obrázek 5). Aleuronová vrstva těsně napojena na vrstvu hyalinní patří z botanického hlediska k endospermu [51]. Během procesu mletí je ale separována s ostatními vnějšími vrstvami a tvoří tak společně pšeničnou otrubu, tudíž je aleuronová vrstva běžně označována jako jedna z otrubových slupek [51]. Každá je tvořena mrtvými buňkami a má jedinečné chemické složení a fyzikální struktury, díky kterým mají jednotlivé vrstvy odlišné mechanické a elektrické vlastnosti a jinou náchylnost k enzymolýze a chemické hydrolyze [38; 52]. Cílem mletí pšeničného zrna je oddělit klíček a otruby od škrobového endospermu, aby mohl být endosperm pomletý na mouku [53]. Je prokázáno, že konzumace celozrnných cereálií přináší benefity pro lidské zdraví, zahrnující ochranu před onemocněními, jako je například obezita, diabetes nebo kardiovaskulární nemoci [52].



Obrázek 5: Schéma obalových vrstev pšeničného zrna – převzato a upraveno [51]

2.4.1 Využití pšeničných otrub

I přesto, že jsou otruby zdrojem velkého množství prospěšných nutrientů, lidská spotřeba otrub je velmi nízká [52]. Velká většina se využívá jako krmivo pro hospodářská zvířata [52]. Pouze malé procento je ve zpracované formě využito v potravinářském průmyslu do potravin se složením bohatým na vlákninu, jako například pečivo a cereálie [52]. Ještě menší část se používá v nezpracované podobě ve zdravé výživě [52]. Pšeničné otruby mají využití i mimo potravinářský průmysl. Mohou být potenciálním nosičem pro imobilizaci enzymů. Mantzourani a kol. imobilizovali kmen *Lactobacillus paracasei* K5 na pšeničných otrubách k produkci nového nápoje z plodů dřínu obecného (*Cornus mas L.*), který má vysokou nutriční hodnotu [54]. Otruby se dají využít i jako substrát pro produkci enzymů, například Gowhar a kol. stanovili, že pšeničné otruby mohou fungovat jako substrát pro *Penicillium chrysogenum* k syntéze amylasy [54]. Díky obsahu celulosy, ligninu, funkčním skupinám pektinu a hemicelulosy jsou otruby schopny adsorbovat barviva, jako je například ostazinová modř (reactive blue 19), methylenová modř, reactive red 180 nebo rhodamin B, která se z textilního průmyslu uvolňují do odpadních vod [55]. Ve vrstvách pšeničného zrna je obsaženo značné množství fenolických látek, které v rostlině fungují jako ochrana před patogeny a vlivy okolního prostředí. Cengiz a kol. [56] extrakcí otrub s největším podílem fenolických látek detekovali kyselinu ferulovou s koncentrací 20–1500 mg/100 g, otruby se proto využívají pro její extrakci. Mezi dalšími detekovanými fenolickými látkami byly kyselina kávová, p-kumarová, vanilová a syringová. Pyrolýzou pšeničných otrub je možné připravit biouhel, který se využívá především jak hnojivo půd [57].

2.4.2 Chemické složení pšeničných otrub

Otruby mají nízký obsah nasycených tuků a velmi nízký obsah sodíku. Jsou výborným zdrojem vlákniny, niacinu, vitamínu B6, železa, hořčíku, fosforu, zinku, mědi, manganu a selenu, ale také bílkovin, thiaminu, riboflavinu a draslíku [52]. Přehled nutričních hodnot pšeničných otrub je uveden v tabulce (Tabulka 3).

Sacharidy otrub jsou komplexní, zahrnující rozpustnou i nerozpustnou vlákninu, převážně se jedná o arabinoxylany a celulózu. Hlavními sacharidy jsou xylosa, arabinosa, glukosa a kyselina uronová. V menším množství ramnosa, galaktosa, fukosa a manosa [52].

Pšeničné otruby jsou oproti endospermu bohaté na vlákninu, [58; 50]. Stevenson a kol. udávají množství vlákniny pšeničných otrub mezi 36,5 – 52,4 g na 100 g [59]. Obsah vlákniny v pšeničném zrně se pohybuje pouze v rozmezí 11,6 – 17,0 [59]. Vlákninou jsou neškrobové polysacharidy (celulosa, hemicelulosa, pektinové látky) a lignin, které člověk získává z rostlinných zdrojů. Lidské tělo nedokáže vlákninu strávit v tenkém střevě, jelikož savci neprodukuje enzymy, které by byly schopné hydrolyzovat vlákninu na základní monomerní jednotky. Do tlustého střeva se díky tomu vláknina dostane neporušená a je využívána pro fermentaci rezidentními bakteriemi [60]. Příjem vlákniny u člověka by měl být 30 g denně [25]. Dobrymi zdroji vlákniny jsou celá zrna, luštěniny, zelenina, ořechy, semínka a ovoce [60]. Zvýšený příjem vlákniny snižuje krevní tlak a hladinu cholesterolu, prospívá při gastrointestinálních poruchách, diabetu, obezitě, zlepšuje imunitní funkce atd. [61].

Polyfenoly běžně se vyskytující v rostlinách ve velkém množství jsou považovány za přírodní antioxidanty kvůli jejich schopnosti silně vychytávat volné radikály. Kromě antioxidantních vlastností se vyznačují protizánětlivými, antibakteriálními a protirakovinnými účinky. V rostlinách se vyskytují ve dvou formách, jako volné nebo vázané, a to kovalentně s celulózą, hemicelulózą, ligninem, pektiny a proteiny v buněčné stěně. Polyfenoly v otrubách jsou vázané a tím pádem nemohou být extrahovány pomocí organických rozpouštědel. Extrakcí polyfenolů z pšeničných otrub se zabývali Huang a spol. a byly vyextrahovány látky, jako například kyselina kávová, p-kumarová, vanilová, p-hydroxybenzoová či sinapová [62].

Tabulka 3: Chemické složení pšeničných otrub na 100 g [52]

Sacharidy	64,5 g	Voda	9,9 g
Vláknina	42,8 g		
Cukry	0,4 g	Popel	5,8 g
Tuky	4,3 g	Minerální látky	
Nasyčené	0,6 g	Ca	73 mg
Mononenasyčené	0,3 g	Fe	10,6 mg
Polynenasycené	2,2	Mg	611 mg
		P	1013 mg
Bílkoviny	15,5 g	K	1182 mg
		Na	2 mg
Aminokseliny		Zn	7,3 mg
Tryp	282 mg	Cu	1 mg
Thre	500 mg	Mn	11,5 mg
Ile	486 mg	Se	77,6 µg
Leu	928 mg		
Lys	600 mg	Vitaminy	
Met	234 mg	A	9,0 IU
Cys	371 mg	E	1,5 mg
Phe	595 mg	K	1,9 µg
Tyr	436 mg	B1	0,5 mg
Val	726 mg	B2	0,6 mg
Arg	1087 mg	B3	13,6 mg
His	430 mg	B6	1,3 mg
Ala	765 mg	B9	79 µg
Asp	1130 mg	B5	2,2 mg
Glu	2874 mg	Cholin	74,4 mg
Gly	898 mg		
Pro	882 mg		
Ser	684 mg		

2.4.3 Vlastnosti a kvalita proteinů pšeničných otrub

V průměru pšeničné otruby obsahují 15,5 % bílkovin, které jsou distribuovány v jednotlivých vrstvách, v aleuronové vrstvě je to přibližně 22,9 %, v testu 5,7 % a v perikarpu 5,1 % [52]. Hlavními proteiny pšeničných otrub jsou albuminy a globuliny, zatímco v endospermu pšeničného zrna jsou dominantními gliadiny a gluteniny [63]. Otrubové proteiny mají příznivější aminokyselinový profil než ty v endospermu, obsahují víc lysinu, argininu a glycinu, což zvyšuje biologickou hodnotu otrub [63]. Aminokyseliny v otrubách se však vyskytují ve špatně stravitelné formě, protože jsou uzavřeny buněčnou stěnou polysacharidů [63]. Nejběžnější metodou pro extrakci bílkovin z otrub je alkalická extrakce, která naruší buněčnou stěnu a následně vysráží protein za kyselých podmínek [63]. Arte a kol. udává, že zpracováním otrub mléčným kvašením a enzymy karbohydrátázami a proteázami se zvyšuje rozpustnost proteinů a tím i jejich stravitelnost [64]. Kombinace účinků fermentace a enzymů je založena na tom, že enzymy degradující buněčnou stěnu zároveň zvyšují obsah fermentovatelných sacharidů, které zvyšují růst bakterií mléčného kvašení [64]. Čím je lepší mikrobiální růst, tím je způsobeno rychlejší okyselení, které poté aktivuje endogenní enzymy v otrubách a ty zvyšují hydrolyzu a rozpustnost bílkovin [64]. Proteiny jsou zásobárnou bioaktivních peptidů vykazující imunomodulaci, osteoprotekci, antihypertenzi, antioxidační, antimikrobiální a antitrombotické účinky [52].

Rostlinné proteiny jsou obecně nejméně rozpustné ve svém izoelektrickém bodě, což odpovídá hodnotě pH 4-5. Alzuwaid a kol. uvádí nejmenší rozpustnost proteinů pšeničných otrub při pH 4. Se zvýšením či snížením pH se rozpustnost proteinů roste v důsledku zvýšení pozitivního a negativního náboje, což vede k většímu odpuzování molekul a tím i k vyšší rozpustnosti. Rozpustnost je jednou z nejdůležitějších vlastností bílkovin, jelikož ovlivňuje další vlastnosti, jako například pěnění, emulgaci a gelovatění. Rozpustnost je také indikátorem denaturace proteinů. Nízká rozpustnost proteinů v širokém rozmezí hodnot pH indikuje silnou denaturaci, která negativně ovlivňuje funkční vlastnosti proteinů a omezuje jejich využitelnost v potravinářském průmyslu. Výsledky zmíněné studie ukazují vysokou rozpustnost proteinů pšeničných otrub v širokém rozmezí pH a tím tedy minimální denaturaci, což ukazuje na fakt, že je tato bílkovina vynikajícím materiálem pro různé aplikace potravinářství [63].

Proteiny se skládají z hydrofilních i hydrofobních aminokyselin, to znamená, že mohou interagovat s vodou i s olejem. Absorpční kapacita vody je důležitou vlastností bílkovin a může ovlivňovat vlastnosti potravinářských výrobků. U masných výrobků ovlivňuje čerstvost a senzorické vlastnosti, u sýrů a pečiva může prodloužit jejich trvanlivost. Absorpční kapacitu vody bílkovin z pšeničných otrub stanovili Alzuwaid a kol. na 2,9 g/g, což je stejný výsledek uváděný u ovesného proteinového koncentráту [63].

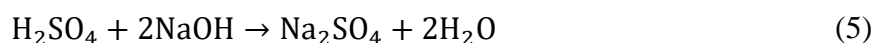
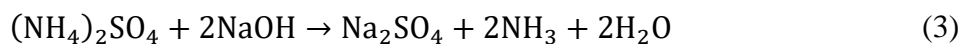
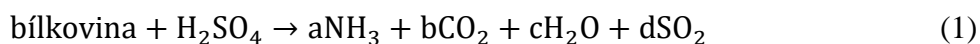
2.5 Analýza nutričních a technologických vlastností jogurtů

Následující kapitoly se věnují analýze jogurtů se zaměřením na obsah bílkovin, reologické vlastnosti a stanovení synereze a senzorické vlastnosti jogurtů.

2.5.1 Stanovení celkového dusíku dle Kjeldahla

Kjeldahlovou metodu pro stanovení celkového dusíku v organických látkách vyvinul dánský chemik Johan Kjeldahl v roce 1883 [65]. Tuto metodu můžeme dělit na 3 po sobě jdoucí kroky: mineralizace (rovnice 1 a 2), destilace (rovnice 3 a 4) a titrace (rovnice 5). Mineralizace je provedena působením vařící kyseliny sírové a katalyzátoru. Je získán mineralizát, obsahující

síran amonný, který je kvantitativně převeden do destilační aparatury. Po přidavku báze je síran amonný přeměněn na těkavý amoniak, který je jímán do předlohy a následně titrován [65; 66].



2.5.2 Reologické vlastnosti jogurtu

Reologie je fyzikálním oborem zabývající se deformací materiálů [67]. Deformací se rozumí pohyb částic hmotného tělesa k sobě navzájem tak, aby nebyla zničena kontinuita těla [67]. Texturní a reologické vlastnosti jogurtu jsou důležitými atributy pro spotřebitele [68]. Textura jogurtu může být ovlivněna různými faktory, jako jsou například kvalita a složení použitého mléka, obsah tuku, celkový obsah sušiny, tepelná úprava mléka, kombinace použitých bakterií mléčného kvašení nebo doba skladování [68].

Kapaliny lze dělit na newtonské a neneutronovské. Newtonovskou kapalinou je např. voda, u níž je viskozita při dané teplotě a tlaku fyzikální konstantou. Viskozita neneutronovských kapalin není fyzikální konstantou a jedná se například o emulze nebo směsi pevných látek s kapalinami. Stanovuje se dynamická viskozita, která je obecně závislá na teplotě a na tlaku. U neneutronovských kapalin je závislá na tečném napětí a rychlostním spádu. V případě newtonovských kapalin se viskozita v závislosti na tečném napětí nemění. Neneutronovské kapaliny závislé na čase se rozdělují na thixotropní, u kterých viskozita s časem klesá (např. jogurt) a rheopetické, které s časem houstnou (např. sádra). Neneutronovské kapaliny na čase nezávislé se dělí na pseudoplastické, dilatantní a plastické. U pseudoplastických kapalin se viskozita se zvyšujícím se smykovým napětím snižuje, u dilatantních viskozita roste a plastické kapaliny mají mez poddajnosti [69].

2.5.3 Stanovení synereze jogurtů

Synereze jogurtu je spontánní kontrakcí gelu doprovázená vypuzením syrovátky z pórů. Gel se skládá z pevné sítě, kterou kontinuálně obklopuje kapalina. Jakmile se pevná fáze stáhne, kapalina je vytlačena z gelu [70]. Synereze je důležitou fyzikální vlastností pro posouzení kvality jogurtu [71]. Během procesu fermentace mléka při výrobě jogurtu se kasein obsažený v mléce přestává být stabilní a tvoří pevný gel. Gel se skládá z vláken kaseinových micel, v nichž je zachycena syrovátka, která je propojena vodíkovými vazbami, tvořící bílkovinnou makromolekulu. Strukturu jogurtu vytváří disulfidické vazby mezi kaseinem a denaturovanými syrovátkovými bílkoviny a shlukování kaseinu při poklesu pH během fermentace [72].

Izadi a kol. se zabývali tím, jak se mění fyzikální vlastnosti jogurtu obohaceného o fytoosteroly během doby skladování. Synereze jogurtů se po prvním týdnu zvýšila u jogurtu

obohaceného i kontrolního. Poté se snižovala až do 28. dne. Jogurt obohacený o fytosteroly vykazoval synergezi nižší oproti referenčnímu jogurtu [71].

Magenis a kol. se zabírali kompozicí a fyzikálními vlastnostmi jogurtu s přidavkem syrovátkového a mléčného retentátu. Jogurt s vyšším obsahem bílkovin vykazoval nižší soudržnost, vyšší pevnost a přilnavost. Naopak v jogurtu s nižším obsahem bílkovin došlo ke zvýšení synergeze a ke snížení pevnosti. Tyto vlastnosti mohou být ovlivněny i různými druhy přidané bílkoviny [73].

2.5.4 Senzorická analýza

Senzorická analýza využívá vědecké principy potravinářství, fyziologie, psychologie a statistiky. Účelem této analýzy je vyvolání objektivní reakce na vlastnosti potravin zrakem, chutí, dotekem, sluchem, čichem a konečné rozhodnutí o kvalitě a úspěchu výrobku [74; 75]. Senzorickou analýzou se stanoví vjemy a také se využívá zpracovávání informací, které byly získány smyslovými receptory v centrální nervové soustavě. Naproti tomu během fyzikální nebo chemické analýzy se stanovují podněty, tudíž nelze porovnávat nebo nahrazovat výsledky těchto analýz s analýzou senzorickou. Důležitou roli během analýzy hrají hodnotitelé nebo posuzovatelé, popřípadě konzumenti (hodnotitelé, kteří nejsou speciálně odborně vzděláni). Rozlišujeme hédonické a intenzitní hodnocení. Hédonické hodnocení se považuje za jednodušší, kdy se posuzuje, jak je vjem přijatelný a příjemný. Až intenzitní hodnocení je soustředěno na intenzitu daného vjemu [76].

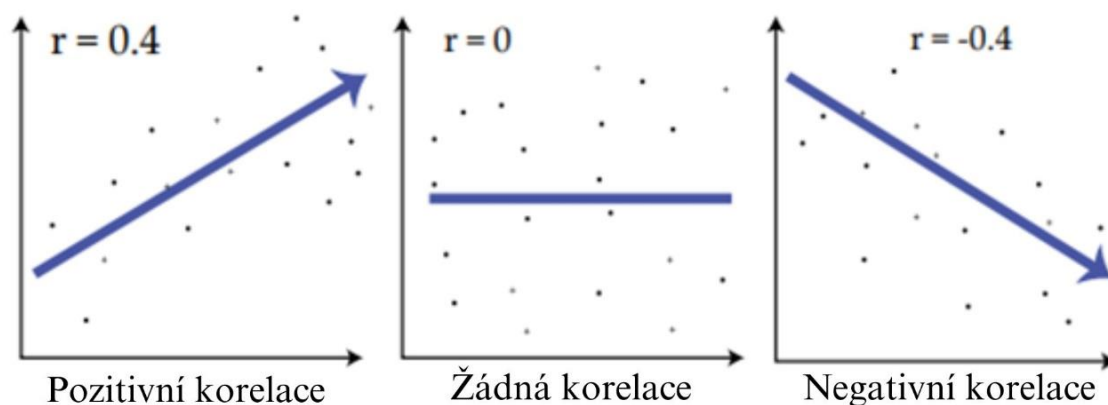
Klasický bílý jogurt bez zvýšeného obsahu proteinů by měl mít jemnou, uniformní a lžící lehce nabíratelnou texturu bez hrudek, zrnek a bez viditelného oddělení syrovátky. Jogurt by měl mít typickou jogurtovou vůni. Hlavními složkami jogurtu, které tuto vůni vyvolávají, jsou acetaldehyd, diacetyl a kyselina mléčná, ale také ostatní, jako je aceton, acetoin, kyselina octová, mravenčí, máselná a propionová. Důležitými senzorickými a texturními atributy vysokoproteinového jogurtu jsou krémovitost, viskozita a jemnost. Během procesu výroby se mohou vyskytnout vady jogurtu s přidavkem proteinů. Mezi ně se řadí zrnitost, hořkost, příliš kyselá chuť nebo separace syrovátky [23].

2.6 Statistické zpracování dat

Data získána ze senzorické analýzy lze statisticky vyhodnotit pomocí korelační analýzy a analýzy hlavních komponent.

2.6.1 Korelační analýza

Korelační analýza je termínem používaným k označení asociace či vztahu mezi dvěma nebo více kvantitativními proměnnými. Analýza je založena na předpokladu, že kvantitativní proměnné jsou navzájem lineárně závislé. Výsledkem korelační analýzy je korelační koeficient, jehož hodnoty se pohybují od -1 do +1. Pokud se dosáhne korelačního koeficientu +1, znamená to, že proměnné spolu perfektně souvisí pozitivním způsobem. Naopak pokud je korelační koeficient roven -1, tak to značí, že proměnné spolu perfektně souvisí negativním způsobem. Lineární vztah mezi dvěma proměnnými neexistuje v případě, že je koeficient roven nule [77]. Tento princip analýzy je znázorněn na obrázku (Obrázek 6).



Obrázek 6: Korelace mezi dvěma proměnnými – převzato a upraveno [77]

2.6.2 Analýza hlavních komponent

Analýza hlavních komponent (PCA) je standardním nástrojem v moderní analýze dat využívaným téměř ve všech vědních oborech. Cílem PCA je indentifikace nejsmysluplnější základ pro opětovné vyjádření daného datasetu. Pozorování často popisuje několik závislých proměnných, které spolu vzájemně korelují a zahrnují šum. Analýza se používá ke snížení šumu a pro získání důležitých informací. Je vypočítána sada nových proměnných nazývaných hlavní komponenty, které jsou získány lineárními kombinacemi původních proměnných. Hodnoty těchto nových proměnných daného pozorování jsou označovány jako faktorové skóre. Data mohou být interpretována projekcí pozorování hlavních komponent nebo jako lineární projekce, definovanou jako průměrnou čtvercovou vzdálenost mezi jednotlivými body. PCA nachází využití například při rozpoznávání obličejů nebo ke konstrukci 3D modelů [78].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem experimentální části práce bylo vyrobit proteinový izolát z pšeničných otrub a enkapsulace izolátu různými způsoby. Součástí práce byla také tvorba receptur pro výrobu vysokoproteinového jogurtu a následná analýza jogurtů se zaměřením na nutriční, reologické a senzorické vlastnosti.

3.1 Použité materiály a zařízení

Použité chemikálie, pomůcky, přístroje a ingredience s jejichmi vlastnostmi pro výrobu jogurtů a analýz využitých v experimentální části práce.

3.1.1 Chemikálie

Hydroxid sodný, kyselina citronová, chlorid vápenatý, alginát sodný, Weiningerův katalyzátor, kyselina sírová konc., kyselina sírová ($c = 0,05 \text{ M}$), roztok fenolftaleinu, Tashirův indikátor, 33% hydroxid sodný, hydroxid sodný ($c = 0,1 \text{ M}$), demineralizovaná voda, destilovaná voda.

3.1.2 Pomůcky a přístroje

Předvážky Denver Instrument S-4002, Analytické váhy Kern ABJ 80-4M, Chladicí box, míchadlo Overhead Stirrer Multi Mixer MM-1000, centrifuga Rotina 420R Hettich Zentrifugen, Lyofilizátor Labconco, jogurtovač SILVERCREST SJB 18 A1, kávomlýnek Sencor SCG 1050BK, kulový mlýn HK 40, Sympatec HELOS H2568 & RODOS, enkapsulátor Buchi B-395 Pro, běžné laboratorní sklo a pomůcky, síťový analyzátor, mineralizační přístroj KJELDAHLTHERM KT 8s, automatická destilační Kjeldahlova jednotka Vapodest 200, sušárna Memmert UFE550, reometr Discovery HR-2 hybrid rheometer.

3.1.3 Použitá kultura

Pro výrobu jogurtů byla použita YF-L812 kultura Chr. Hansen. Kultura je směsí bakterií *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*. Optimální teplota pro zrání jogurtu je 43 °C. Vyrobený jogurt při použití této kultury by měl být s velmi jemným aroma a vysokou viskozitou.

3.1.4 Použitá mléka pro výrobu jogurtů

Výživové údaje různých typů mléka, které byly používány pro výrobu jogurtů jsou uvedené níže a v tabulce (Tabulka 4).

- A – Pragolaktos odstředěné mléko trvanlivé
- B – Albert polotučné mléko trvanlivé
- C – Albert plnotučné mléko trvanlivé
- D – Mlékárna Kunín čerstvé polotučné mléko ošetřeno vysokou pasterací
- E – Albert čerstvé plnotučné mléko ošetřeno vysokou pasterací
- F – Moravia čerstvé farmářské plnotučné mléko ošetřeno pasterací
- G – Farmářské čerstvé plnotučné mléko

Tabulka 4: Výživové údaje použitých mlék na 100 ml, n – výrobcem neuváděná hodnota

	A	B	C	D	E	F	G
Energetická hodnota	160 kJ/ 38 kcal	192 kJ/ 46 kcal	266 kJ/ 64 kcal	193 kJ/ 46 kcal	260 kJ/ 62 kcal	266 kJ/ 64 kcal	n
Tuky	0,5 g	1,5 g	3,5 g	1,5 g	3,5 g	3,6	n
z toho nasycené mastné kyseliny	0,3 g	1 g	2,0 g	1,1 g	2,3 g	2,3	n
Sacharidy	4,9 g	4,8 g	4,7 g	4,9 g	4,4 g	4,6	n
z toho cukry		4,8 g	4,7 g	4,9 g	4,4 g	4,6	n
Bílkoviny	3,4 g	3,2 g	3,3 g	3,3 g	3,3 g	3,5	n
Sůl	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1	n

3.1.5 Pšeničné otruby

V experimentální části diplomové práce byly použity pšeničné otruby firmy Mlýny J. Voženílek, spol. s r.o., zabývající se výrobou sortimentu pšeničných a žitných mouk. Charakterizace použitých pšeničných otrub je v tabulce (Tabulka 5).

Tabulka 5: Charakterizace pšeničných otrub firmy Mlýny J. Voženílek, spol. s r.o. [79]

Parametr	Jednotky	Výsledek
Sušina	% ve vzorku	86,0
Spalitelné látky	% v sušině	94,1
Škrob	% ve vzorku	11,9
Redukující sacharidy	% ve vzorku	4,73
Tuk celkový	% ve vzorku	4,94
Polynenasycené mastné kyseliny	% zastoupení v tuku	60,4
Mononenasycené mastné kyseliny	% zastoupení v tuku	22,6
Nasycené mastné kyseliny	% zastoupení v tuku	17,1
Dusík celkový	% ve vzorku	2,63
Sodík	% ve vzorku	0,009
Vápník	% ve vzorku	0,075
Draslík	% ve vzorku	1,27
Hořčík	% ve vzorku	0,450
Fosfor	% ve vzorku	1,37

3.1.6 Sušené mléko

Pro výrobu fortifikovaných jogurtů ve 3. fázi bylo přidáváno sušené polotučné mléko Bohemilk. Výživové hodnoty na 100 g výrobku jsou uvedené v tabulce (Tabulka 6).

Tabulka 6: Výživové hodnoty sušeného mléka na 100 g

Energetická hodnota	1810 kJ/ 430 kcal
Tuky	14 g
Z toho nasycené mastné kyseliny	9,3 g
Sacharidy	45 g
Z toho cukry	45 g
Bílkoviny	31 g
Sůl	1,0 g

3.2 Výroba jogurtů

Pro výrobu jogurtů bylo připraveno inokulum. 100 ml plnotučného pasterovaného mléka bylo na vodní lázni zahříváno na 70 °C. Tato teplota byla udržována po dobu 10 min a následně bylo mléko schlazeno. Jakmile teplota mléka klesla na 43 °C byl přidán 1 g jogurtové kultury YF-L812. Směs byla zhomogenizována, ponechána 24 h při pokojové teplotě a poté bylo inokulum uchováváno při teplotě 4 °C.

Do vysterilovaných sklenic bylo nalito 100 ml mléka. Sklenice s mlékem byly vařeny na vodní lázni. Jakmile teplota mléka dosáhla hodnoty 70 °C, byla tato teplota udržována po dobu 10 minut. Optimální teplotou pro zrání jogurtu pomocí jogurtové kultury YF-L812 je 43 °C. Sklenice s mlékem byly proto vyjmuty z vodní lázně a mléko bylo schlazeno na 43 °C a do každé sklenice byl přidán 1 g připraveného inokula, popřípadě určité množství různých druhů bílkovin pro přípravu fortifikovaných jogurtů. Přehled použitých ingrediencí pro výrobu jednotlivých jogurtů je uveden v tabulce (Tabulka 7). Směs byla ve sklenici zhomogenizována a uložena do jogurtovače SILVERCREST SJB 18 A1, který danou teplotu mléka udržoval po dobu 8 hodin. Po této době byly jogurty uchovávány v lednici při teplotě 4 °C. Analýzy jogurtů probíhaly až po 1 dni ponechání v klidu.

Tabulka 7: Vyrobené jogurty v experimentální části práce, n – výrobcem neuváděná hodnota

Vzorek	Typ mléka	Navážka otrubového proteinového izolátu [g]	Navážka sušeného mléka [g]	Navážka enkapsu – lovaného otrubového proteinového izolátu [g]	Celkový obsah bílkovin ve vzorku [%]
A	UHT nízkotučné	-	-	-	3,4
B	UHT polotučné	-	-	-	3,2
C = REF	UHT plnotučné	-	-	-	3,3
D	Čerstvé vysoce pasterované polotučné	-	-	-	3,3
E	Čerstvé vysoce pasterované plnotučné	-	-	-	3,3
F	Čerstvé pasterované plnotučné	-	-	-	3,6
G	Čerstvé plnotučné	-	-	-	n
5% OPI	UHT plnotučné	2,01	-	-	5
10% OPI	UHT plnotučné	7,91	-	-	10
5% MIX2	UHT plnotučné	1,33	1,84	-	5
5% MIX1	UHT plnotučné	1,00	2,74	-	5
10% MIX2	UHT plnotučné	5,27	7,19	-	10
10% MIX2	UHT plnotučné	3,96	10,81	-	10
5% EOPI	UHT plnotučné	-	-	3,15	5
10% EOPI	UHT plnotučné	-	-	12,43	10

3.3 Stanovení sušiny mléka

Do plechových vysušených misek byly napipetovány 3 ml plnotučného UHT mléka. Misky s mlékem byly po dobu 3 h sušeny v sušárně při 105 °C do konstantního úbytku (Obrázek 7). Z rozdílu hmotností před a po sušení byl zjištěno procentuální množství sušiny obsažené v použitém mléce.



Obrázek 7: Plnotučné UHT mléko po vysušení

3.4 Příprava a charakterizace proteinového izolátu z otrub

Namleté pšeničné otruby byly smíchány s vodou v poměru 1:20, poté bylo přidáno 20 ml 1M NaOH. Směs byla míchána při 150 rpm. Každých 15 min byla kontrolována hodnota pH, která byla udržována nad 10. Směs byla celkově míchána po dobu 2 h. Suspenze byla odstředěna při 4800 rpm, 25 °C a po dobu 10 minut. Supernatant byl po odstředění slit do skleněných nádob a aby došlo k precipitaci vyextrahovaných bílkovin, byl okyselen 1M kyselinou citronovou na hodnotu pH 4. Vzorky byly ponechány při 4 °C po dobu jednoho dne a tím se precipitace bílkovin ještě podpořila. Vzorky byly opět odstředěny za stejných podmínek (4800 rpm, 25 °C, 10 min). Supernatant byl slit a sediment byl kvantitativně převeden do plastových zkumavek a byl zchlazen na -80 °C. Proběhla lyofilizace a poté byl izolát zhomogenizován a následně skladován v suchu, ve tmě a při laboratorní teplotě v uzavřené plastové nádobě.

Bylo provedeno kvalitativní a kvantitativní stanovení aminokyselin v proteinovém izolátu pomocí metody HPLC s detektorem diodového pole (DAD) při vlnové délce 338 nm. Derivatizace vzorku byla provedena pomocí o-phthalaldehydu. Separace byla provedena pomocí gradientové eluce směsí mobilní fáze A (40 mM Na₂HPO₄ pH 7,8) a mobilní fáze B (ACN:MeOH:voda, 45:45:10, v/v). Níže v tabulce (Tabulka 8) je uvedeno nastavení HPLC přístroje, v tabulce (Tabulka 9) vlastnosti použité kolony a v tabulce (Tabulka 10) nastavení gradientové eluce.

Tabulka 8: Nastavení HPLC přístroje

Přístroj	HPLC Agilent
Objem nástřiku	0,5 µl
Průtok mobilní fáze	2 ml/min
Složení mobilní fáze	A: 40 mM Na ₂ HPO ₄ (pH 7,8) B: ACN:MeOH:voda (45:45:10, v/v)
Teplota	40 °C
Detektor	DAD
Vlnová délka detekce	338 nm
Doba analýzy	14 min

Tabulka 9: Vlastnosti kolony

Výrobce	Agilent
Velikost	LC Column 75 × 4,6 mm
Popis	ZORBAX Eclipse AAA 3,5 µm

Tabulka 10: Nastavení gradientové eluce

Čas [min]	A [%]	B [%]
0	100	0
1	100	0
9,8	43	57
10	0	100
12	0	100
12,5	100	0
14	100	0

3.5 Mletí proteinového izolátu na kulovém mlýnu

Částice proteinového izolátu z pšeničných otrub byly namleté na kulovém mlýnu HK 40 (Obrázek 8). Částice byly dávkovány do keramické misky po velmi malém množství. Jeden proces mletí trval 20 s.



Obrázek 8: Kulový mlýn HK 40

3.6 Měření velikosti částic proteinového izolátu

Pro určení velikosti částic proteinového izolátu namletých na kávomlýnku a na kulovém mlýnu byl použita analýza laserové difrakce. Jedná se o analytickou metodu stanovující granulometrické vlastnosti materiálu. Částice byly měřeny na přístroji Sympatec HELOS H2568 & RODOS suchým způsobem.

3.7 Enkapsulace bílkovin

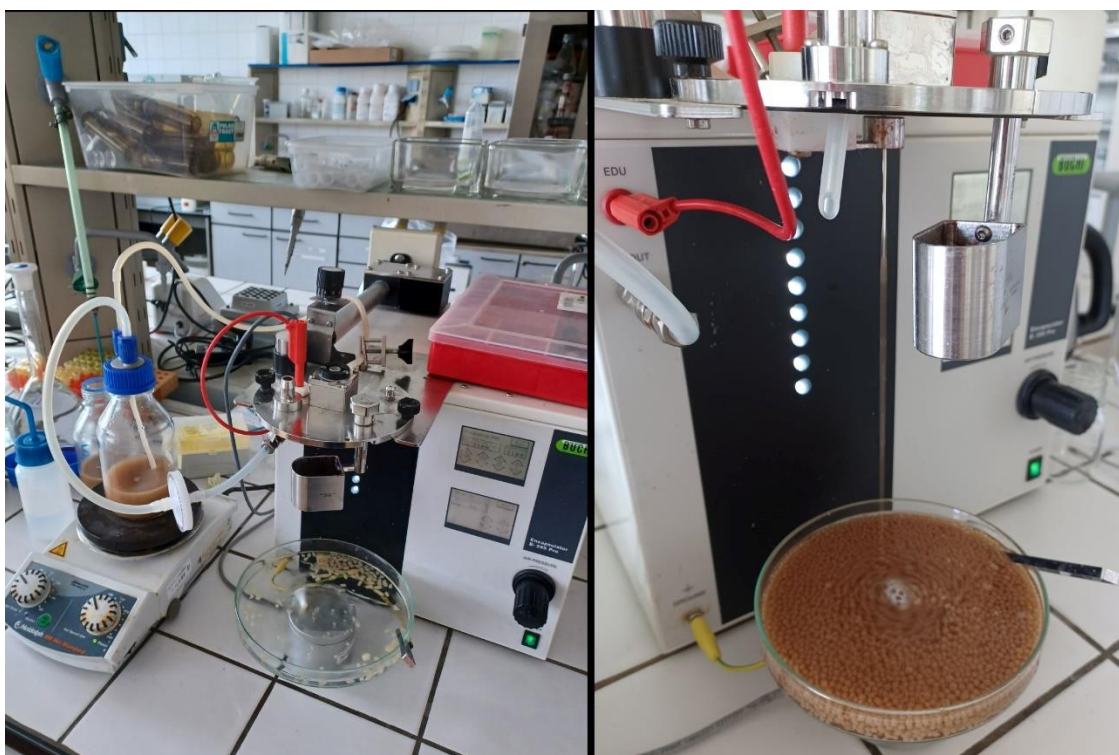
Enkapsulace proteinového izolátu z pšeničných otrub byla prováděna dle postupu ve studii, kde se Z. Zhang a kol. zabývali enkapsulací syrovátkového proteinu do alginátu [47]. 1% a 2% w/v roztok alginátu sodného byl připraven rozpouštěním práškového alginátu v demineralizované vodě při 60 °C za stálého míchání. Po 1 h zahřívání byl roztok schlazen na 35 °C. Byl připraven také 2% a 10% w/v roztok smícháním daného množství proteinového izolátu a demineralizované vody. Roztoky byly smíchány dohromady v poměru 1:1 a po dobu 1 h byly míchány na míchačce. Obsah proteinového izolátu a alginátu sodného v jednotlivých připravených roztocích pro enkapsulaci jsou uvedené v tabulce (Tabulka 11).

Tabulka 11: Obsah alginátu sodného a izolovaného proteinů v jednotlivých roztocích

Vzorek	Obsah alginátu ve vzorku [% w/v]	Obsah proteinového izolátu ve vzorku [% w/v]
1	1	1
2	1	5

Připravené vzorky byly enkapsulovány pomocí enkapsulátoru Buchi B-395 Pro do 10% roztoku chloridu vápenatého s využitím různých průměrů trysek – 450 μm , 750 μm , 1000 μm . Obrázek 9 zobrazuje proces enkapsulace.

Hotové částice byly po enkapsulaci 1 h ponechány v roztoku chloridu vápenatého a poté převedeny na filtrační papír, promyté demineralizovanou vodou a byly sušeny v digestoři při laboratorní teplotě po dobu 12 h. Následně byly alginátové částice uchovávány v plastové uzavřené nádobě.



Obrázek 9: Enkapsulace proteinového izolátu pomocí enkapsulátoru Buchi B-395 Pro

3.8 Stanovení velikosti enkapsulovaných částic

Stanovení velikosti enkapsulovaných částic s proteinovým izolátem z pšeničných otrub bylo provedeno pomocí síťového analyzátoru. Vzorek enkapsulovaných částic byl zvážen s přesností na 0,1 g. Na síťový analyzátor byly nasazena síta s průměrem ok 0,4; 0,6; 1 a 4 mm. Stanovovaný materiál byl přesypán na vrchní síto. Interval analyzátoru byl nastaven na 2 oklepy za sekundu, intenzita na stupeň 6 a doba síťování byla 2 minuty. Po ukončení síťování byly zváženy jednotlivé frakce pro stanovení velikosti analyzovaných částic.

3.9 Stanovení celkového dusíku dle Kjehdala

Obsah hrubé bílkoviny ve vzorcích enkapsulovaných částic proteinového izolátu byl určen pomocí Kjeldahlovy metody pro stanovení celkového dusíku. Na analytických vahách bylo naváženo určité množství vzorku (Tabulka 12) s přesností na 4 desetinná čísla. Navážka byla převedena do mineralizační trubice a do každé byly přidány 2 g Weiningerova katalyzátoru a 10 ml koncentrované kyseliny sírové. Trubice byly umístěny do mineralizačního přístroje. Vzorky byly mineralizované dle postupu uvedeného v tabulce (Tabulka 13).

Tabulka 12: Vzorky pro stanovení obsahu bílkovin

Vzorek	Obsah alginátu ve vzorku [% w/v]	Obsah proteinového izolátu ve vzorku [% w/v]
1	1	1
2	1	5

Tabulka 13: Postup mineralizace vzorků

Krok	Proces	Čas [h]
1	Zahřívání na 400 °C	1
2	Mineralizace při 400 °C	1,5
3	Chlazení v mineralizačním přístroji	0,5
4	Chlazení na laboratorní teplotu mimo mineralizační přístroj	0,5

Po mineralizaci byl do mineralizátu přidán fenolftalein a byl přemístěn do automatické destilační Kjeldahlovy jednotky, kde bylo přidáno 20 ml 33% hydroxidu sodného. Došlo k uvolnění amoniaku, který byl predestilovaný vodní parou do předlohy s 25 ml standardizované 0,05 M kyseliny sírové. Po 4,5 minutách byla destilace ukončena. Do předlohy byly přidány 3 kapky Tashirova indikátoru a obsah byl titrován standardizovaným 0,1M roztokem hydroxidu sodného do prvního trvalého zeleného zbarvení. Obsah celkového dusíku byl stanoven z množství zreagované kyseliny sírové s uvolněným amoniakem a obsah hrubé bílkoviny byl stanoven pomocí výpočtu s hodnotou univerzálního faktoru 6,25.

3.10 Stanovení synereze jogurtů

Na analytických vahách byla navážena určitá hmotnost vzorku jogurtu. Vzorky byly převedeny na navlhčený filtrační papír a po dobu 3 h probíhala filtrace. Po 3 h probíhající filtrace (Obrázek 10) byl odečten z odměrného válce obsah uvolněné syrovátky.



Obrázek 10: Stanovení synereze jogurtů

3.11 Reologická analýza

Vzorky jogurtů s 10% obsahem bílkovin (10% OPI a 10% EOPI) s přídavkem neenkapsulovaného i enkapsulovaného proteinového izolátu a jogurt referenční bez přídavku bílkovin byly reologicky zanalyzovány na přístroji Discovery HR-2 hybrid rheometer (Obrázek 11). Měření probíhalo při 25 °C v rotačním režimu, během kterého se vrchní senzor otáčí dokola, nevrací se zpět. Byla stanovena dynamická viskozita η [Pa·s] a mez toku τ [pa] za určité smykové rychlosti $\dot{\gamma}$ [s⁻¹]. Analýza byla prováděna pro zjištění toho, jakým druhem kapaliny (Newtonovská nebo nenevtonovská kapalina) jsou vzorky vyrobených jogurtů a jak se těmito fyzikálními vlastnostmi odlišují vzorky mezi sebou.



Obrázek 11: Reometr Discovery HR-2 hybrid

3.12 Senzorická analýza

Senzorické analýzy všech fází výroby jogurtů se vždy účastnilo 10 hodnotitelů a byly prováděny v laboratoři senzorické analýzy fakulty chemické VUT. Byl vytvořen dotazník (Příloha 1) zaměřující se na tyto vlastnosti jogurtu:

- Homogenitu určující vizuálním hodnocením celistvosti jogurtu
- Tuhost neboli vynaloženou sílu potřebnou k nabrání jogurtu
- Hustotu jako vnímání kompaktnosti jogurtu po vložení do úst mezi jazyk a patro
- Krémovitost vnímáním celistvosti jogurtu při stlačení vzorku mezi jazyk a patro
- Vůni jogurtu
- Intenzitu sladké chuti
- Intenzitu kyselé chuti
- Intenzitu hořké chuti

3.13 Statistické vyhodnocení

Výsledky senzorické analýzy jogurtů byly statisticky vyhodnoceny pomocí korelační analýzy, která se využívá k nalezení propojení proměnných mezi sebou a analýzy hlavních komponent sloužící k projekci pozorování do faktorové roviny hlavních komponent 1 a 2.

4 VÝSLEDKY

Cílem této práce byla optimalizace výroby vysokoproteinového jogurtu s přidavkem proteinového izolátu z pšeničných otrub a maskování negativních sensorických vlastností pomocí enkapsulace bílkoviny.

4.1 Vliv typu mléka na sensorické vlastnosti jogurtu

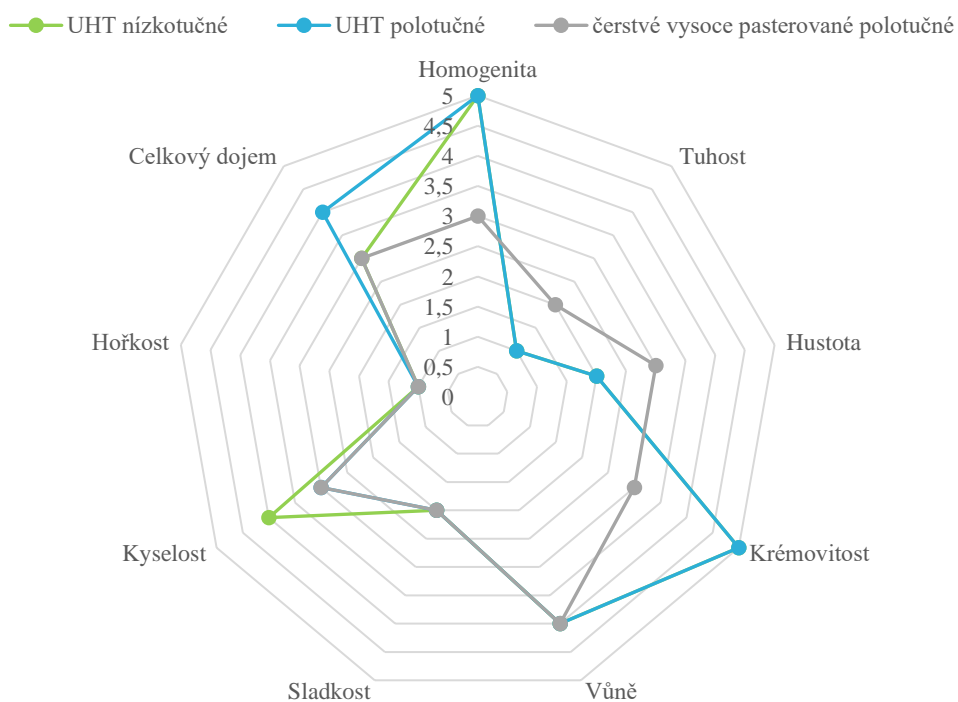
Mléko je hlavní složkou jogurtu, proto bylo důležité zvolit typ mléka, který bude tím nejvhodnějším pro výrobu jogurtu, zejména z hlediska jeho sensorických vlastností. Bylo vybráno 7 druhů kravského mléka s různým druhem ošetření a různou tučností (Tabulka 14). Jogurty byly vyrobeny dle postupu v kapitole 3.2 a byla provedena sensorická analýza všech vzorků.

Tabulka 14: Vyrobené vzorky jogurtů pro studium vlivu typu mléka na sensorické vlastnosti jogurtu, *n* – výrobcem neuváděná hodnota

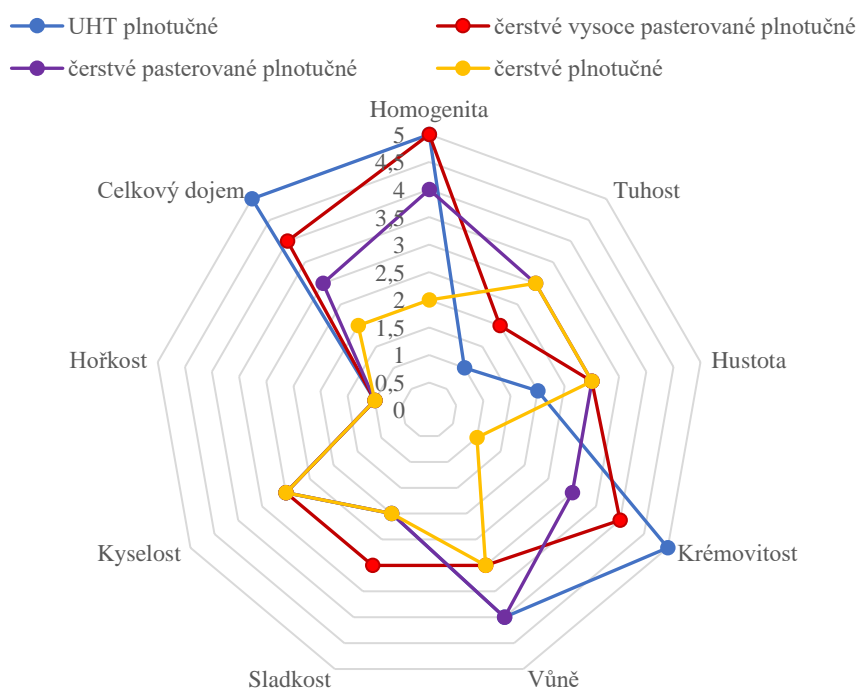
Vzorek	Typ mléka	Celkový obsah bílkovin ve vzorku [%]
A	UHT nízkotučné	3,4
B	UHT polotučné	3,2
C	UHT plnotučné	3,3
D	Čerstvé vysoce pasterované polotučné	3,3
E	Čerstvé vysoce pasterované plnotučné	3,3
F	Čerstvé pasterované plnotučné	3,6
G	Čerstvé plnotučné	n

Jak lze vidět z radarových grafů (Obrázek 12 a Obrázek 13), žádný z jogurtů nevykazoval hořkou ani intenzivně sladkou chuť. Nejkyselejší jogurtem z těchto vzorků byl jogurt vyrobený z nízkotučného UHT mléka. Vůně všech vzorků byl příjemná či přijatelná. Všechny jogurty byly lžičkou snadno nabratelné. Jogurt z čerstvého plnotučného mléka měl výraznou hrudkovitost. Oproti ostatním vzorkům byl jogurt z UHT polotučného a plnotučného mléka víc tekutý a taky jednodušeji nabratelný. Celkově nejhůře hodnoceným byl jogurt z čerstvého plnotučného mléka, především proto, že nebyl celiství a obsahoval hrudky. Jako nejchutnější byly stanoveny jogurty z UHT plnotučného mléka.

Většina dříve publikovaných studií ohledně pozorování vlivu typu mléka na vlastnosti jogurtů je zaměřena především na problematiku druhů zvířat a plemen. Například studie Vianna a kol. [80] byla věnována vlastnostem jogurtů vyrobených směsí kravského a ovčího mléka. Kaminarides a kol. [81] sledovali sensorické vlastnosti jogurtů z ovčího mléka s různou tučností a došli k závěru, že jogurty s vysokým obsahem tuku měly nejvyšší skóre chuti a textury. Jogurty se sníženým obsahem tuku měli i nízké skóre textury a chuti. Žádný ze vzorků nevykazoval hořkou chuť, stejně jako vzorky v této části práce.

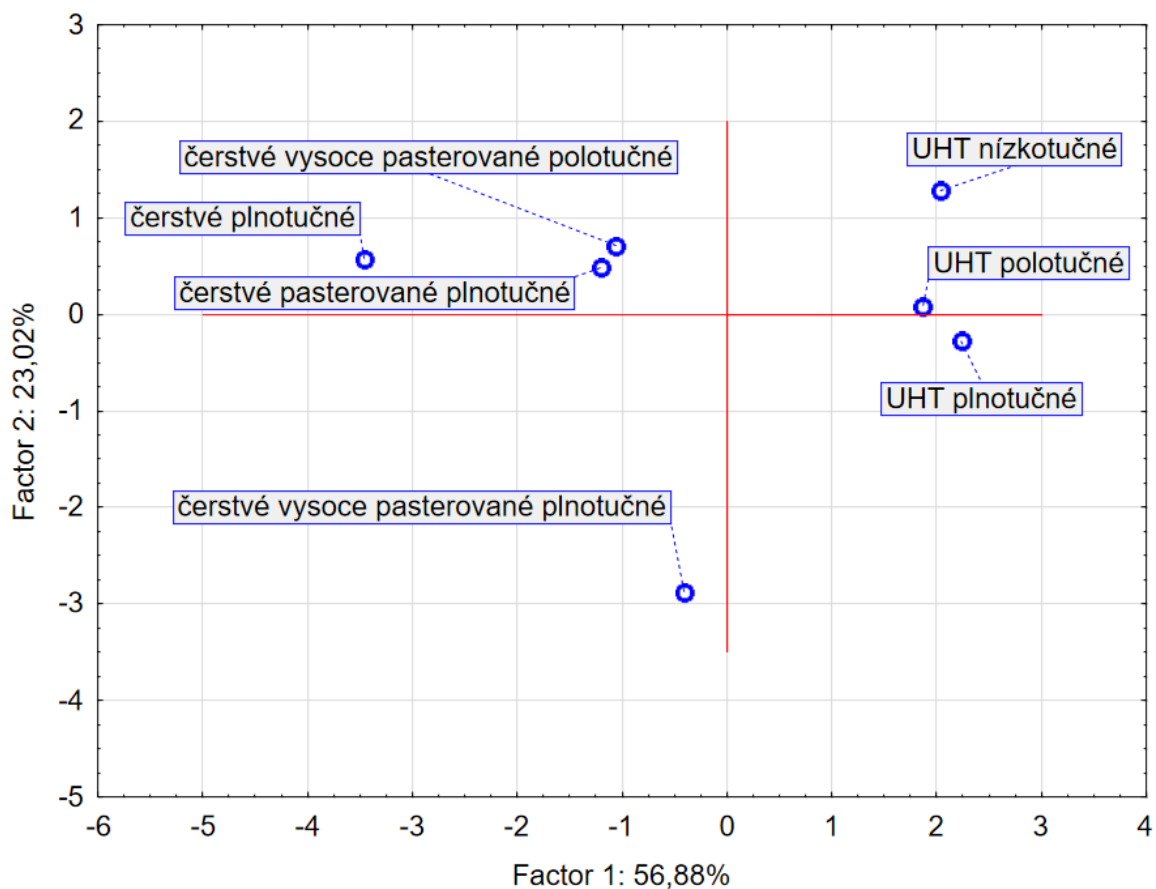


Obrázek 12: Radarový graf výsledků sensorického hodnocení jogurtů vyrobených z nízkotučného a polotučného mléka

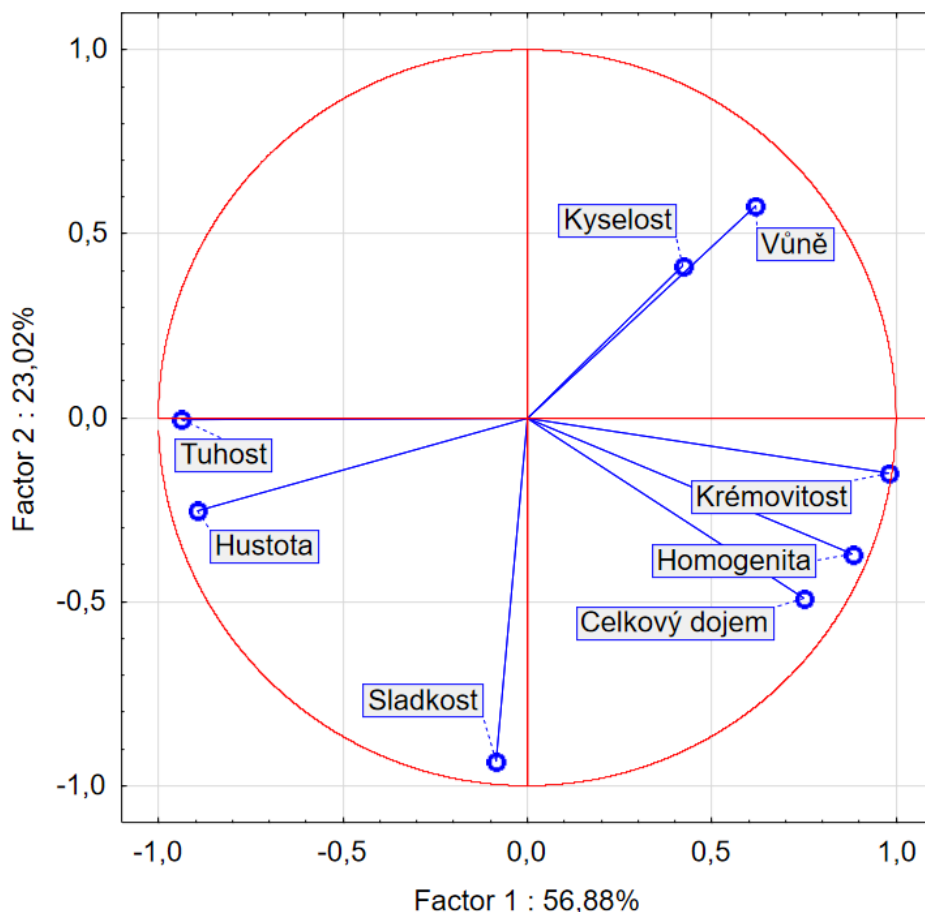


Obrázek 13: Radarový graf výsledků sensorického hodnocení jogurtů vyrobených z plnotučného mléka

Dle projekce pozorování sensoricky hodnocených vzorků jogurtů na ploše hlavních komponent 1 a 2 (Obrázek 14 a Obrázek 15) se vzorky z mléka čerstvého plnotučného, čerstvého pasterovaného plnotučného a čerstvého vysoce pasterovaného polotučného projektovaly do oblasti s pozitivním skóre pro komponentu 2 a s negativním skóre pro komponentu 1. Tyto jogurty neměly požadovanou krémovitost a byly celkově hůř hodnoceny. Jogurty s nízkotučným a polotučným UHT mlékem se projektovaly v oblasti s pozitivním skóre pro komponentu 1 i 2. Lze říct, že tyto jogurty mají intenzivnější kyselou chuť a vůni. Jogurt z čerstvého vysoce pasterovaného plnotučného mléka je oproti ostatním vzorkům velmi sladký, tuhý a hustý, obtížný k nabrání lžičkou. Homogenitou, jemností a celkovým dojmem se vyznačují jogurty z UHT plnotučného mléka, které jsou v oblasti s pozitivním skóre pro komponentu 1 a s negativním skóre pro komponentu 2.



Obrázek 14: Graf analýzy hlavních komponent 1 a 2 pozorování sensoricky hodnocených vzorků jogurtů s různým druhem mléka



Obrázek 15: Graf analýzy hlavních komponent 1 a 2 vlastností sensoricky hodnocených vzorků s různým druhem mléka

Byla provedena korelační analýza vlastností hodnocených bílých jogurtů. Bylo zjištěno, že hustota jogurtu pozitivně koreluje s tuhostí jogurtu (0,89). Čím je jogurt hustější, tím hůře je nabratelný. Krémovitost pozitivně souvisí s homogenitou (0,94) a s celkovým dojmem (0,78). Jemný krémový jogurt je celistvý, neobsahuje hrudky a má celkově příjemnější chuť. Pozitivní korelaci vykazuje také celkový dojem jogurtu s homogenitou (0,78). Jogurt s vizuálně hodnocenou celistvostí je pro hodnotitelé přijatelnější. Negativně koreluje krémovitost jogurtu s tuhostí (-0,90) a hustotou (-0,80). Hrudkovitý jogurt jde nabrat hůře než jemný jogurt.

Pro výrobu jogurtů v dalších fázích bylo vybráno UHT plnotučné mléko – vzorky jogurtů vyrobené z tohoto mléka vykazovaly nejlepší skóre v parametru celkový dojem. Jogurt z něj není příliš řídký, jako je tomu u UHT polotučného, jogurt je jemný, bez hrudek, s příjemnou vůní a oproti pasterovaným mlékům je cenově dostupnější.

4.1.1 Celková sušina mléka

Stanovení sušiny je nepřímou metodou stanovení vody v potravinách. Celkovou sušinou se rozumí součet rozpustné (sacharidy, kyseliny, třísloviny, barviva, některé vitaminy, dusíkaté a minerální látky) a nerozpustné sušiny (pektiny, celulósa, hemicelulosa, bílkoviny, tuky, minerální látky) [82]. Celková sušina v plnotučném UHT mléce byla stanovena sušením při teplotě 105 °C na 12,52 %hm. Literatura udává hodnotu sušiny v kravském mléce 12,7 %hm., kde mléko mělo obsah tuku 3,7 %hm., zatímco mléko uváděné v této práci

je s obsahem tuku 3,5 %hm. [83]. Sušina byla stanovena, jelikož to, jaké množství sušiny je obsaženo v syrovém mléce, ovlivňuje fyzikální vlastnosti vyrobeného jogurtu [84]. Obzvláště podíl kaseinu a bílkovin syrovátky přispívá ke zvýšení pevnosti koagulátu a ke snížení oddělování syrovátky [84].

4.2 Charakterizace proteinového izolátu z pšeničných otrub

Byl připraven proteinový izolát z pšeničných otrub. Celkový obsah bílkovin izolátu byl stanoven na 84,65 %. Dle postupu v kapitole 3.4 byl pomocí HPLC metody charakterizován aminokyselinový profil izolátu. Množství jednotlivých aminokyselin na 100 g izolátu je uvedeno v tabulce (Tabulka 15). Nejvíce zastoupenými aminokyselinami byly stanoveny glutamin (18,00 g/100 g), asparagin (8,22 g/100 g), prolin (8,42g/100 g) a arginin (6,93 g/100 g).

Tabulka 15: Aminokyselinový profil proteinového izolátu z pšeničných otrub

Aminokyselina	Množství aminokyseliny ve 100 g proteinovém izolátu [g]
Asparagin	8,22
Threonin	2,89
Serin	4,26
Glutamin	18,00
Prolin	8,42
Glycin	4,57
Alanin	4,07
Cystein	1,36
Valin	4,00
Methionin	1,64
Isoleucin	2,59
Leucin	6,01
Tyrosin	3,33
Fenylalanin	3,71
Histidin	2,75
Lysin	3,56
Arginin	6,93

4.3 Fortifikace jogurtu proteinovým izolátem z pšeničných otrub

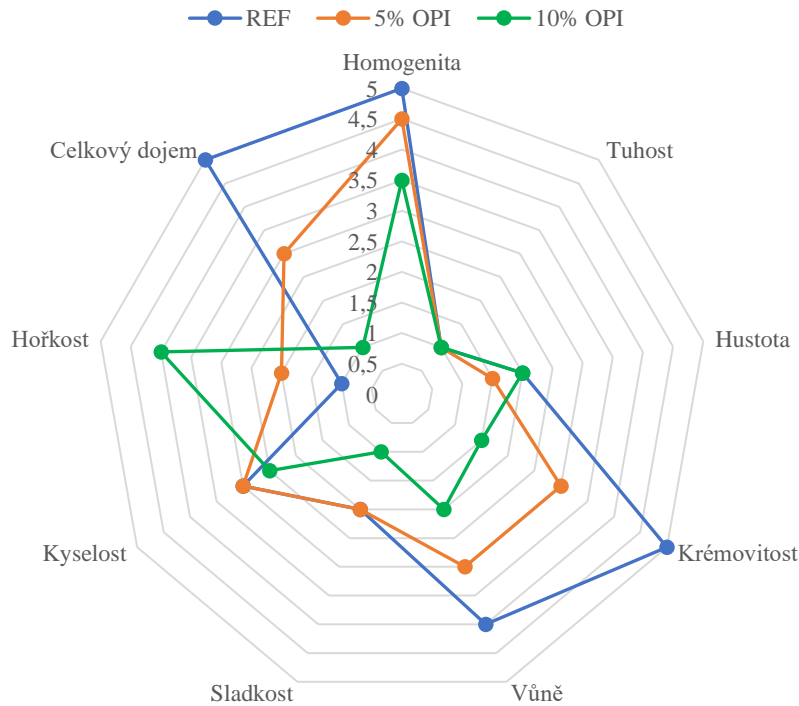
Dle postupu v kapitole 3.2 byl připraven jogurt z mléka UHT plnotučného, jelikož toto mléko bylo v kapitole 4.1 vybráno jako nejvhodnější typ pro výrobu fortifikovaných jogurtů. Byly vyrobeny jogurty fortifikované proteinovým izolátem z pšeničných otrub. Cílem bylo vyrobit vzorky s celkovým obsahem bílkovin 5 a 10 %. Navážka proteinového izolátu do jednotlivých jogurtů pro dosažení lepších nutričních vlastností je zobrazena níže v tabulce (Tabulka 16).

Tabulka 16: Vyrobené jogurty pro zhodnocení vlivu fortifikace jogurtů

Vzorek	Typ mléka	Navážka proteinového izolátu [g]	Celkový obsah bílkovin ve vzorku [%]
REF	UHT plnotučné	-	3,3
5% OPI	UHT plnotučné	2,01	5
10% OPI	UHT plnotučné	7,91	10

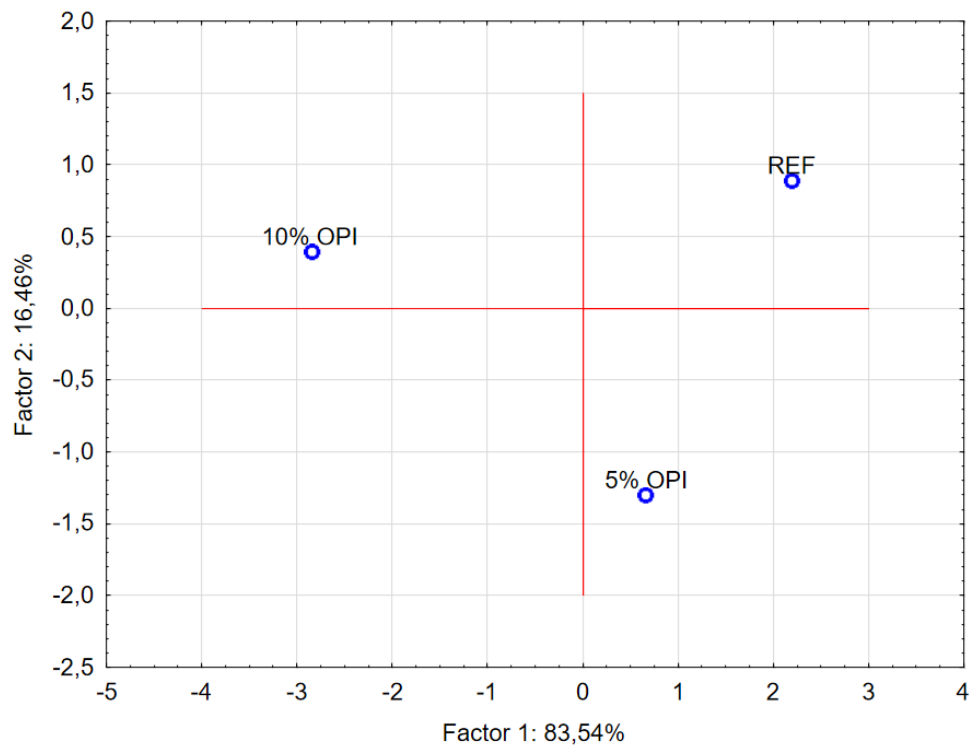
Pro zhodnocení vlivu fortifikace na sensorické vlastnosti jogurtu byla provedena sensorická analýza. Z výsledků sensorické analýzy byl sestaven radarový graf (Obrázek 16), ze kterého jsou patrné změny v sensorických vlastnostech fortifikovaných jogurtů oproti referenčnímu vzorku. Z parametru celkového dojmu jogurtů vyplývá, že vzorek s 10% obsahem bílkovin (10% OPI) hodnotitelům téměř vůbec nechutnal. 5% OPI vykazoval vyšší skóre, přesto nebyl tak chutný jako jogurt referenční. Fortifikované jogurty nebyly celistvé, měly velmi písčitou strukturu, což je u jogurtů velmi nežádoucí vlastnost. Velký rozdíl mezi fortifikovanými jogurty a referencí se objevil hlavně u hořké chuti a krémovitosti. Referenční jogurt nevykazoval hořkou chuť vůbec, zatímco hořkost jogurtu 10% OPI dosahuje velmi vysokého skóre.

Příčinou hořkosti izolovaných bílkovin je udáván výskyt nepolárních aminokyselin. Nepolárními aminokyselinami jsou alanin, valin, prolin, leucin, isoleucin, fenylalanin, tryptofan, methionin. Hořkost peptidů je však zvýšená až v přítomnosti minimálně osmi aminokyselinových podjednotek a je tím intenzivnější, čím je peptidový řetězec delší. S délkou peptidového řetězce se zvyšují interakce s receptory hořké chuti. Intenzita hořké chuti peptidů proteinového izolátu souvisí také se stupněm hydrolýzy během procesu jeho přípravy. Stupeň hydrolýzy je definován jako procentuální množství rozštěpených peptidových vazeb během hydrolýzy, kdy dochází ke snížení molekulové hmotnosti peptidů. S postupující proteolýzou se projevuje větší počet hydrofobních aminokyselin, které vedou k vnímání hořkosti [85; 86].

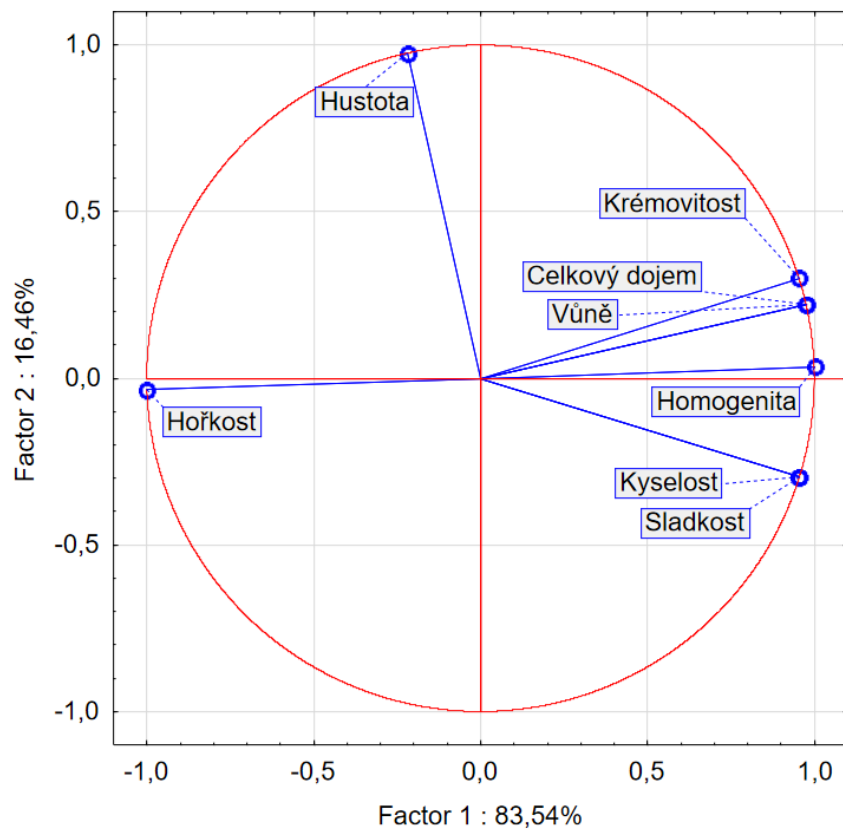


Obrázek 16: Radarový graf výsledků sensorické analýzy fortifikovaných jogurtů a reference

Grafy analýzy hlavních komponent 1 a 2 (Obrázek 17 a Obrázek 18) prezentují, že se každý jogurt projektoval do jiné oblasti na ploše hlavních komponent. Referenční vzorek má jemnější strukturu, lepší vůni i celkový dojem a není hrudkovitý. Není hořký, což potvrzuje i radarový graf výše. Jogurt s 5% obsahem bílkovin se projektoval do oblasti s pozitivním skóre pro komponentu 1 a s negativním skóre pro komponentu 2. Vyznačuje se tak intenzivnější kyselou a sladkou chutí. O jogurtu s 10% obsahem bílkovin, který je projektován do oblasti s pozitivním skóre pro komponentu 1 i 2, lze říct, že je víc tuhý a kompaktní po vložení do úst a stlačení mezi jazyk a patro.



Obrázek 17: Graf analýzy hlavních komponent 1 a 2 pro fortifikované jogurty a referenci



Obrázek 18: Graf analýzy hlavních komponent 1 a 2 vlastností sensoricky hodnocených vzorků fortifikovaných jogurtů a referencie

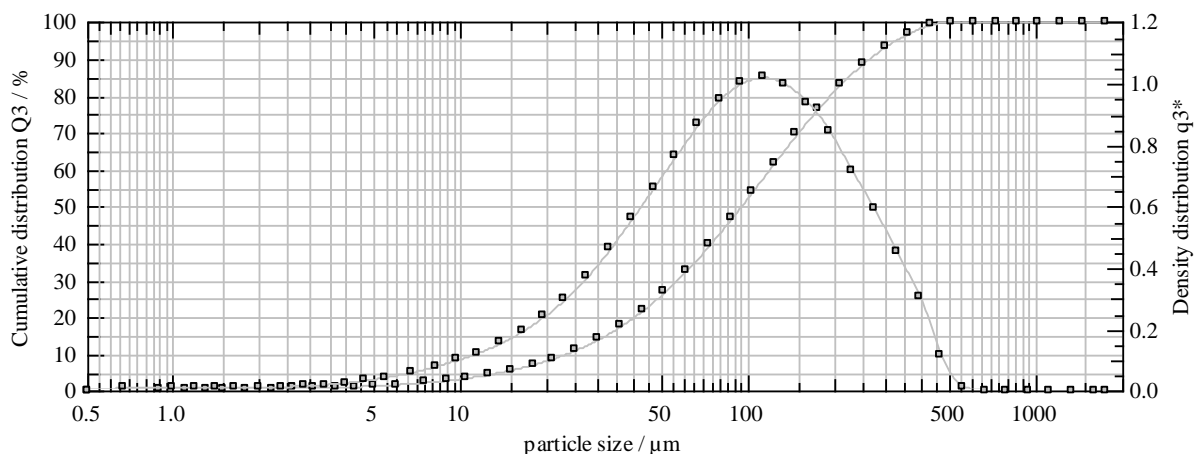
Pro zjištění toho, jak spolu vlastnosti jogurtů během senzorké analýzy souvisely, byla provedena korelační analýza dat. Statisticky významnými vlastnostmi jsou sladkost s kyselostí a celkový dojem s vůní. Tyto vlastnosti jsou na sobě pozitivně zcela přímo úměrné, jejich korelační koeficienty jsou rovny 1,00. Čím se hodnotitelům zdál jogurt sladší, tím byl také kyselejší. Celkový dojem jogurtu byl tím lepší, čím byla příjemnější vůně. Negativní korelací s korelačním koeficientem rovno -1,00 se vyznačují homogenita a hořkost. Jogurt s větší písčitostí měl intenzivnější hořkou chuť.

Fortifikace jogurtů zvýšila nutriční hodnoty jogurtů na požadovanou úroveň, ale zhoršily se signifikantně jejich senzorké vlastnosti, což není žádoucí. Stěžejními vlastnostmi fortifikovaných jogurtů, které se výrazně zhoršily, byly stanoveny hořkost, krémovitost a celkový dojem jogurtu. Vylepšováním těchto vlastností se věnují kapitoly 4.4 a 4.5.

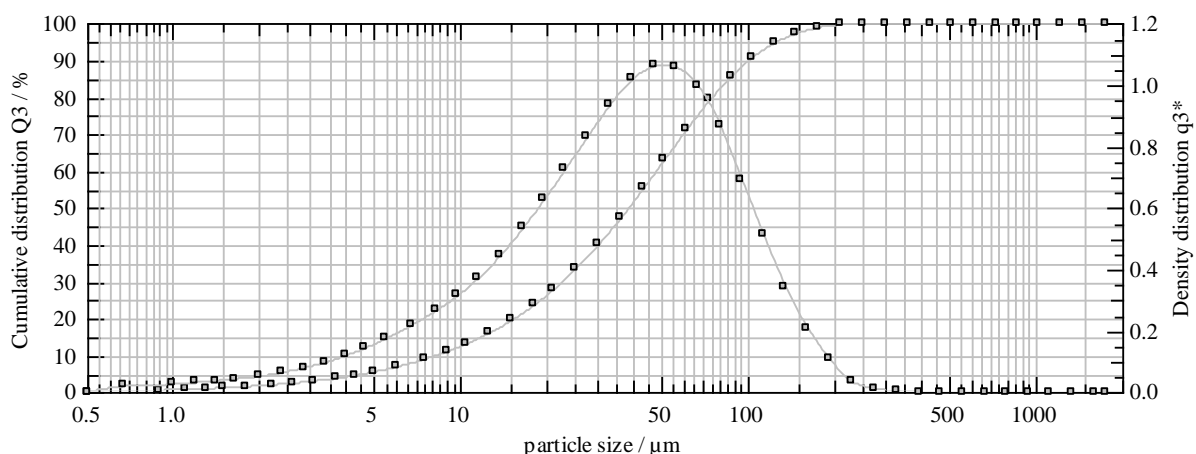
4.3.1 Vliv velikosti částic proteinového izolátu na senzorké vlastnosti jogurtu

Z výsledků senzorké analýzy v předchozí kapitole vyplývá, že u fortifikovaných jogurtů hodnotitelé identifikovali v ústech pocit písčitosti. Snahou byla eliminace tohoto negativního senzorkého vjemu pomocí mletí proteinového izolátu na jemnější zrnitost. Ke zhodnocení vlivu velikosti částic proteinového izolátu na písčitost jogurtu, byly vyrobeny jogurty dle kapitoly 3.2 s přídatkem proteinového izolátu z pšeničných otrub namletých na kávomlýnku Sencor SCG 1050BK a na kulovém mlýnu HK 40.

Bylo provedeno granulometrické měření částic proteinového izolátu z pšeničných otrub pomocí přístroje Sympatec HELOS H2568 & RODOS na suchý způsob. Změřeny byly dva vzorky – izolát namletý na kávomlýnku a izolát namletý na kulovém mlýnu. Byl stanoven medián velikosti částic x_{50} . Pro částice namletých na kávomlýnku byl medián velikosti částic $x_{50} = 94,60 \mu\text{m}$ a pro částice namletých na mlýnu kulovém $x_{50} = 38,30 \mu\text{m}$. Granulometrické křivky velikosti částic jsou níže (Obrázek 19 a Obrázek 20).



Obrázek 19: Graf frekvenční a kumulativní křivka částic namletých na kávomlýnku



Obrázek 20: Graf frekvenční a kumulativní křivky velikosti částic namletých na kulovém mlynu

Písčítost je pocit způsobený rozptýlenými jemnými částicemi potravin a mění se s různou velikostí těchto částic [87]. Lima a kol. [88] úspěšně snížili pocit písčítosti rýžových otrub namletím 444 μm částic na velikost 72 μm . Prückler a kol. [89] se zbavili písčítosti v chlebu s přidávanými pšeničnými otrubami také pomocí zmenšení velikosti otrubových částic.

V rámci pracovní skupiny proběhla senzorická analýza jogurtů s různou velikostí částic přidané bílkoviny. Bylo stanoveno, že s použitím menších částic izolátu písčítost jogurtu nezmizela. Přesto ale byl jogurt s menšími částicemi senzoricky přijatelnější než jogurt s většími částicemi. Proto byl pro přípravy jogurtů zvolen proteinový izolát namletý na kulovém mlynu s velikostí částic $x_{50} = 38,30 \mu\text{m}$.

4.4 Optimalizace receptury pomocí alternativní bílkoviny

Fortifikací jogurtů proteinovým izolátem z pšeničných otrub došlo k zásadní degradaci senzorických vlastností. V rámci optimalizace receptury byly testovány různorodé směsi a kombinace se sušeným mlékem (Obrázek 21). Aditiva byly do jogurtu přidávány v poměrech uvedených v tabulce (Tabulka 17).

Tabulka 17: Jogurty vyrobené pro optimalizaci receptury pomocí alternativní bílkoviny

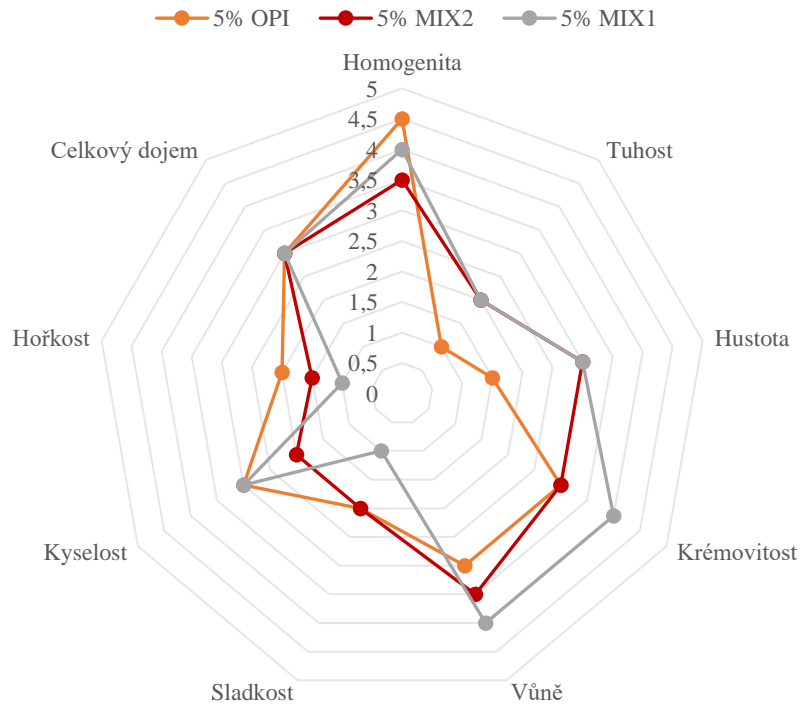
Vzorek	Typ mléka	Navážka otrubového proteinového izolátu [g]	Navážka sušeného mléka [g]	Celkový obsah bílkovin ve vzorku [%]
5% OPI	UHT plnotučné	2,01	-	5
10% OPI	UHT plnotučné	7,91	-	10
5% MIX2	UHT plnotučné	1,33	1,84	5
5% MIX1	UHT plnotučné	1,00	2,74	5
10% MIX2	UHT plnotučné	5,27	7,19	10
10% MIX2	UHT plnotučné	3,96	10,81	10



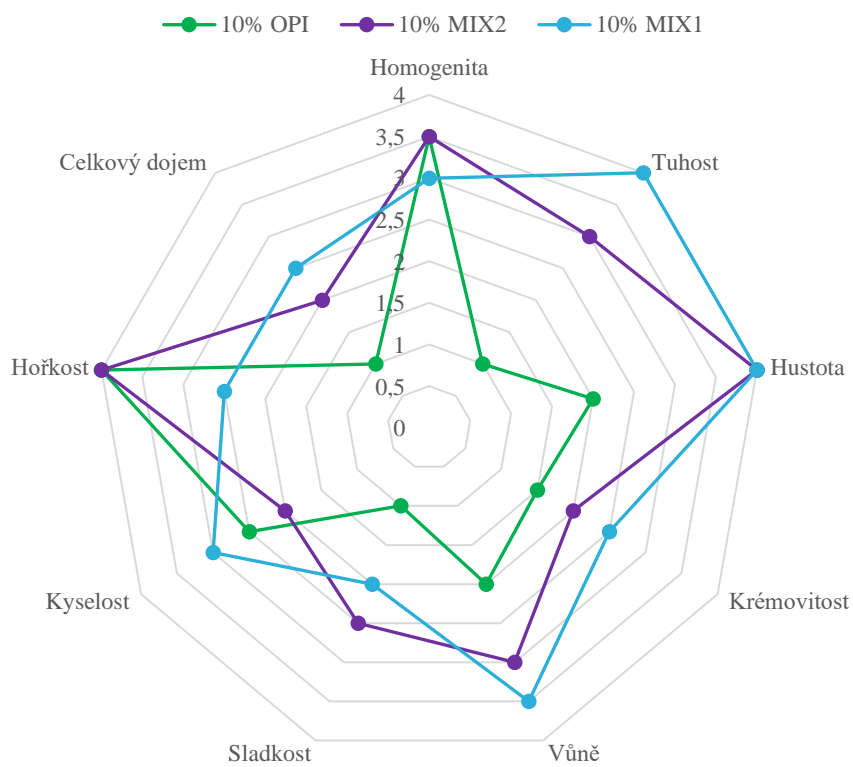
Obrázek 21: Vzorky fortifikovaných jogurtů

Vyrobené jogurty byly sensoricky hodnoceny a z výsledků analýzy byl sestaven radarový graf pro jogurty s 5% (Obrázek 22) a 10% (Obrázek 23) obsahem bílkovin. Lze říct, že optimalizace výroby jogurtu pomocí alternativní bílkoviny měla pozitivní vliv na celkové hodnocení jogurtů, především u jogurtů s vyšším obsahem bílkovin.

U všech vzorků 5% jogurtů měl parametr celkový dojem skóre 3. Vzorky tedy byly přijatelné. U porovnání pouze 5% jogurtů nedošlo ke zvýšení skóre homogenity, vizuálně nejvíc celistvý byl jogurt bez přídavku sušeného mléka 5% OPI. U vzorku 5% MIX1 byla vyšší krémovitost, snížila se jeho písčítost, což je pravděpodobně zapříčiněno tím, že z 5% jogurtů obsahuje nejméně proteinového izolátu a největšího podílu sušeného mléka. U tohoto vzorku se ale vytratila sladká chuť. Pozitivní je, že přídavek sušeného mléka snížil skóre hořkosti.



Obrázek 22: Radarový graf sensoricky hodnocených jogurtů s 5% obsahem bílkovin

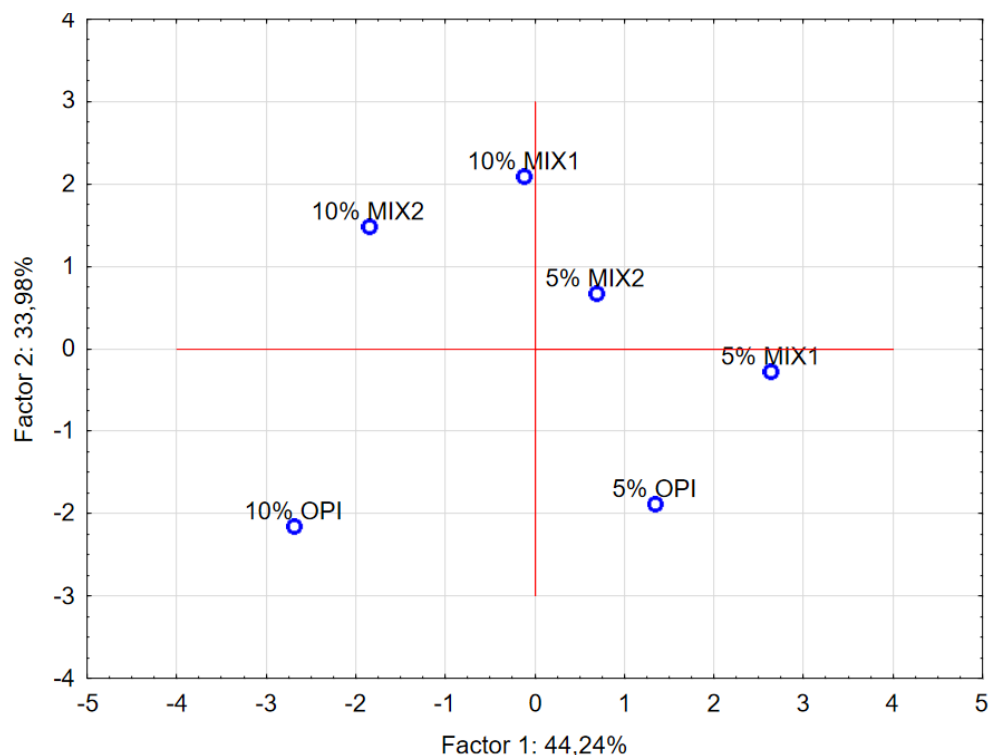


Obrázek 23: Radarový graf sensoricky hodnocených jogurtů s 10% obsahem bílkovin

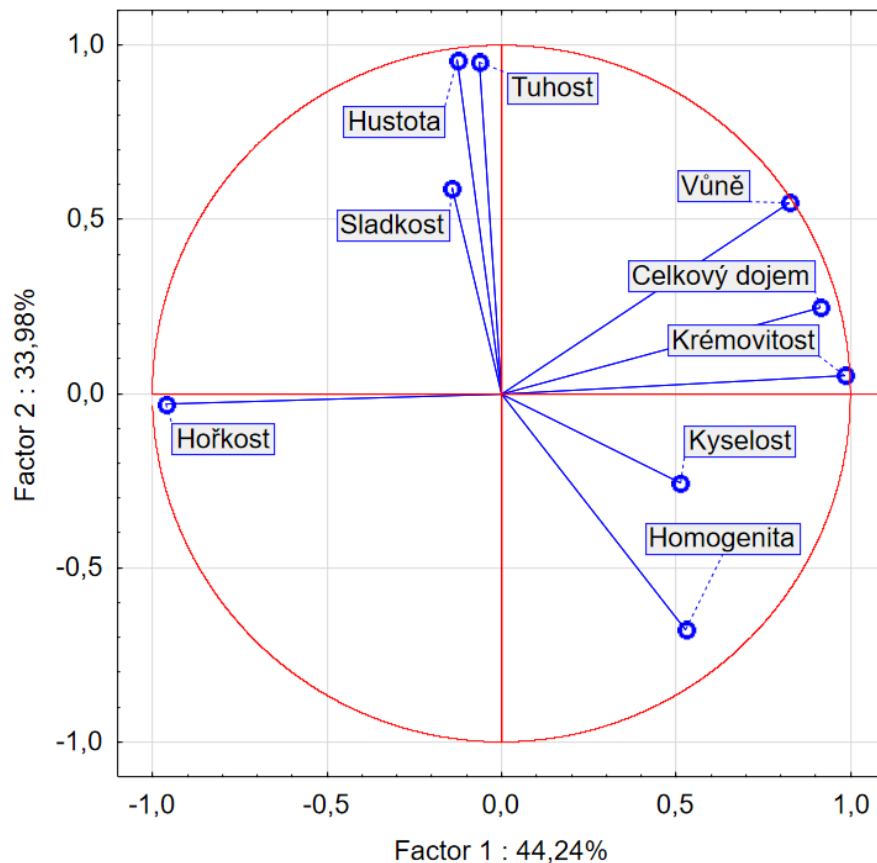
U vzorků s 10% obsahem bílkovin se celkový dojem jogurtů s obsahem sušeného mléka zlepšil oproti jogurtu pouze s proteinovým izolátem. Skóre vzorku s označením 10% MIX1 dosáhlo hodnoty až 2,5. Vzorky s přidavkem sušeného mléka jsou jemnější a krémovější, nejsou tolik písčité jako 10% OPI, pocit písčitosti ale nezmizel. Sladká chuť jogurtů s přidavkem sušeného mléka zintenzivnila, u jogurtů s 5% obsahem bílkovin tomu tak nebylo. Hořká chuť u 10% OPI a 10% MIX2 byla stejná, ale u 10% MIX1, který obsahuje nejvyšší podíl sušeného mléka, se hořkost výrazně snížila.

Z obou radarových grafů je vidět, že přidavkem sušeného mléka bylo dosaženo příjemnější vůně, vyšší tuhosti a hustoty vzorku, než u vzorků 5% OPI a 10% OPI. Celkově nejhůře hodnoceným vzorkem byl vzorek s 10% obsahem bílkovin s přidavkem pouze proteinového izolátu (10% OPI). Tento jogurt měl nejintenzivněji pocíťovanou písčitost a nejvyšší možnou hodnotu skóre pro intenzitu hořké chuti.

Pro data senzoričského hodnocení byla provedena analýza hlavních komponent (Obrázek 24 a Obrázek 25). Celkově nejhůř hodnocený jogurt 10% OPI je projektován do oblasti s negativním skóre pro komponentu 1 a 2. To znamená, že je tento jogurt víc hořký než ostatní a zároveň víc písčítý, nepříjemně vonící a se špatným celkovým dojmem. Jogurty s 10% obsahem bílkovin obsahující i sušené mléko projektovány do oblasti s negativním skóre pro komponentu 1 a s pozitivním skóre pro komponentu 2, jsou považovány za hustější, hůře nabratelné a sladší. Na rozdíl od 10% jogurtů se vzorky s 5% obsahem bílkovin s přidavkem sušeného mléka neprojektovávají do stejné oblasti. 5% MIX1 je zobrazen ve stejné oblasti jako 5% OPI. Tyto dva jogurty jsou v oblasti vyznačující se větší intenzitou kyselé chuti a vizuální celistvostí jogurtů. Jogurt 5% MIX2 je projektován do oblasti s pozitivním skóre pro obě komponenty a je tak krémovitější, s příjemnější vůní a lepším celkovým dojmem.



Obrázek 24: Graf analýzy hlavních komponent 1 a 2 senzoričsky hodnocených vzorků pro optimalizaci receptury pomocí alternativní bílkoviny



Obrázek 25: Graf analýzy hlavních komponent 1 a 2 vlastností sensoricky hodnocených vzorků pro optimalizaci receptury pomocí alternativní bílkoviny

Statisticky velmi významným je korelační koeficient s hodnotou -0,94 mezi hořkostí a krémovitostí jogurtu. Jedná se o negativní korelaci, to znamená, že čím vyšší je skóre hořké chuti, tím je jogurt víc písčitéjší a hrudkovitější. Hořkost také negativně koreluje (-0,89) s celkovým dojmem. Hořký jogurt hodnotitelům nechutná. Silný korelační faktor mají mezi sebou také tuhost (0,94) a hustota (0,94). Čím je jogurt tužší, tím je také hustější a víc kompaktní po vložení do úst mezi jazyk a patro. Dále spolu pozitivně korelují krémovitost s vůní (0,86) a celkovým dojmem (0,88). Jemný jogurt je bez hrudek, bez písčitého vnímání, s příjemnou vůní a hodnotitelé hodnotí krémový jogurt jako chutný. Vůně, stejně jako v kapitole 4.3, pozitivně souvisí s celkovým dojmem vzorku (0,85). Jogurt s příjemnou vůní je chutnější.

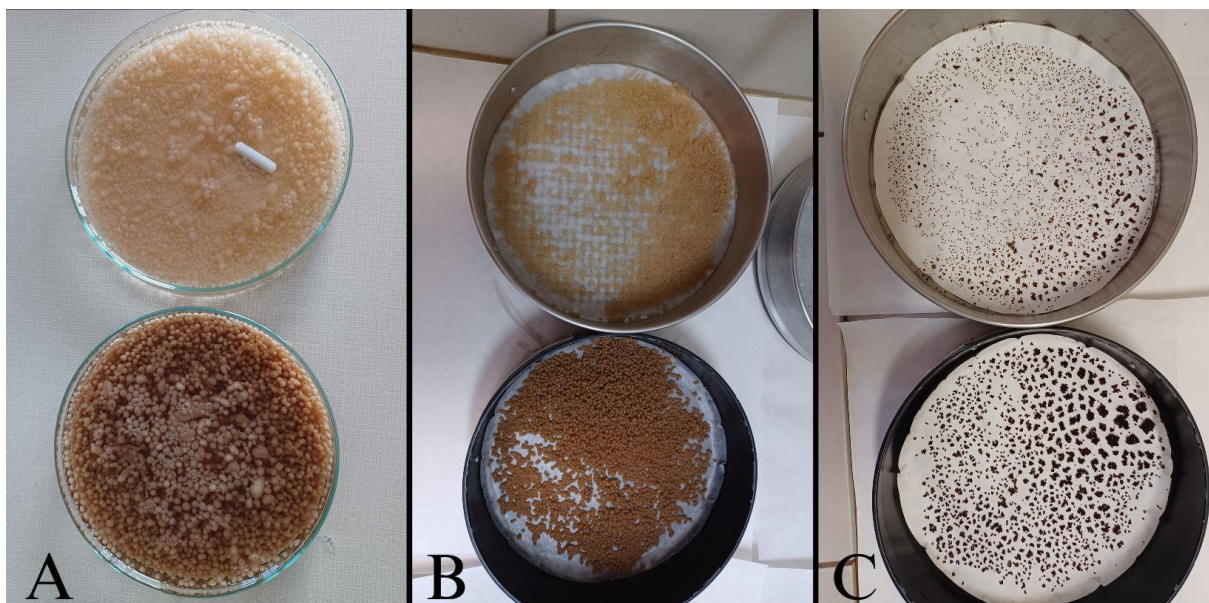
4.5 Vliv enkapsulace bílkoviny na sensorické vlastnosti

Z dat prezentovaných v předchozích kapitolách je evidentní, že fortifikace práškovým proteinovým izolátem z pšeničných otrub dochází k zásadní modifikaci jak chuťových, tak i texturních vlastností jogurtů. Jednou z možností, jak maskovat negativní sensorické vlivy je bílkovinný izolát enkapsulovat do polysacharidové matrice. Cílem této kapitoly experimentální části práce bylo vyrobit jogurt vykazující lepší vlastnosti fortifikovaného jogurtu pomocí enkapsulace bílkoviny a zjištění toho, jaký vliv má enkapsulace otrubového proteinového izolátu na sensorické vlastnosti vyrobeného jogurtu, především na písčitosť a hořkou chuť. Lu a kol. [90] se zabývali maskováním hořké chuti luteoninu. V této studii byla úspěšně provedena enkapsulace liposomů s luteoninem pomocí syrovátkového proteinu, která snížila vnímanou hořkost o 75 %.

Enkapsulace bílkoviny v této práci byla provedena dle postupu uvedeného v kapitole 3.7. Enkapsulovány byly směsi roztoku alginátu sodného s odlišným podílem proteinového izolátu pomocí enkapsulátoru Buchi B-395 Pro do roztoku chloridu vápenatého. Pro posouzení efektivity enkapsulace byly použity trysky o různém průměru – 450, 750 a 1000 μm . Jako optimální průměr trysky byl zvolen 1000 μm . Připravené enkapsulované částice s proteinovým izolátem byly řádně promyty demineralizovanou vodou. Dostatečné promytí částic je důležitou součástí celého procesu. Neúplně promyté částice mají za následek pocit slané chuti fortifikovaného potravinového výrobku.

Proveden byl i způsob enkapsulace pomocí peristaltické pumpy, která funguje na principu přečerpávání materiálu hadicí a střídavého stlačování a uvolňování. Dochází tak k deformaci hadice a tím k postupnému vytlačování materiálu ven z hadice za neustálého nabírání materiálu nového. Směs alginátu a proteinového izolátu byla za stálého míchání přečerpávána přes peristaltickou pumpu do roztoku chloridu vápenatého. Vyrobené částice byly řádně promyty. Mezi částicemi vyrobených pomocí enkapsulátoru a pomocí peristaltické pumpy nebyl žádný viditelný rozdíl. Výhodou enkapsulace pomocí peristaltické pumpy byla jednodušší manipulace s přístrojem a méně častější zanášení hadice přečerpávanou směsí.

Připravené a nasušené alginátové částice jsou zobrazeny níže (Obrázek 26). Následně byly vyrobeny jogurty dle postupu v kapitole 3.2 obohacené o nasušené alginátové částice s enkapsulovaným otrubovým proteinovým izolátem (Obrázek 27). Množství přidávaných ingrediencí je zobrazeno v tabulce (Tabulka 18). Na obrázku (Obrázek 28) je vzorek homogenizovaného vzorku jogurtu s enkapsulovanou bílkovinou.



Obrázek 26: Enkapsulovaný proteinový izolát, A – alginátové částice v roztoku chloridu vápenatého, B – promyté alginátové částice, C – usušené alginátové částice



Obrázek 27: Nasušené alginátové částice s enkapsulovaným otrubovým proteinovým izolátem

Tabulka 18: Vyrobené jogurty pro stanovení vlivu enkapsulace bílkoviny

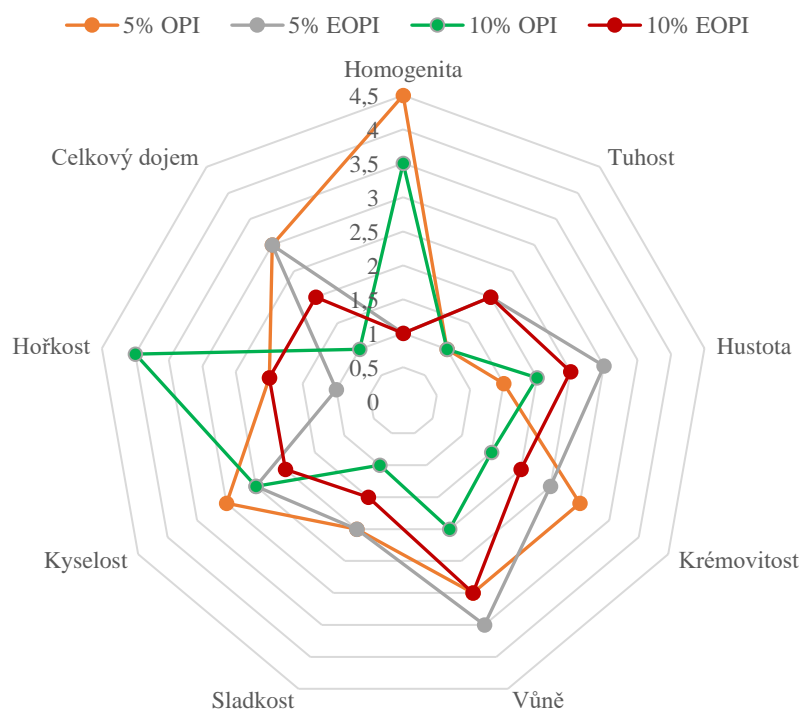
Vzorek	Typ mléka	Navážka otrubového proteinového izolátu [g]	Navážka enkapsulovaného otrubového proteinového izolátu [g]	Celkový obsah bílkovin ve vzorku [%]
5% OPI	UHT plnotučné	2,01	-	5
10% OPI	UHT plnotučné	7,91	-	10
5% EOPI	UHT plnotučné	-	3,15	5
10% EOPI	UHT plnotučné	-	12,43	10



Obrázek 28 Vzorek jogurtu s enkapsulovanou bílkovinou

Pro stanovení toho, jaký vliv má enkapsulace bílkoviny na senzorické vlastnosti jogurtů, byly hodnoceny 5% a 10% jogurty s neenkapsulovaným a enkapsulovaným proteinovým izolátem. Enkapsulace bílkovin výrazně napomohla k vylepšení barvy jogurtů. Přídavek neenkapsulovaného otrubového proteinového izolátu barví jogurt do hněda. Přídavkem enkapsulovaných částic se jogurt nebarví, zůstává nadále bílý. Z radarového grafu níže (Obrázek 29) je vidět, že jako celkově chutnější jogurty jsou považovány vzorky s 5% obsahem bílkovin. Jogurt s 10% obsahem bílkovin s otrubovým proteinovým izolátem byl hodnocen opět nejhůř a hodnotitelům vůbec nechutnal. Hořká chuť jogurtů s enkapsulovanými částicemi je výrazně méně intenzivní než u jogurtů, které enkapsulovaný izolát neobsahují. U 10% jogurtů došlo ke zlepšení o 2 stupně. Vzorek s 5% obsahem bílkovin s enkapsulovanými částicemi je svou hořkou chutí srovnatelný dokonce s referenčním jogurtem. Hořkou chutí rostlinné bílkoviny v jogurtu se zabývali Free-Manjareez a kol. [91]. V této studii byl fazolový proteinový hydrolyzát enkapsulovaný pomocí syrovátkového proteinu a arabské gumy a byl přidáván do jogurtu řeckého typu a hořkou chuť se tak podařilo výrazně snížit oproti jogurtu s neenkapsulovanou bílkovinou.

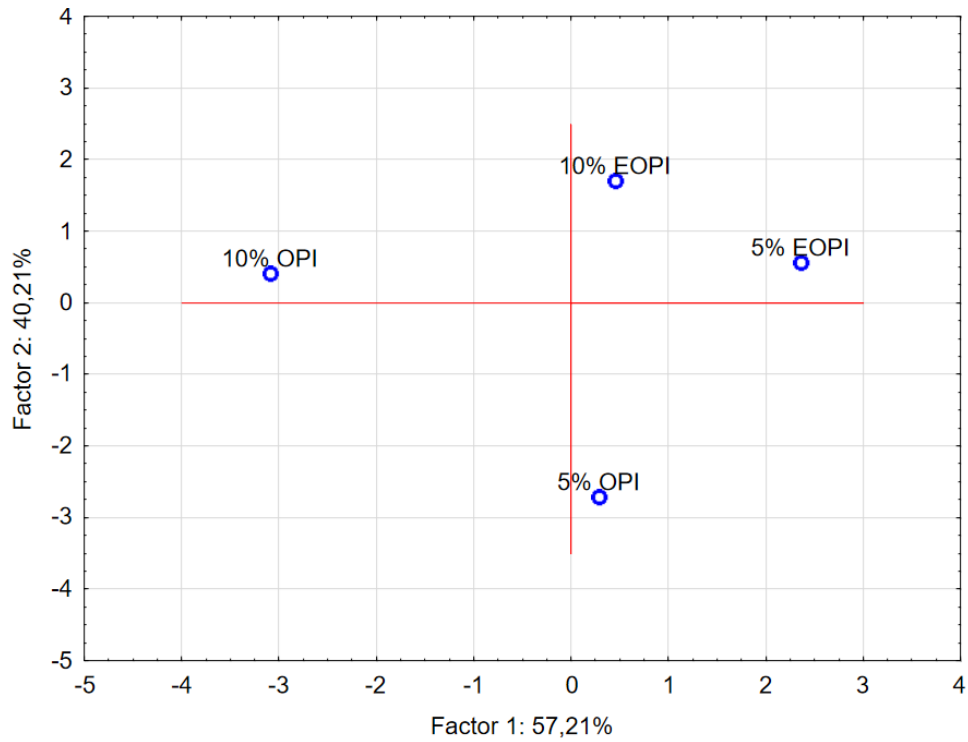
Písčitost jogurtů enkapsulací téměř vymizela, nahradil ji ale pocit hrudkovitosti. Jogurty jsou i tak hodnoceny jako jemnější než 10% OPI. Jogurt 5% OPI je hodnocen jako jemnější a krémovější než jogurty s enkapsulovanými částicemi. Jogurty s enkapsulovanými částicemi nejsou vůbec vizuálně celistvé, jelikož alginátové částice působí jako hrudky. Vzorky jogurtů s enkapsulovanými částicemi jsou hůře nabratelné než vzorky OPI. Kyselost jogurtů se nijak významně nelišila



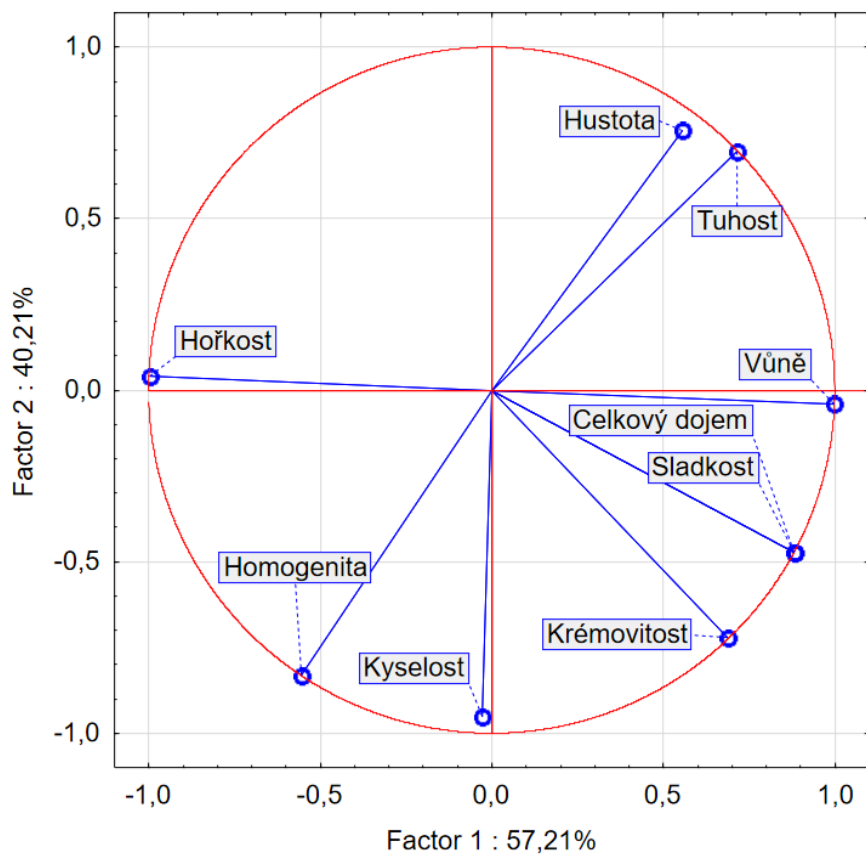
Obrázek 29: Radarový graf výsledků sensorické analýzy jogurtů s enkapsulovanými částicemi bílkoviny

Byla provedena korelační analýza sensoricky hodnocených vlastností jogurtů. Celkový dojem jogurtu a sladkost mají korelační koeficient roven 1,00. To znamená přímou závislost těchto dvou vlastností. Nepřímou závislost vykazuje hořkost a vůně (-1,00). Čím víc je jogurt hořký, tím má méně příjemnou vůni. Další statisticky významnými vlastnostmi jsou homogenita a tuhost s korelačním koeficientem -0,97. Tuhé obtížně nabratelné jogurty jsou z vizuálního hlediska hrudkovité a nejsou celistvé.

Z grafů (Obrázek 30 a Obrázek 31) analýzy hlavních komponent 1 a 2 dat sensorické analýzy vyplývá, že jogurty s enkapsulovanými proteinovými částicemi projektované ve stejné oblasti jsou více husté a tuhé než jogurty s neenkapsulovanými částicemi. Vzorek 10% OPI byl projektován do oblasti s negativním skóre pro komponentu 1 a s pozitivním skóre pro komponentu 2. Tento jogurt má intenzivnější hořkou chuť než ostatní jogurty, což potvrzuje fakt, že u 10% jogurtů je enkapsulace bílkoviny vhodnou metodou k zamaskování hořké chuti proteinového izolátu. 5% OPI jogurt je projektován do oblasti s pozitivním skóre pro komponentu 1 a s negativním skóre pro komponentu 2. Tento vzorek je hodnocen jako sladší, krémovitější a chutnější. U méně proteinového jogurtu nebylo prokázáno, že by byla enkapsulace ku prospěchu, co se týče zejména zamaskování písčítosti a vylepšení celkového dojmu.



Obrázek 30: Graf analýzy hlavních komponent 1 a 2 sensoricky hodnocených vzorků pro optimalizaci receptury pomocí enkapsulace bílkoviny



Obrázek 31: Graf analýzy hlavních komponent 1 a 2 vlastností sensoricky hodnocených vzorků pro optimalizaci receptury pomocí enkapsulace bílkoviny

4.5.1 Celkový dusík v enkapsulovaných částicích

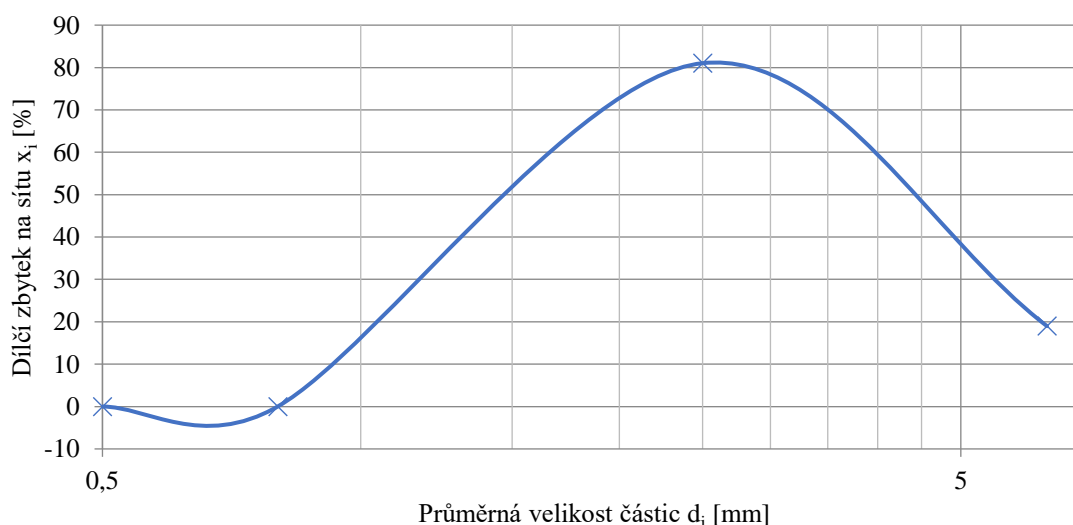
Enkapsulované částice otrubového proteinového izolátu (Tabulka 19) byly analyzovány pro zjištění obsahu celkového dusíku dle Kjeldahla. Z hodnoty obsahu celkového dusíku byl vypočítán obsah hrubé bílkoviny pomocí univerzálního faktoru 6,25. Pro částice s obsahem alginátu 1 % a otrubového proteinového izolátu 1 % byl stanoven obsah dusíku na 5,59 %. Obsah hrubé bílkoviny byl stanoven pomocí univerzálního faktoru na 34,91 %. Hrubých bílkovin ve vzorku č. 2 s 1 % alginátu sodného a 5 % proteinového izolátu je 53,89 %. Tyto enkapsulované částice byly použity pro výrobu fortifikovaných jogurtů. Obsah bílkovin v použitém neenkapsulovaném proteinovém izolátu z pšeničných otrub byl stanoven v kapitole 4.2 na 84,65 %. Aby bylo v jogurtu obsaženo požadované množství bílkovin byly potřeba vyšší navážky enkapsulovaných částic, jelikož obsahují o 30,76 % méně bílkovin než neenkapsulovaný proteinový izolát. To mohlo být důvodem k tomu, že sensoricky hodnocené EOPI jogurty nenabýly výrazného zlepšení celkového dojmu jogurtu.

Tabulka 19: Obsah celkového dusíku a hrubé bílkoviny ve vzorcích enkapsulovaných částic

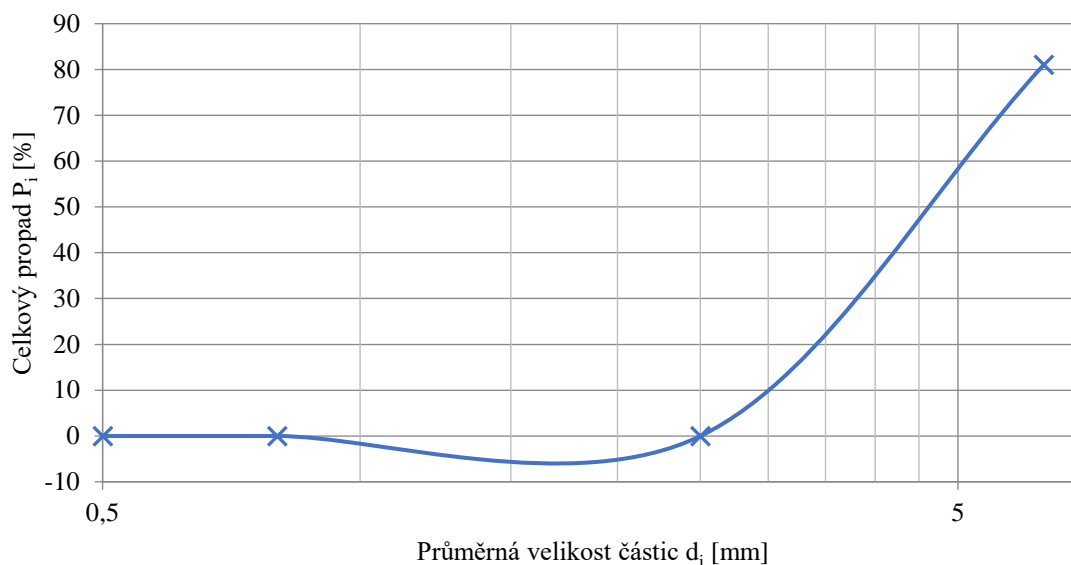
Vzorek	Obsah alginátu ve vzorku [% w/v]	Obsah proteinového izolátu ve vzorku [% w/v]	Obsah celkového dusíku [%]	Obsah hrubé bílkoviny [%]
1	1	1	5,59	34,91
2	1	5	8,62	53,89

4.5.2 Velikost enkapsulovaných částic

Velikost enkapsulovaných částic byla stanovena pomocí síťového analyzátoru. Byl sestaven graf diferenciální distribuční křivky (Obrázek 33), ze kterého je zřejmé, že nejvíce jsou zastoupeny částice o velikosti v rozmezí od 2,5 do 6,3 mm. Z grafu integrální distribuční křivky (Obrázek 33) je patrné, že k největšímu propadu částic došlo mezi prvním a druhým sítem. U částic, které nepropadly prvním sítem, pravděpodobně došlo ke tvorbě agregátů.



Obrázek 32: Graf diferenciální distribuční křivky



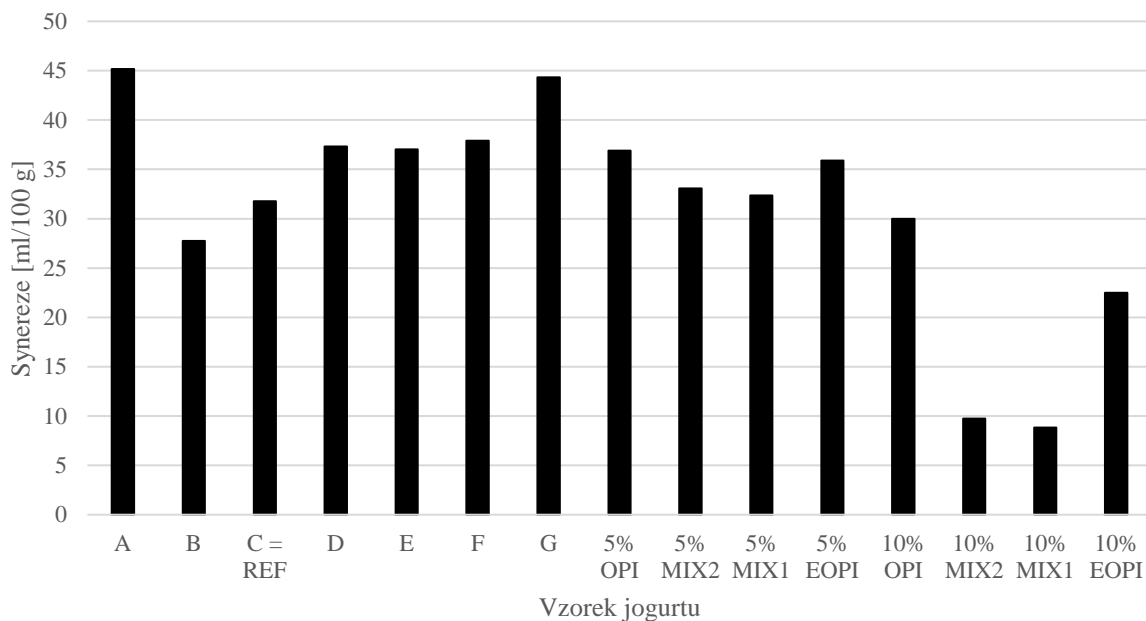
Obrázek 33: Graf integrální distribuční křivky

4.6 Hodnocení fyzikálních vlastností vyrobených jogurtů

Pro zhodnocení fyzikálních vlastností jogurtů byly provedeny analýzy stanovení synerexe a reologických vlastností jogurtů.

4.6.1 Synerexe jogurtů

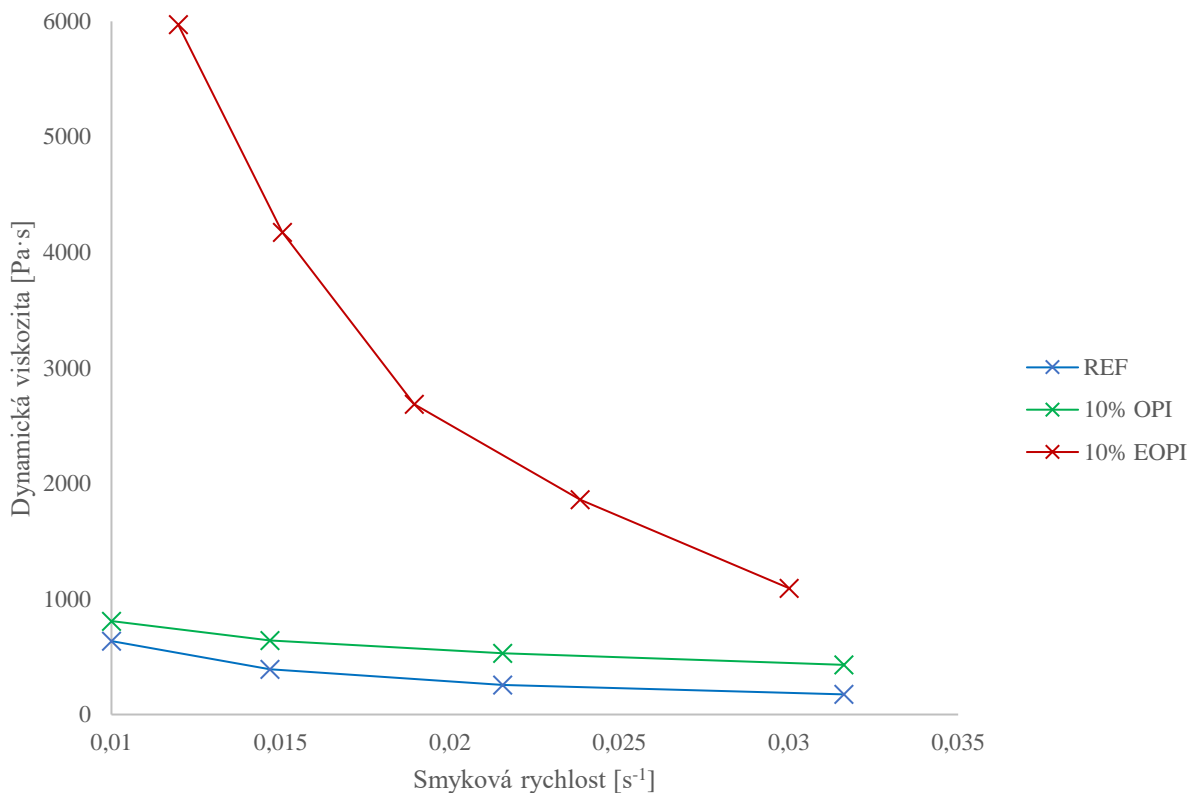
Synerexe vyrobených jogurtů byla stanovena dle postupu v kapitole 3.10 šestý den po skladování jogurtu při 4 °C. Synerexe souvisí s tím, jak jsou látky přítomné v jogurtu schopné vázat vodu. Důvodem uvolňování syrovátky může být příliš vysoká teplota během inkubace, nadměrné množství syrovátkového proteinu oproti kaseinu, nízký podíl pevných látek či nesprávné zacházení produktu při skladování a distribuci [92]. Nejvyšší synerexi vykazoval jogurt A z nízkotučného UHT mléka, což bylo pravděpodobně z důvodu nižšího obsahu sušiny než v UHT polotučném a plnotučném mléku. Jogurt z UHT plnotučného mléka, které bylo použito pro výrobu fortifikovaných jogurtů, vykazoval synerexi 31,76 ml na 100 g jogurtu. Ve studii prováděnou Erkaya a kol. [92] stanovili u jogurtu z kravského mléka synerexi na 33,28 ml na 100 g jogurtu. V této studii také došli k tomu, že jogurt z kravského mléka vykazuje vyšší synerexi než jogurt z ovčího či kozího mléka. Synerexe jednotlivých vzorků jogurtu je zobrazena v grafu (Obrázek 34), na kterém lze vidět u 5% jogurtů synerexi jogurtů vyšší než u jogurtu referenčního. U těchto jogurtů se potvrdilo to, co uvádí Akin a kol. [93], že přídavek rostlinných proteinů do fermentovaných mléčných výrobků významně zvyšuje separaci syrovátky. U jogurtů s 10% obsahem bílkovin to potvrzeno nebylo, u těchto jogurtů se synerexe oproti referenci snížila. Delikanli a kol. [94] uvádí, že synerexe jogurtu se snižuje přidáním syrovátkové bílkoviny, což se naopak potvrdilo u 10% jogurtů s přidáním sušeného mléka jakožto zástupcem živočišné bílkoviny. U vzorků 5% MIX2 a 5% MIX1 se separace syrovátky zvýšila o 4,15 % a 1,92 % oproti referenčnímu jogurtu. Free-Manjarrez a kol. [91] stanovili po srovnání jogurtu bez přidávaných bílkovin a jogurtu s enkapsulovanou rostlinnou bílkovinou, že se synerexe jogurtu přidáním enkapsulovaných částic snížila. V této práci se synerexe díky enkapsulaci snížila pouze u jogurtu s 10% obsahem bílkovin, u 5% jogurtů se naopak uvolňování syrovátky zvýšilo.



Obrázek 34: Synerese vyrobených jogurtů

4.6.2 Reologické vlastnosti jogurtu

Pro stanovení reologických vlastností jogurtu byly zvoleny vzorky s 10% obsahem bílkovin s neenkapsulovanými i enkapsulovanými částicemi a jogurt referenční bez přídavku bílkovin. Vzorky byly změřeny na reometru Discovery HR-2 hybrid vytemperovaném na 25 °C. Byl sestaven graf závislosti dynamické viskozity na smykové rychlosti (Obrázek 35). Z grafu lze určit, že se jedná o vzorky s pseudoplastickým chováním, jelikož viskozita všech měřených jogurtů klesá s rostoucí smykovou rychlostí. K těmto výsledkům došli i Gee a kol. [95] zabývající se vlivem fortifikace, a to obohacením jogurtu o β – glukán z ječmene, na viskozitu jogurtu. Dále je zřejmé, že jogurt s přídavkem proteinového izolátu je více viskózní než jogurt referenční. 10% jogurt s enkapsulovaným proteinovým izolátem má oproti dalším dvěma jogurtům viskozitu výrazně vyšší. Zároveň ale s rostoucí smykovou rychlostí dochází k většímu poklesu viskozity než u jogurtů bez enkapsulované bílkoviny.



Obrázek 35: Graf závislosti dynamické viskozity na smykové rychlosti u vzorků jogurtů

Níže uvedená Tabulka 20 zobrazuje, jaká byla dynamická viskozita jednotlivých vzorků při smykové rychlosti $0,01 s^{-1}$. Referenční vzorek jogurtu má při této rychlosti hodnotu viskozity $635,59 Pa \cdot s$. U jogurtu s 10% obsahem bílkovin (10% OPI) byl nárůst viskozity pouze o 27,25 % na hodnotu $808,82 Pa \cdot s$. Z toho vyplývá, že přidavek proteinového izolátu zvyšuje viskozitu jogurtu. To potvrzuje i studie vlivu přidavku syrovátkového proteinového izolátu do mléčných výrobků v různých koncentracích. Patocka a kol. [96] došli k závěru, že čím vyšší byla koncentrace izolátu, tím byla vyšší i viskozita jogurtového mléka. U jogurtu s enkapsulovanou bílkovinou byl nárůst viskozity výrazný (839,76 %). Došlo ke zvýšení na hodnotu $5973,04 Pa \cdot s$. Z těchto výsledků lze konstatovat, že enkapsulace má velký vliv na viskozitu jogurtu, což vychází i ze sensorické analýzy jogurtů s enkapsulovanou bílkovinou v kapitole 4.5. S vyšší viskozitou je jogurt víc tuhý a hustý.

Tabulka 20: Dynamická viskozita vzorků jogurtů při smykové rychlosti $0,01 s^{-1}$

Vzorek	Dynamická viskozita [$Pa \cdot s$]	Procentuální rozdíl s referencí [%]
REF	635,59	-
10% OPI	808,82	27,25
10% EOPI	5973,04	839,76

Mez toku τ_0 je taková hodnota smykového napětí potřebná k překonání elastického chování kapaliny a dosažení chování tokového. Binghamův model říká, že neneutronovské kapaliny mají nenulovou hodnotu meze toku. Pro takové látky je nutné vynaložit určitou sílu k překonání

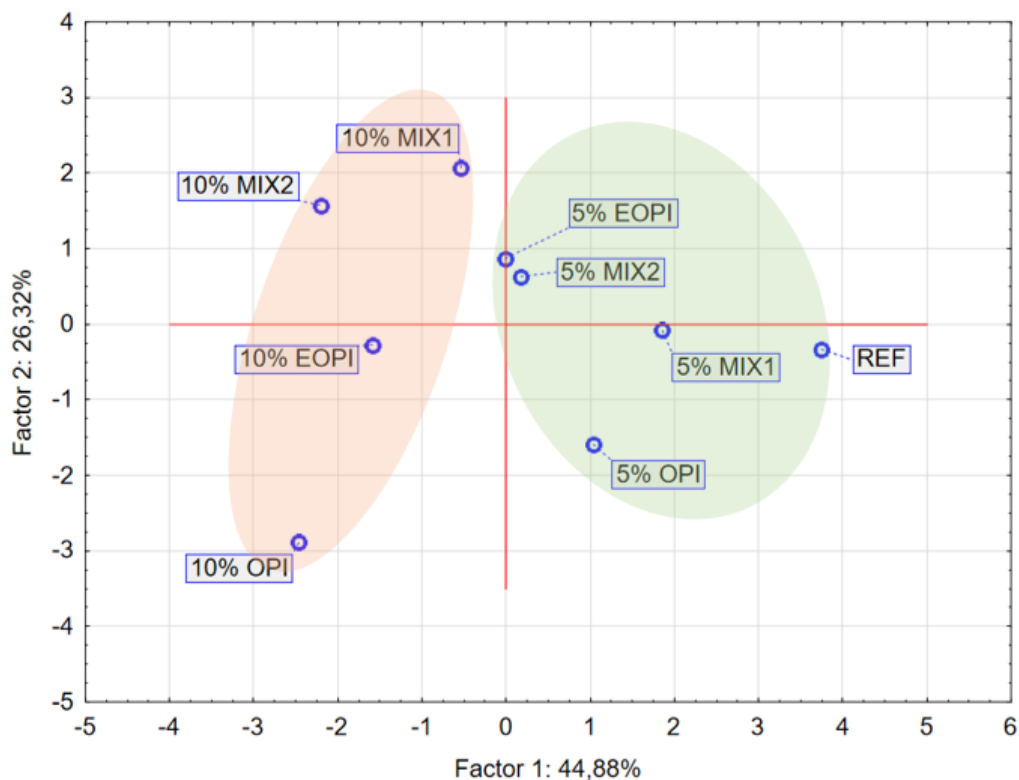
elasticity. Naopak u newtonovských kapalin (voda) je mez toku rovna nule. Stanovené hodnoty jsou uvedené v tabulce (Tabulka 21). Mez toku referenčního jogurtu byla stanovena na 6,96 Pa. Mez toku jogurtu s neenkapsulovanými částicemi izolátu je o 66,81 % nižší než u reference. U jogurtu s enkapsulovanými částicemi se mez toku výrazně zvýšila na hodnotu 261,95 Pa.

Tabulka 21: Mez toku vzorků jogurtů při smykové rychlosti $0,01 \text{ s}^{-1}$

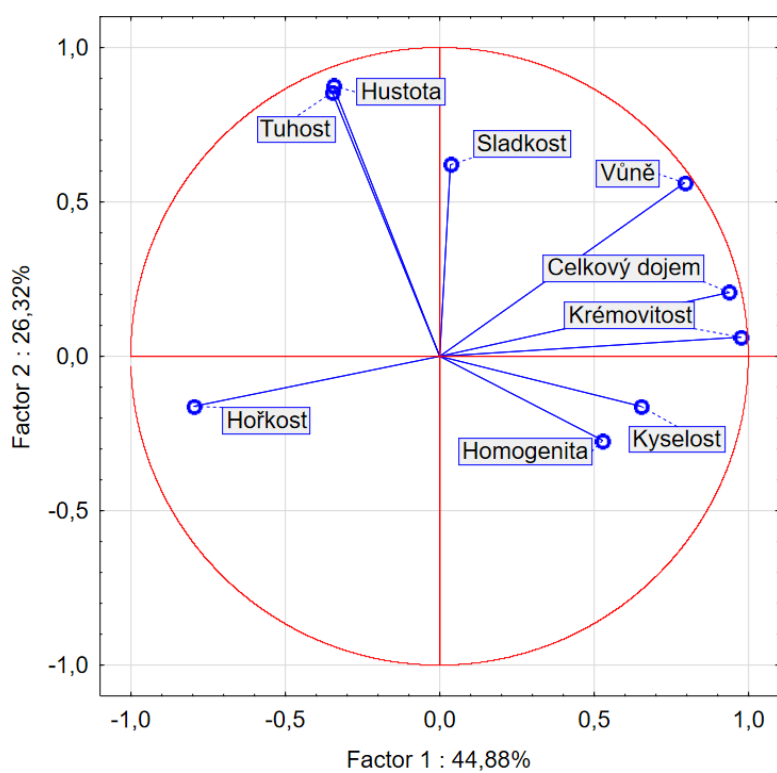
Vzorek	Mez toku [Pa]	Procentuální rozdíl proti referenci [%]
REF	6,96	-
10% OPI	2,31	66,81
10% EOPI	261,95	3663,65

4.7 Komplexní hodnocení vzorků z hlediska vícerozměrné analýzy dat

Data hodnocení sensorické analýzy všech fortifikovaných jogurtů a referenčního vzorku byla projektována do faktorové roviny 1 a 2. Z grafu (Obrázek 36) je patrné, že jogurty s obsahem bílkovin 10 % se projektovaly do oblasti s negativním skóre pro komponentu 1 a vytváří tak spolu jeden klastr. Referenční jogurt a jogurty s 5% obsahem bílkovin se naopak projektovaly do oblasti s pozitivním skóre pro komponentu 1. Souvisí s tím i to, že obecně byly jogurty s nižším obsahem bílkovin více kladně hodnocené než jogurty s 10% obsahem bílkovin. U vzorků 10% jogurtů lze říct, že přídavek sušeného mléka měl vliv na sensorické vlastnosti jogurtu, jelikož jsou v oblasti projekce s pozitivním skóre pro komponentu 2 na rozdíl od jogurtů bez sušeného mléka. Porovnáním těchto výsledků s grafem (Obrázek 37) vychází, že 10% jogurty s enkapsulovaným a neenkapsulovaným proteinovým izolátem jsou více hořké než ostatní jogurty. Hořkost s krémovitostí a celkovým dojmem jogurtu negativně koreluje. Téměř vůbec nekoreluje hořká chuť s vlastnostmi, jako jsou tuhost a hustota jogurtu. Hustými a tuhými jogurty jsou 10% jogurty s obsahem sušeného mléka. Vyšší viskozitu s přídavkem živočišné bílkoviny do jogurtu potvrzuje Patocka a kol. [96] ve své studii o reologických vlastnostech jogurtu. Jogurty 5% MIX2 a 5% jogurt s enkapsulovanými částicemi jsou projektovány do stejné oblasti, jsou tak krémovější, mají příjemnou vůni, jsou sladší a mají vyšší skóre pro parametr celkový dojem. Jogurty 5% MIX1 a 5% OPI jsou projektovány do oblasti s pozitivním skóre pro komponentu 1 a s negativním skóre pro komponentu 2 společně s referenčním jogurtem. Tyto jogurty jsou vizuálně celistvější a kyselejší.



Obrázek 36: Graf komplexní analýzy hlavních komponent 1 a 2 sensoricky hodnocených vzorků



Obrázek 37: Graf komplexní analýzy hlavních komponent 1 a 2 vlastností sensoricky hodnocených vzorků

5 ZÁVĚR

Cílem diplomové práce byla výroba, charakterizace a enkapsulace proteinového izolátu z pšeničných otrub. Dále optimalizace výroby vysokoproteinového jogurtu a jeho analýza se zaměřením na nutriční, reologické a senzorické vlastnosti.

Proteinový izolát byl připraven pomocí alkalické hydrolyzy. Vyrobený izolát obsahoval 84,65 % bílkovin. Pomocí metody HPLC-DAD byl stanoven aminokyselinový profil izolátu. Nejvíce zastoupený byl glutamin (18,00 g/100 g) a prolin (8,42 g/100 g).

Bylo zhodnoceno 7 druhů mléka z hlediska vlivu na senzorické vlastnosti vyrobeného jogurtu. Na základě senzorické analýzy bylo pro další části experimentu zvoleno mléko plnotučné trvanlivé, které získalo nejvyšší možné skóre pro parametr celkový dojem.

Jogurt byl fortifikován proteinovým izolátem z pšeničných otrub tak, aby celkový obsah bílkovin byl 5 a 10 %. Tyto vzorky byly srovnány s referenčním jogurtem. Jogurt s 10% obsahem bílkovin hodnotitelům vůbec nechutnal a ukázalo se, že jogurty s přídavkem této bílkoviny vykazují hořkou chuť a pocit písčitosti. Snahou bylo zabránit pocitu písčitosti pomocí mletí izolátu na jemnější částice. Granulometrickým měřením byla určena velikost částic namletých kávomlýnkem na 94,60 μm a mleté kulovým mlýnem na 38,30 μm . Bylo stanoveno, že pocit písčitosti nezmizel, přesto byly jogurty s jemnějšími částicemi přijatelnější.

V rámci optimalizace receptury pro výrobu jogurtu byly testovány různorodé směsi a kombinace se sušeným mlékem. Z výsledků senzorické analýzy bylo zřejmé, že výroba pomocí alternativní bílkoviny měla pozitivní vliv na celkové hodnocení vzorků. A to především u jogurtů s 10% obsahem bílkovin, které tak získaly lepší skóre pro parametr celkový dojem, hořkost, krémovitost i vůni.

Proteinový izolát byl enkapsulován do lipozomů pomocí enkapsulátoru. Síťovací analýzou byla stanovena, že velikost enkapsulovaných částic se pohybuje v rozmezí 2,5 – 6,3 μm . Obsah bílkovin v enkapsulovaných částicích byl stanoven na 34,91 % a 53,89 %. Pro fortifikaci jogurtů byly zvoleny částice s větším obsahem bílkovin. Opět byly vyrobeny jogurty s celkovým obsahem bílkovin 5 a 10 %. Cílem enkapsulace bílkoviny bylo maskování negativních senzorických vlivů fortifikovaných jogurtů práškovým izolátem. Hořká chuť byla signifikantně nižší u vzorků s enkapsulovaným izolátem než u vzorků s práškovým izolátem. Písčitost jogurtů díky enkapsulaci téměř zmizela, nahradil ji ale pocit větší hrudkovitosti.

Pro zhodnocení fyzikálních vlastností vyrobených jogurtů byla provedena stanovení synereze jogurtů a reologických vlastností jogurtů. Nejvyšší synereze dosahoval jogurt vyrobený z nízkotučného trvanlivého mléka s hodnotou 45,17 ml/100 g. Jogurt z plnotučného trvanlivého mléka, které bylo zvoleno jako nejlepší pro výrobu jogurtu, vykazoval synerezi 31,76 ml/100 g. Synereze 5% jogurtů byla oproti referenčnímu jogurtu vyšší, u těch 10% jogurtů byla nižší. Přídavek sušeného mléka u 5% jogurtů přispěl k vyššímu uvolňování syrovátky oproti referenci, u vzorků s obsahem bílkovin 10 % tomu bylo naopak. Enkapsulace napomohla ke snížení synereze oproti jogurtům s práškovým izolátem. U vzorků s 10% obsahem bílkovin byly vzájemně porovnány jejich reologické vlastnosti. Dynamická viskozita jogurtu s enkapsulovaným izolátem je výrazně vyšší než u jogurtu s práškovým izolátem a reference. Stejně tak má vzorek s enkapsulovanou bílkovinou vyšší hodnotu pro mez toku. Naopak vzorek s práškovým izolátem má tuto hodnotu ještě nižší než jogurt referenční.

Bylo provedeno komplexní hodnocení vzorků z hlediska vícerozměrné analýzy dat, ze které je patrné, že celkový dojem jogurtu závisí na tom, jak je daný jogurt hořký. Čím více

vykazuje hořkou chuť, tím víc hodnotitelům jogurt nechutná. Hořká chuť koreluje s krémovitostí. Písčité či hrudkovité jogurty jsou intenzivněji hořké.

Lze říct, že jogurty s přídavkem práškového proteinového izolátu sice vylepšily nutriční hodnotu výrobku, ale za to měl přídavek bílkoviny negativní vliv na některé sensorické vlastnosti jogurtu. Pomocí enkapsulace bílkoviny se podařilo tyto vlastnosti signifikantně vylepšit, bez toho, aniž by byly sníženy jejich nutriční vlastnosti.

6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] *Vyhláška č. 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje.*
- [2] PUNIYA, Anil Kumar. *Fermented Milk and Dairy Products*. 1. Taylor & Francis, 2015. ISBN 9781466577978.
- [3] *Informační centrum bezpečnosti potravin* [online]. Ministerstvo zemědělství, 2021 [cit. 2022-11-17]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/>
- [4] MALO, P.M. a E.A. URQUHART. Fermented Foods: Use of Starter Cultures. *Encyclopedia of Food and Health*. Elsevier, 2016, 681-685. ISBN 9780123849533. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00282-8
- [5] BAGLIO, Ettore. The Modern Yoghurt: Introduction to Fermentative Processes. *Chemistry and Technology of Yoghurt Fermentation*. Cham: Springer International Publishing, 2014, 1-23. SpringerBriefs in Molecular Science. ISBN 978-3-319-07376-7. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-07377-4_1
- [6] KODÍČEK, Milan, Olga VALENTOVÁ a Radovan HYNEK. *Biochemie: chemický pohled na biologický svět*. 3. přepracované vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2022. ISBN 978-80-7592-124-6.
- [7] CARR, Frank, Don CHILL a Nino MAIDA. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*. 2008, **28**(4), 281-370. ISSN 1040-841X. Dostupné z: doi:10.1080/1040-840291046759
- [8] FERNANDEZ, M.A., É. PICARD-DELAND, M. LE BARZ, N. DANIEL a A. MARETTE. Yogurt and Health. *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*. Elsevier, 2017, 305-338. ISBN 9780128023099. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-802309-9.00013-3
- [9] WEBB, Densie, Sharon DONOVAN a Simin MEYDANI. The role of Yogurt in improving the quality of the American diet and meeting dietary guidelines. *Nutrition Reviews*. 2014, **72**(3), 180-189. ISSN 00296643. Dostupné z: doi:10.1111/nure.12098
- [10] LI, Jin-song, Yun-tian BI, Cheng DONG, Ji-feng YANG, Wan-dong LIANG a Christophe HERMAN. Transcriptome Analysis of Adaptive Heat Shock Response of *Streptococcus thermophilus*. *PLoS ONE*. 2011, **6**(10). ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0025777
- [11] DELORME, C. Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus*☆. *International Journal of Food Microbiology*. 2008, **126**(3), 274-277. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.014
- [12] NACHTIGALL, Carsten, Georg SURBER, Daniel WEFERS, Cordula VOGEL, Harald ROHM a Doris JAROS. Capsular Exopolysaccharides from Two *Streptococcus thermophilus* Strains Differ in Their Moisture Sorption Behavior. *Foods*. 2023, **12**(3). ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods12030596

- [13] BASPINAR, Busra a Metin GÜLDAŞ. Traditional plain yogurt: a therapeutic food for metabolic syndrome?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2021, **61**(18), 3129-3143. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2020.1799931
- [14] PANNELL, Lisa a Tonya SCHOENFUSS. Yogurt. *Handbook of Food Products Manufacturing*. Hoboken, NJ, USA, 2007, 647-676. ISBN 9780470113554. Dostupné z: doi:10.1002/9780470113554.ch76
- [15] MCGREGOR, Robin a Sally POPPITT. *Milk protein for improved metabolic health: a review of the evidence*. 2013, **10**(1). ISSN 1743-7075. Dostupné z: doi:10.1186/1743-7075-10-46
- [16] TAMIME, Adnan a Richard ROBINSON. *Nutritional value of yoghurt*. Woodhead Publishing, 2007. ISBN 978-1-84569-213-1.
- [17] HOLSINGER, Virginia. *Fundamentals of Dairy Chemistry*. Springer, Boston, MA, 2013. ISBN 978-0-442-20489-1.
- [18] JACQUES, Paul a Huifen WANG. Yogurt and weight management,. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2014, **99**(5), 1229-1234. ISSN 00029165. Dostupné z: doi:10.3945/ajcn.113.073031
- [19] SMITHERS, Geoffrey W. Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’. *International Dairy Journal*. 2008, **18**(7), 695-704. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/j.idairyj.2008.03.008
- [20] NISHANTHI, Manjula, Todor VASILJEVIC a Jayani CHANDRAPALA. Properties of whey proteins obtained from different whey streams. *International Dairy Journal*. 2017, **66**, 76-83. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/j.idairyj.2016.11.009
- [21] ONWULATA, Charles a Peter HUTH. *Whey processing, functionality and health benefits*. John Wiley & Sons, 2009. ISBN 978-0-8138-0903-8.
- [22] DIMITRELLOU, Dimitra, Nikoletta SOLOMAKOU, Evangelos KOKKINOMAGOULOS a Panagiotis KANDYLIS. Yogurts Supplemented with Juices from Grapes and Berries. *Foods*. 2020, **9**(9). ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9091158
- [23] JøRGENSEN, Camilla, Roger ABRAHAMSEN, Elling-Olav RUKKE, Tom HOFFMANN, Anne-Grethe JOHANSEN a Siv SKEIE. Processing of high-protein yoghurt – A review. *International Dairy Journal*. 2019, **88**, 42-59. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/j.idairyj.2018.08.002
- [24] WU, Guoyao. *Dietary protein intake and human health*. 2016, **7**(3), 1251-1265. ISSN 2042-6496. Dostupné z: doi:10.1039/C5FO01530H
- [25] FOUROVÁ, Karolína. *Jediná kniha o jídle, kterou potřebujete*. První. Praha: Euromedia Group, a. s., 2020. ISBN 978-80-242-7157-b.
- [26] GARBA, Umar; KAUR, Sawinder. Protein isolates: Production, functional properties and application. *International journal of current research and review*, 2014, 6.3: 35.

- [27] MINJ, Shayanti a Sanjeev ANAND. Whey Proteins and Its Derivatives: Bioactivity, Functionality, and Current Applications. *Dairy*. 2020, **1**(3), 233-258. ISSN 2624-862X. Dostupné z: doi:10.3390/dairy1030016
- [28] ABD EL-SALAM, M.H., Safinaz EL-SHIBINY a Aida SALEM. Factors Affecting the Functional Properties of Whey Protein Products: A Review. *Food Reviews International*. 2009, **25**(3), 251-270. ISSN 8755-9129. Dostupné z: doi:10.1080/87559120902956224
- [29] KARAM, Marie, Claire GAIANI, Chadi HOSRI, Jennifer BURGAIN a Joël SCHER. Effect of dairy powders fortification on yogurt textural and sensorial properties: a review. *Journal of Dairy Research*. 2013, **80**(4), 400-409. ISSN 0022-0299. Dostupné z: doi:10.1017/S0022029913000514
- [30] SCHWEIGGERT-WEISZ, Ute, Peter EISNER, Stephanie BADER-MITTERMAIER a Raffael OSEN. Food proteins from plants and fungi. *Current Opinion in Food Science*. 2020, **32**, 156-162. ISSN 22147993. Dostupné z: doi:10.1016/j.cofs.2020.08.003
- [31] SINGH, Preeti, R. KUMAR, S. SABAPATHY a A. BAWA. Functional and Edible Uses of Soy Protein Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2008, **7**(1), 14-28. ISSN 1541-4337. Dostupné z: doi:10.1111/j.1541-4337.2007.00025.x
- [32] ZHAO, Jing a William BOATRIGT. Static headspace analysis of odorants in commercial rice proteins. *Food Chemistry*. 2017, **221**, 345-350. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2016.10.086
- [33] BRÜCKNER-GÜHMANN, Monika, Albina BENTHIN a Stephan DRUSCH. Enrichment of yoghurt with oat protein fractions: Structure formation, textural properties and sensory evaluation. *Food Hydrocolloids*. 2019, **86**, 146-153. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2018.03.019
- [34] LU, Z., J. HE, Y. ZHANG a D. BING. Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020, **60**(15), 2593-2605. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2019.1651248
- [35] BANERJEE, Surojit, Ujjwal JOSHI, Anupama SINGH a Vikas SAHARAN. Lipids for Taste masking and Taste assessment in pharmaceutical formulations. *Chemistry and Physics of Lipids*. 2021, **235**. ISSN 00093084. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemphyslip.2020.105031
- [36] FU, Yu, Jingru CHEN, Kathrine BAK a René LAMETSCH. Valorisation of protein hydrolysates from animal by-products: perspectives on bitter taste and debittering methods. 2019, **54**(4), 978-986. ISSN 0950-5423. Dostupné z: doi:10.1111/ijfs.14037
- [37] F. GIBBS, SELIM KERMASHA, INTEAZ AL, Bernard. Encapsulation in the food industry: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2009, **50**(3), 213-224. ISSN 0963-7486. Dostupné z: doi:10.1080/096374899101256
- [38] NEDOVIC, Viktor, Ana KALUSEVIC, Verica MANOJLOVIC, Steva LEVIC a Branko BUGARSKI. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia*

- Food Science*. 2011, **1**, 1806-1815. ISSN 2211601X. Dostupné z: doi:10.1016/j.profoo.2011.09.265
- [39] FANG, Zhongxiang a Bhesh BHANDARI. *Encapsulation of polyphenols – a review*. 2010, **21**(10), 510-523. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2010.08.003
- [40] DESAI, Kashappa a Hyun JIN PARK. Recent Developments in Microencapsulation of Food Ingredients. *Drying Technology*. 2005, **23**(7), 1361-1394. ISSN 0737-3937. Dostupné z: doi:10.1081/DRT-200063478
- [41] RISCH, Sara J. Encapsulation: Overview of Uses and Techniques. *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*. Washington, DC: American Chemical Society, 1995, 2-7. ACS Symposium Series. ISBN 9780841231641. Dostupné z: doi:10.1021/bk-1995-0590.ch001
- [42] PIÑÓN-BALDERRAMA, Claudia, César LEYVA-PORRAS, Yolanda TERÁN-FIGUEROA, Vicente ESPINOSA-SOLÍS, Claudia ÁLVAREZ-SALAS a María SAAVEDRA-LEOS. Encapsulation of Active Ingredients in Food Industry by Spray-Drying and Nano Spray-Drying Technologies. *Processes*. 2020, **8**(8). ISSN 2227-9717. Dostupné z: doi:10.3390/pr8080889
- [43] ANANDHARAMAKRISHNAN, C. a S. PADMA ISHWARYA. *Spray Drying Techniques for Food Ingredient Encapsulation*. John Wiley & Sons, 2015. ISBN 978-1-118-86419.
- [44] JESORKA, Aldo a Owe ORWAR. Liposomes: Technologies and Analytical Applications. *Annual Review of Analytical Chemistry*. 2008, **1**(1), 801-832. ISSN 1936-1327. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.anchem.1.031207.112747
- [45] DA SILVA MALHEIROS, Patrícia, Daniel DAROIT a Adriano BRANDELLI. *Food applications of liposome-encapsulated antimicrobial peptides*. 2010, **21**(6), 284-292. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2010.03.003
- [46] SUBRAMANI, Thirukkumar a Hemalatha GANAPATHYSWAMY. An overview of liposomal nano-encapsulation techniques and its applications in food and nutraceutical. *Journal of Food Science and Technology*. 2020, **57**(10), 3545-3555. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-020-04360-2
- [47] ZHANG, Zipei, Ruojie ZHANG, Liqiang ZOU a David MCCLEMENTS. Protein encapsulation in alginate hydrogel beads: Effect of pH on microgel stability, protein retention and protein release. *Food Hydrocolloids*. 2016, **58**, 308-315. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2016.03.015
- [48] GAO, Yi, Xiaoqing LI, Youfa XIE et al. Encapsulation of bitter peptides in diphasic gel double emulsions: Bitterness masking, sustained release and digestion stability. *Food Research International*. 2022, **162**. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2022.112205
- [49] MOHAN, Aishwarya, Subin R. C. K. RAJENDRAN, Quan Sophia HE, Laurent BAZINET a Chibuike C. UDENIGWE. Encapsulation of food protein hydrolysates and

- peptides: a review. *RSC Advances*. 2015, **5**(97), 79270-79278. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/C5RA13419F
- [50] CHENG, Wen, Yujie SUN, Mingcong FAN, Yan LI, Li WANG a Haifeng QIAN. Wheat bran, as the resource of dietary fiber: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022, **62**(26), 7269-7281. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2021.1913399
- [51] CHEN, Zhongwei, Andrew MENSE, Lauren BREWER a Yong-Cheng SHI. Wheat bran layers: composition, structure, fractionation, and potential uses in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1-24. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2023.2171962
- [52] BALANDRÁN-QUINTANA, René, Jorge MERCADO-RUIZ a Ana MENDOZA-WILSON. Wheat Bran Proteins: A Review of Their Uses and Potential. *Food Reviews International*. 2015, **31**(3), 279-293. ISSN 8755-9129. Dostupné z: doi:10.1080/87559129.2015.1015137
- [53] SLAVIN, Joanne, David JACOBS a Len MARQUART. Grain Processing and Nutrition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2000, **40**(4), 309-326. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408690091189176
- [54] DAR, Gowhar, Azra KAMILI, Ruqeya NAZIR, Suhaib BANDH, Tariq JAN a Mohammad CHISHTI. Enhanced production of α -amylase by *Penicillium chrysogenum* in liquid culture by modifying the process parameters. *Microbial Pathogenesis*. 2015, **88**, 10-15. ISSN 18788181. Dostupné z: doi:10.1016/j.micpath.2015.07.016
- [55] CHUNG, Woo, Jaehong SHIM a Balasubramani RAVINDRAN. Application of wheat bran based biomaterials and nano-catalyst in textile wastewater. *Journal of King Saud University - Science*. 2022, **34**(2). ISSN 10183647. Dostupné z: doi:10.1016/j.jksus.2021.101775
- [56] CENGIZ, Mehmet, Umit BABACAN, Ersin AKINCI, Sude TUNCER KESCI a Adem KABA. *Extraction of phenolic acids from ancient wheat bran samples by ultrasound application*. 2021, **96**(1), 134-141. ISSN 0268-2575. Dostupné z: doi:10.1002/jctb.6519
- [57] VACCARI, F.P, A. MAIENZA, F. MIGLIETTA et al. *Biochar stimulates plant growth but not fruit yield of processing tomato in a fertile soil*. 2015, **207**, 163-170. ISSN 01678809. Dostupné z: doi:10.1016/j.agee.2015.04.015
- [58] YAN, Jingyao, Yiming LV a Sen MA. Wheat bran enrichment for flour products: Challenges and solutions. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2022, **46**(11). ISSN 0145-8892. Dostupné z: doi:10.1111/jfpp.16977
- [59] STEVENSON, Leo, Frankie PHILLIPS, Kathryn O'SULLIVAN a Jenny WALTON. Wheat bran: its composition and benefits to health, a European perspective. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2012, **63**(8), 1001-1013. ISSN 0963-7486. Dostupné z: doi:10.3109/09637486.2012.687366
- [60] TURNER, Nancy a Joanne LUPTON. Dietary Fiber. *Advances in Nutrition*. 2011, **2**(2), 151-152. ISSN 21618313. Dostupné z: doi:10.3945/an.110.000281

- [61] ANDERSON, James, Pat BAIRD, Richard DAVIS JR, Stefanie FERRERI, Mary KNUDTSON, Ashraf KORAYM, Valerie WATERS a Christine WILLIAMS. Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews*. 2009, **67**(4), 188-205. ISSN 00296643. Dostupné z: doi:10.1111/j.1753-4887.2009.00189.x
- [62] HUANG, Wenjing, Fulin TIAN, Han WANG et al. Comparative assessment of extraction, composition, and in vitro antioxidative properties of wheat bran polyphenols. *LWT*. 2023, **180**. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2023.114706
- [63] ALZUWAID, Nabeel, Mike SISSONS, Barbara LADDOMADA a Christopher FELLOWS. Nutritional and functional properties of durum wheat bran protein concentrate. *Cereal Chemistry*. 2020, **97**(2), 304-315. ISSN 0009-0352. Dostupné z: doi:10.1002/cche.10246
- [64] ARTE, Elisa, Xin HUANG, Emilia NORDLUND a Kati KATINA. Biochemical characterization and technofunctional properties of bioprocessed wheat bran protein isolates. *Food Chemistry*. 2019, **289**, 103-111. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2019.03.020
- [65] CHROMÝ, Vratislav, Bára VINKLÁRKOVÁ, Luděk ŠPRONGL a Miroslava BITTOVÁ. The Kjeldahl Method as a Primary Reference Procedure for Total Protein in Certified Reference Materials Used in Clinical Chemistry. I. A Review of Kjeldahl Methods Adopted by Laboratory Medicine. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2015, **45**(2), 106-111. ISSN 1040-8347. Dostupné z: doi:10.1080/10408347.2014.892820
- [66] HÁLKOVÁ, Jana, Marie RUMÍŠKOVÁ a Jana RIEGLOVÁ. *Analýza potravin*. 2. vyd. Újezd u Brna: I. Straka, 2001. ISBN 80-864-9402-0.
- [67] REINER, M. Rheology. *Elasticity and Plasticity / Elastizität und Plastizität*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1958, 434-550. ISBN 978-3-662-42801-6. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-662-43081-1_4
- [68] PASEEPHOL, TATDAO, DARRYL SMALL a FRANK SHERKAT. RHEOLOGY AND TEXTURE OF SET YOGURT AS AFFECTED BY INULIN ADDITION. *Journal of Texture Studies*. 2008, **39**(6), 617-634. ISSN 00224901. Dostupné z: doi:10.1111/j.1745-4603.2008.00161.x
- [69] HOLUBOVÁ, Renata. *Základy reologie a reometrie kapalin*. Univerzita Palackého v Olomouci, 2014.
- [70] SCHERER, George W. Mechanics of syneresis I. Theory. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 1989, **108**(1), 18-27. ISSN 00223093. Dostupné z: doi:10.1016/0022-3093(89)90328-1
- [71] IZADI, Zahra, Ali NASIRPOUR, Ghasemali GAROOSI a Fardin TAMJIDI. Rheological and physical properties of yogurt enriched with phytosterol during storage. *Journal of Food Science and Technology*. 2015, **52**(8), 5341-5346. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-014-1593-2
- [72] VARELTZIS, Patroklos, Konstantinos ADAMOPOULOS, Efstratios STAVRAKAKIS, Athanasios STEFANAKIS a Athanasia GOULA. Approaches to minimise yoghurt syneresis in simulated tzatziki sauce preparation. *International Journal of Dairy*

Technology. 2016, **69**(2), 191-199. ISSN 1364727X. Dostupné z: doi:10.1111/1471-0307.12238

- [73] MAGENIS, Renata, Elane PRUDENCIO, Renata AMBONI, Noel CERQUEIRA JUNIOR, Ricardo OLIVEIRA, Valdir SOLDI a Honorio BENEDET. Compositional and physical properties of yogurts manufactured from milk and whey cheese concentrated by ultrafiltration. *International Journal of Food Science and Technology*. 2006, **41**(5), 560-568. ISSN 0950-5423. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2005.01100.x
- [74] PIGGOTT, John, Stephanie SIMPSON a Simon WILLIAMS. *Sensory analysis*. 1998, **33**(1), 7-12. ISSN 09505423. Dostupné z: doi:10.1046/j.1365-2621.1998.00154.x
- [75] DRAKE, M.A. Invited Review: Sensory Analysis of Dairy Foods. *Journal of Dairy Science*. 2007, **90**(11), 4925-4937. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2007-0332
- [76] POKORNÝ, Jan, Zdeňka PANOVSÁ a Helena VALENTOVÁ. *Sensorická analýza potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1998. ISBN 80-708-0329-0.
- [77] GOGTAY, Nithya a Urmila THATTE. Principles of correlation analysis: Journal of the Association of Physicians of India, 2017, 65.3: . *Journal of the Association of Physicians of India*. 2017, **65**(3), 78-81.
- [78] KURITA, Takio. Principal Component Analysis (PCA). *Computer Vision*. Cham: Springer International Publishing, 2019, 1-4. ISBN 978-3-030-03243-2. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-030-03243-2_649-1
- [79] *Průběžná výzkumná zpráva Q1/2021 TAČR TREND. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Centrum materiálového výzkumu. 2021. Kontaktní osoba Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.*
- [80] VIANNA, Felipe, Anna CANTO, Bruno DA COSTA-LIMA et al. Development of new probiotic yoghurt with a mixture of cow and sheep milk: effects on physicochemical, textural and sensory analysis. *Small Ruminant Research*. 2017, **149**, 154-162. ISSN 09214488. Dostupné z: doi:10.1016/j.smallrumres.2017.02.013
- [81] KAMINARIDES, Stelios, Paraskeri STAMOU a Theophiles MASSOURAS. *Comparison of the characteristics of set type yoghurt made from ovine milk of different fat content*. 2007, **42**(9), 1019-1028. ISSN 0950-5423. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2006.01320.x
- [82] HRSTKA, Miroslav, Lenka SOMROVÁ a Pavel DIVIŠ. *Praktikum z analytické chemie*. Vysoké učení technické v Brně Fakulta chemická, 2019.
- [83] FOX, Patrick, Paul MCSWEENEY a L. PAUL. *Dairy chemistry and biochemistry*. . Blackie Academic & Professional, 1998. ISBN 0-412-72000-0.
- [84] ŠÍPALOVÁ, Markéta. *Změny jakostních parametrů mléka a mléčných výrobků*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2011, 100 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/16610>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav analýzy a chemie potravin. Vedoucí práce Kráčmar, Stanislav.

- [85] GÖRGÜÇ, Ahmet, Esra GENÇDAĞ a Fatih Mehmet YILMAZ. Bioactive peptides derived from plant origin by-products: Biological activities and techno-functional utilizations in food developments – A review. *Food Research International*. 2020, **136**. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2020.109504
- [86] FU, Yu, Jing LIU, Erik T. HANSEN, Wender L.P. BREDIE a René LAMETSCH. Structural characteristics of low bitter and high umami protein hydrolysates prepared from bovine muscle and porcine plasma. *Food Chemistry*. 2018, **257**, 163-171. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2018.02.159
- [87] IMAI, E., K. HATAE a A. SHIMADA. ORAL PERCEPTION OF GRITTINESS: EFFECT OF PARTICLE SIZE AND CONCENTRATION OF THE DISPERSED PARTICLES AND THE DISPERSION MEDIUM. *Journal of Texture Studies*. 1995, **26**(5), 561-576. ISSN 0022-4901. Dostupné z: doi:10.1111/j.1745-4603.1995.tb00804.x
- [88] LIMA, Isabel; GURAYA, Harmeet; CHAMPAGNE, Elaine. The functional effectiveness of reprocessed rice bran as an ingredient in bakery products. *Food/Nahrung*, 2002, 46.2: 112-117.
- [89] PRÜCKLER, Michael, Cindy LORENZ, Akihito ENDO et al. Comparison of homo- and heterofermentative lactic acid bacteria for implementation of fermented wheat bran in bread. *Food Microbiology*. 2015, **49**, 211-219. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/j.fm.2015.02.014
- [90] LU, Hui, Jin WANG, Meigui HUANG et al. Bitterness-masking assessment of luteolin encapsulated in whey protein isolate-coated liposomes. 2023, **14**(7), 3230-3241. ISSN 2042-6496. Dostupné z: doi:10.1039/D2FO03641J
- [91] FREE-MANJARREZ, Samantha, Luis MOJICA, Hugo ESPINOSA-ANDREWS a Norma MORALES-HERNÁNDEZ. Sensory and Biological Potential of Encapsulated Common Bean Protein Hydrolysates Incorporated in a Greek-Style Yogurt Matrix. *Polymers*. 2022, **14**(5). ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym14050854
- [92] ERKAYA, Tuba a Mustafa ŞENGÜL. Farklı Tür Sütlerden Üretilen Yoğurtların Bazı Kalite Özellikleri ve Mineral İçerikleri Üzerine Karşılaştırmalı Bir Araştırma. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2009. ISSN 1300-6045. Dostupné z: doi:10.9775/kvfd.2011.5498
- [93] AKIN, Zeynep a Tulay OZCAN. Functional properties of fermented milk produced with plant proteins. *LWT*. 2017, **86**, 25-30. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2017.07.025
- [94] DELIKANLI, Berrak a Tulay OZCAN. Effects of various whey proteins on the physicochemical and textural properties of set type nonfat yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*. 2014, **67**(4), 495-503. ISSN 1364727X. Dostupné z: doi:582-540X
- [95] GEE, Vivian, Thava VASANTHAN a Feral TEMELLI. Viscosity of model yogurt systems enriched with barley β -glucan as influenced by starter cultures. *International Dairy Journal*. 2007, **17**(9), 1083-1088. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/j.idairyj.2007.01.004

- [96] PATOCKA, George, Radka CERVENKOVA, Suresh NARINE a Paul JELEN. Rheological behaviour of dairy products as affected by soluble whey protein isolate. *International Dairy Journal*. 2006, **16**(5), 399-405. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/j.idairyj.2005.05.010

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

GRAS – Generally Recognized as Safe

GUV – obří unilamelární vesikuly

LUV – velké unilamelární vesikuly

MLV – multilamelární vesikuly

MVV – multilamelární vesikuly

PCA – analýza hlavních komponent

SUV – malé unilamelární vesikuly

8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Obecný dotazník pro senzorickou analýzu jogurtů

9 PŘÍLOHY

Příloha 1: Obecný dotazník pro senzorickou analýzu jogurtů

Senzorická analýza jogurtů

Cílem senzorické analýzy jogurtů je objektivně zhodnotit jejich aromatické, texturní a chuťové vlastnosti.

Pohlaví

Kuřák/Nekuřák

Fermentované mléčné výrobky konzumují:

- Každý den
- Více než 3x týdně
- Méně než 3x týdně

- Homogenita

Vizuální hodnocení celistvosti jogurtu

1	2	3	4	5
Nehomogenní (velké hrudky)		Středně homogenní (malé hrudky)		Homogenní, celistvý

Vzorek							
Hodnocení							

- Tuhost

Síla potřebná k nabrání jogurtu. Ohodnotit také vpichem lžičky do jogurtu a zhodnotit její stabilitu.

1	2	3	4	5
Jednoduše nabratelné, lžička nestojí				Tuhé, obtížně oddělitelné od kelímku, lžička stojí

Vzorek							
Hodnocení							

- Hustota

Vnímání kompaktnosti jogurtu po vložení do úst a stlačení mezi jazyk a patro.

1	2	3	4	5
Průliš řidké (tekuté)				Tuhé, kompaktní

Vzorek							
Hodnocení							

- Krémovitost

Vnímání celistvosti jogurtu při stlačení vzorku mezi jazyk a patro.

1	2	3	4	5
Písčité, hrudkovité				Jemné, krémové, bez hrudek

Vzorek							
Hodnocení							

- Vůně

1	2	3	4	5
Nepříjemná		Nerozpoznatelná		Příjemná

Vzorek							
Hodnocení							

- Sladkost

1	2	3	4	5
Nerozpoznatelná		Středně intenzivní		Velmi intenzivní

Vzorek							
Hodnocení							

- Kyselost

1	2	3	4	5
Nerozpoznatelná		Stredne intenzívna		Velmi intenzivní

Vzorek							
Hodnocení							

- Hořkost

1	2	3	4	5
Nerozpoznatelná		Středně intenzivní		Velmi intenzivní

Vzorek							
Hodnocení							

- Celkový dojem

1	2	3	4	5
Vzorek mi vůbec nechutnal		Vzorek byl přijatelný		Vzorek mi velmi chutnal

Vzorek							
Hodnocení							