



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

LYOFILIZOVANÉ FERMENTOVANÉ MLÉČNÉ VÝROBKY

FREEZE-DRIED FERMENTED DAIRY PRODUCTS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Viktorie Omelková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2024

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1955/2023 Akademický rok: 2023/24
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Viktorie Omelková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a technologie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Lyofilizované fermentované mléčné výrobky

Zadání bakalářské práce:

- Zpracujte literární přehled dané problematiky:
 - jogurt – charakteristika, složení, nutriční význam, technologie výroby
 - lyofilizace – princip, popis, využití pro konzervaci potravin
 - sensorická kvalita, těkavé (aromatické) látky v jogurtu, možnosti jejich stanovení
- Identifikujte a kvantifikujte těkavé látky ve vzorcích čerstvého a lyofilizovaného/rekonstituovaného jogurtu
- Vyhodnoťte vliv lyofilizace na profil těkavých látek a sensorickou kvalitu/přijatelnost jogurtu

Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2024:

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

Viktorie Omelková
studentka

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá výrobou jogurtu, jeho lyofilizací a opětnou rekonstitucí. Porovnáním všech tří forem jogurtu z hlediska senzorické analýzy a profilu těkavých látek.

Teoretická část se zabývá charakterizací fermentovaných mléčných výrobků, procesem jejich výroby, dále procesem lyofilizace, senzorickou analýzou a možnostmi stanovení těkavých látek ve vzorcích fermentovaných mléčných výrobků.

V experimentální části práce byl vyroben a následně lyofilizován modelový vzorek bílého jogurtu. Lyofilizovaný jogurt byl nejprve podroben spotřebitelskému hodnocení, kde byl zkoumán obecný názor eventuálních spotřebitelů na tento typ výrobku. Z výsledků vyplývá, že má velmi dobrý potenciál uplatnit se na trhu jako trvanlivý výrobek.

V další fázi byl lyofilizovaný jogurt opět rekonstituován přidavkem vody, z hlediska textury se jako optimální ukázal být přídavek vody cca 30 % z původně odebraného množství. Rekonstituovaný jogurt byl poté srovnán s jogurtem čerstvě vyrobeným, který byl podle očekávání hodnocen jako lepší, k čemuž mohla přispět především kladně hodnocená příjemnost vůně i chuti. U rekonstituovaných jogurtů byla některými hodnotiteli detekována příliš kyselá, nahořklá chuť nebo pachut' po sušeném mléce.

Na závěr byly všechny tři typy jogurtu (čerstvý vs. lyofilizovaný vs. rekonstituovaný) porovnány z hlediska profilu těkavých látek stanovených pomocí mikroextrakce na pevnou fázi ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí. Celkově bylo ve všech vzorcích identifikováno 51 těkavých látek. Složení vzorků se lišilo především z hlediska obsahu identifikovaných sloučenin, nejvíce zastoupenými sloučeninami byly alkoholy, poté kyseliny a ketony.

KLÍČOVÁ SLOVA

Jogurt, lyofilizace, aromatické látky, senzorická kvalita, SPME, GC-MS

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with the production of yogurt, its lyophilization and reconstitution. By comparing all three forms of yogurt in terms of sensory quality and volatile profile.

The theoretical part deals with a characterization of fermented milk products, their production technology, lyophilization process, sensory quality and possibilities of determination of volatile compounds in yogurt samples.

In the experimental part of the thesis, a model sample of white yogurt was produced and subsequently lyophilized. Freeze-dried yogurt was first subjected to a consumer evaluation, where the general opinion of potential consumers on this type of product was investigated. The results show that it potentially could be applied on the market as a durable product.

In the next phase, the lyophilized yogurt was reconstituted again with the addition of water, from the point of view of a texture, the addition of approximately 30 % of the originally taken amount of water turned out to be optimal. The reconstituted yogurt was then compared with the freshly made yogurt, which was, as expected, rated as better, which could have contributed mainly to the positively rated aroma and the flavour. In reconstituted yogurts, some evaluators detected an overly sour, bitter taste or an aftertaste of dried milk.

Finally, all three types of yogurt (fresh vs. freeze-dried vs. reconstituted) were compared in terms of volatile profile determined using solid phase microextraction combined with gas chromatography with mass detection. In total, 51 volatile substances were identified in all samples. The composition of the samples differed mainly in terms of the content of identified compounds, the most represented compounds were alcohols, followed by acids and ketones.

KEYWORDS

Yogurt, lyophilization, aromatic compounds, sensory quality, SPME, GC-MS.

OMELKOVÁ, Viktorie. *Lyofilizované fermentované mléčné výrobky* [online]. Brno, 2024 [cit. 2024-05-16]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/156696>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

Podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala své vedoucí bakalářské práce paní doc. Ing. Evě Vítové, Ph.D. za odborné vedení, ochotu a trpělivost, jež mi věnovala v průběhu zpracování práce.

OBSAH

1 Úvod	9
2 Literární rešerše	10
2.1 Jogurt.....	10
2.1.1 Mléko a jeho složení	10
2.1.1.1 Tuky	10
2.1.1.2 Bílkoviny	10
2.1.1.3 Mléčný cukr laktosa	10
2.1.1.4 Minerální látky	11
2.1.2 Nutriční hodnota fermentovaných mléčných výrobků.....	11
2.1.3 Bakteriální kultury	11
2.1.4 Výroba fermentovaných mléčných výrobků.....	12
2.1.4.1 Předběžné operace: příjem a skladování mléka	12
2.1.4.2 Úprava mléka před jeho tepelným ošetřením.....	12
2.1.4.3 Tepelné ošetření mléka.....	12
2.1.4.4 Fermentace	13
2.1.4.5 Chlazení a balení produktu.....	13
2.2 Lyofilizace.....	14
2.2.1 Princip lyofilizace	15
2.2.1.1 Zmrazení.....	15
2.2.1.2 Primární sušení	15
2.2.1.3 Sekundární sušení.....	16
2.3 Sušené mléčné výrobky ve formě prášku.....	16
2.3.1 Lyofilizovaný jogurt.....	16
2.3.2 Rehydratace lyofilizovaného jogurtu	17
2.4 Senzorická analýza	17
2.4.1 Senzorické vlastnosti.....	17
2.4.2 Senzorická kvalita mléčných výrobků	18
2.5 Aromatické látky jogurtu	18
2.6 Stanovení těkavých látek v jogurtu	21
2.6.1 Mikroextrakce na pevné fázi.....	21
2.6.2 Plynová chromatografie	22
2.6.2.1 Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií	22

3	Experimentální část	24
3.1	Laboratorní vybavení a chemikálie	24
3.1.1	Přístroje	24
3.1.2	Pracovní pomůcky	24
3.1.3	Plyny	24
3.1.4	Suroviny pro výrobu jogurtové kultury a jogurtů	24
3.2	Analyzované vzorky	24
3.2.1	Postup výroby jogurtové kultury	24
3.2.2	Postup výroby jogurtu	24
3.3	Lyofilizace	24
3.4	Senzorická analýza	25
3.5	Stanovení těkavých látek	26
3.5.1	Podmínky GC-MS analýzy	27
3.6	Doplňkové charakteristiky	27
3.6.1	Stanovení sušiny	27
3.7	Statistické zpracování výsledků	28
4	Výsledky a diskuze	29
4.1	Příprava jogurtové kultury	29
4.2	Optimalizace výroby jogurtu	29
4.3	Lyofilizace jogurtu	29
4.4	Rekonstituce jogurtu	29
4.5	Senzorická analýza	30
4.5.1	Lyofilizovaný jogurt	30
4.5.2	První fáze sensorické analýzy jogurtů	32
4.5.2.1	Vzhled a barva	33
4.5.2.2	Textura	33
4.5.2.3	Vůně	34
4.5.2.4	Chuť	35
4.5.2.5	Pořadová zkouška	36
4.5.3	Druhá fáze sensorické analýzy jogurtů	37
4.5.3.1	Vzhled a barva	37
4.5.3.2	Textura	38
4.5.3.3	Vůně	38

4.5.3.4 Chut'	39
4.5.3.5 Párová porovnávací zkouška	40
4.6 Identifikace a kvantifikace těkavých látek	41
5 Závěr	48
6 Seznam literatury	49
7 Seznam použitých zkratk	55
8 Přílohy	56

1 ÚVOD

Mléko konzumují pochopitelně všichni již od narození a provází nás postupně celým životem, a to v mnoha formách. Mlékárenských produktů je nespočet, a mnohé z nich slouží k dalšímu zpracování. Konkrétně fermentované mléčné výrobky obsahují bakterie mléčného kvašení, jež přeměňují část laktózy na kyselinu mléčnou a nabývají tím na své tradiční typické chuti a vůni. Původně došlo k jejich vzniku přirozeně působením mikroflóry typické pro danou oblast. Dnes již existuje řada lidí, kteří mléko konzumovat ze zdravotních důvodů nemohou či nechťejí a pro ně existují přijatelné alternativy, aby nebyli ochuzeni o bohaté nutriční hodnoty, jež se nachází právě v mléce a mléčných výrobcích. Výrobky zajišťují příjem mléčných bílkovin, ty poté napomáhají např. k udržení rovnováhy střevní mikroflóry, dále slouží k příjmu řady vitaminů a minerálních látek. K nejrozšířenějším mléčným výrobkům pak patří jogurt. Jeho nepřeborné množství druhů také hraje důležitou roli. Dnešní moderní výroba jogurtu se v principech nijak neliší od té původní, základem zůstává fermentace určitými mikroorganismy. Na základě jejich specifických potřeb, především teploty a dalších podmínek se poté využívají konkrétně pro dané druhy výrobků. Konečný produkt musí splňovat řadu kritérií a zároveň vyhovovat požadavkům více či méně náročných zákazníků po celém světě.

Jednou z moderních možností, jak dosáhnout výrazného prodloužení trvanlivosti jogurtu, je lyofilizace. Proces lyofilizace je v této době nejkonzultovanějším procesem pro zpracování potravin na trhu. Šetrnost tohoto procesu spolu s jeho širokým využitím se postupně rozšiřuje po celém světě. Z tohoto důvodu bylo hlavním záměrem této práce pokusit se vyrobit lyofilizovaný jogurt a posoudit jeho sensorickou kvalitu jak v práškové formě, tak po jeho opětovné rekonstrukci.

2 LITERÁRNÍ REŠERŠE

2.1 Jogurt

Legislativní požadavky na jogurt stanovuje vyhláška č. 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje [1]. Jogurtem se rozumí „fermentovaný mléčný výrobek, který se získává fermentací mléka, smetany, podmásli nebo jejich směsí pomocí mikroorganismů *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, u kterého lze zvýšit obsah sušiny pouze přidáním mléčné bílkoviny, sušeného nebo zahuštěného mléka, nebo odebráním syrovátky, tepelně neošetřený po kysacím procesu“ [1].

Samotný důvod fermentace neboli zakysání mléka spočívá v prodloužení jeho trvanlivosti, u mléčných výrobků v tomto procesu dochází k přeměně části mléčného cukru laktosy účinkem daných bakterií mléčného kvašení na kyselinu mléčnou, přičemž vlivem kyselosti nastane vysrážení bílkovin [2]. U samotného jogurtu je významný tzv. symbiotický poměr obou mikroorganismů, jenž činí 1:1, případně 2:1 [2].

2.1.1 Mléko a jeho složení

Složení mléka je obecně dáno 4 % tuku, 3,2 % bílkovin, 4,6 % laktosy a 0,7 % minerálních látek, tyto hodnoty jsou však značně variabilní [1, 3].

2.1.1.1 Tuky

V mléce se tuk nachází ve formě tukových kuliček, jejich spojování znemožňuje negativní náboj membránových bílkovin a jejich hydratační obal v důsledku přirozeného pH mléka [3]. Tato forma mléčného tuku je dána nepolárními triacylglyceroly obklopenými povrchově aktivními látkami, zejména fosfolipidy a membránovými proteiny [3]. V samotných triacylglycerolech se objevuje značné množství různých mastných kyselin, výsledkem různorodých fyzikálních vlastností je široké rozmezí teplot tuhnutí a tání mléčného tuku tvořícího tuhý a tekutý podíl [3]. Konečný obsah energie v jogurtu definuje jak obsah tuku v mléce, tak možné aditivní přísady jako smetana či cukr [4].

2.1.1.2 Bílkoviny

Mléčné bílkoviny jsou významné obsahem esenciálních aminokyselin [1]. Celková koncentrace aminokyselin je podobná u jogurtu i původního mléka s rozdílem vyššího obsahu volných aminokyselin v jogurtu z důvodu proteolytické aktivity bakteriální kultury, jež z části tráví bílkoviny během procesu fermentace [4]. U kravského mléka kasein tvoří 80–90 % z celkového obsahu bílkovin, jeho důležitost spočívá ve srážení mléka [1]. Zbylá procenta zaujímají sérové neboli syrovátkové bílkoviny ve formě výživově cenných albuminů a globulinů [1].

2.1.1.3 Mléčný cukr laktosa

Během procesu fermentace je 20–30 % laktosy hydrolyzováno na jednoduché cukry, glukózu a galaktózu, účinkem bakterií použitých startovacích kultur [4]. V důsledku toho mohou být hladiny laktózy v jogurtu nižší než v mléce, ovšem není tomu tak vždy díky možnému přidavku sušeného odstředěného mléka nebo odtučněné sušiny mléka [4]. Laktosa dosahuje v mlékárenské technologii mnoha významů, zejména je substrátem pro rozvoj bakterií, dále má omezenou rozpustnost, kdy je snaha o řízenou krystalizaci a konečně při rychlém sušení

či zmrazování dojde ke vzniku bezvodé amorfni laktosy, je hygroskopická a přijímá vodu za tvorby alfa-hydrátu. Tato poslední vlastnost má negativní vliv na vlastnosti sušeného mléka a syrovátky, jelikož dochází k tvorbě nežádoucích slepenců [3].

2.1.1.4 Minerální látky

Na obsah minerálních látek má fermentace vliv minimální, jogurt je kvalitním zdrojem řady minerálů zejména vápníku, zinku, fosforu a hořčíku. Jejich koncentrace jsou prezentovány ve vysoké míře spolu s význačnou biologickou dostupností, jež značí dostupný podíl pro absorpci a využití v lidském těle [4]. Z hlediska technologického je důraz kladen na obsah a formu vápníku v mléce. Aktivita vápenatého kationtu ovlivňuje stabilitu kaseinu, tudíž samotnou termostabilitu mléka, jeho sladké srážení i vlastnosti sýřeniny při případné výrobě sýrů [3]. Ostatní makroelementy mléka jako sodík, draslík a chloridy ovlivňují z technologického hlediska koligativní vlastnosti. Tyto vlastnosti jsou definovány molární hmotností neboli aktivitou rozpustných látek v mléce [3].

2.1.2 Nutriční hodnota fermentovaných mléčných výrobků

Mléko a mléčné výrobky, jakožto jogurt jsou vynikajícím zdrojem vysoce kvalitních bílkovin, minerálních látek a vitamínu A, B1, B2, B6, B12 a niacinu [4, 5]. Díky nutričním a zdravotním výhodám se v posledních letech významně zvyšuje zájem spotřebitelů o fermentované mléčné výrobky. Fermentační působení specifických kmenů bakterií mléčného kvašení může vést k odstranění toxických či antinutričních faktorů, jako je laktóza a galaktóza například pro zabránění intoleranci laktózy [5]. Bakterie mléčného kvašení mohou chránit před průjemem vyvolaným antibiotiky, pH jejich kultur podporuje produkci látek, jež vytvářejí nepříznivé prostředí pro množení patogenních bakterií. Fermentované mléčné výrobky mají také významnou antikarcinogenní aktivitu proti více typům rakovinných buněk. Interferenční studie prokázaly u dětí a dospívajících pozitivní vliv fermentovaných mléčných výrobků na zdraví kostí, zejména na obsah kostních minerálů a hustotu kostní hmoty [5].

2.1.3 Bakteriální kultury

Kultury jsou živé mikroorganismy používané ve vhodné formě k očkování v množství nejméně 10^6 buněk na gram. Důvodem je možné zahájení procesu fermentace pro zajištění požadovaných vlastností výsledného produktu [3].

Výběr bakteriální kultury závisí převážně na jejich potenciálu vytvářet metabolity a bioaktivní sloučeniny [6]. V současnosti se jako probiotické kmeny často používají *Lactobacillus acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus* [7]. Tato probiotika se používají jako startovací kultura samostatně, v kombinaci s tradičními startéry nebo se začleňují do mléčných výrobků následně po procesu fermentace, kdy dodávají produktu mnoho funkčních charakteristik, ku příkladu vylepšení aroma, chuti spolu se zlepšenými texturními vlastnostmi kromě již zmíněného přínosu zdraví prospěšných vlastností [8]. Stále se však vyskytují problémy z hlediska stability a funkčnosti probiotik v mléčných výrobcích [8]. Existují jednoznačné důkazy o pozitivním vlivu probiotik na psychickou pohodu, mají údajně mnoho dalších zdravotních benefitů jako protirakovinný účinek, antigenotoxický, antioxidační, protizánětlivý, antihypertenzní, antidiabetický a další [8, 9]. Probiotické bakterie mléčného kvašení produkují řadu prospěšných peptidů během fermentace, jež zahrnuje mnoho zdraví

prospěšných proteinových hydrolyzátů jako vedlejších produktů, bioaktivních peptidů či ribozomálně syntetizovaných bakteriocinů majících potenciální schopnost nutraceutik, respektive biokonzervačních látek [8, 9].

2.1.4 Výroba fermentovaných mléčných výrobků

V afrických a asijských zemích jsou fermentované potraviny konzumovány již odedávna pro své bohaté nutriční hodnoty spolu se známými výhodnými vlastnostmi, jenž tyto produkty přináší [10]. Etnické obyvatelstvo využívalo pro proces fermentace vždy tradičně dostupných zdrojů a metody výroby přecházely z generace na generaci, jako klasická výroba jogurtu. Tyto znalosti výroby jsou nadále přejímány a upravovány potravinářským průmyslem [10].

2.1.4.1 Předběžné operace: příjem a skladování mléka

Mléko je dováženo syrové v cisternách, ale v dnešní době mohou mlékárny, v souladu s místní legislativou nebo individuálními standardy kvality, dostávat mléko termizované/pasterované, pasterovanou smetanu, odpařené mléko či jakékoli jiné mléčné složky, a to v podobě tekuté, koncentrované i sušené [11]. Před vyprázdněním cisteren je prováděna kontrola kvality pro ověření stavu dodávky mléka a jeho souladu s právními a patentovanými normami kvality a bezpečnosti [11]. Mléko je poté vyčerpáno a prochází nerezovými či látkovými filtry, než je případně ochlazen na 4–6 °C a skladováno v izotermických/chlazených tancích. Postupy pro skladování se mohou v jednotlivých mlékárnách odlišovat, některé velké mlékárenské společnosti veškeré mléko odstředí a skladují pouze pasterované odstředěné mléko a smetanu při teplotě 4–6 °C. Odstředěné mléko a smetana se pak znovu smíchají ve správném poměru tak, aby bylo mléko připraveno k dalšímu zpracování. Ostatní mlékárny skladují pouze syrové chlazené mléko, které je podrobeno tepelnému ošetření a standardizaci až v okamžiku přípravy cílové receptury mléka [11]. Chlazené mléko, syrové i pasterované, pokud je uchováváno při teplotě 4–6 °C, by mělo být zpracováno na mléčné výrobky do 48 hodin, maximálně do 72 hodin, od prvního dojení kvůli možnému množení psychrofilních bakterií [11].

2.1.4.2 Úprava mléka před jeho tepelným ošetřením

Mléko lze obecně tepelně zpracovat pouze jednou, díky tomu se úprava mléka provádí před procesem pasterace. Obsah tuku se obvykle normalizuje při 40 °C automatickým separátorem odstředivky, poté homogenizován pro zvýšení stability emulze tuk ve vodě. Případné další živiny, jako jsou bílkoviny, vitamíny a minerály, se obecně rozpustí v malém alikvotním podílu syrového mléka a poté se před pasterizací smíchají se zbytkem [11].

2.1.4.3 Tepelné ošetření mléka

Jakmile je mléko homogenizováno, je dále tepelně ošetřeno, aby se zničily nežádoucí mikroorganismy a upravily se fyzikálně-chemické vlastnosti mléčných bílkovin. Nejčastěji se využívá ohřev 85 °C po dobu 30 minut nebo 95 °C po dobu 5 minut. Tímto krokem je určováno mnoho výsledných vlastností jogurtu [12]. Klíčovým požadavkem je poměrně vysoká tepelná úprava za účelem denaturace syrovátkových proteinů mléka, jelikož tyto proteiny se poté srážejí s kaseiny při snížení pH působením přidávaných kultur. Pro optimální vlastnosti jogurtu by mělo být alespoň 90 % syrovátkových proteinů denaturováno. I přes vysoké teploty při procesu je nezbytné, aby během zahřívání nedocházelo ke srážení nebo nadměrnému zahušťování jogurtového mléka [12].

2.1.4.4 Fermentace

Během mikrobiální fermentace se utváří ojedinělé sensorické vlastnosti produktu, chuť, vůně a textura, přičemž vůně je jedním z nejdůležitějších faktorů, jež určují konečnou přijatelnost a preferenci jogurtů [13]. S tímto faktem souvisí výběr směsi homofermentativních bakterií mléčného kvašení, jako jsou *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus bulgaricus* pro startovací kultury, jež se přidávají po procesu tepelného ošetření mléka a jeho následného ochlazení na teplotu samotné fermentace [13, 14]. Bylo provedeno velké množství studií o možných faktorech, jež ovlivňují výslednou chuť jogurtu, avšak klíčovou roli hrají startovací kultury, a to při vytváření aromatických sloučenin, kterým je připisován výsledný rozdíl v chuti produktu. Obecně jsou za tvorbu těkavých organických látek zodpovědny termofilní laktobacily a mezofilní laktokoky [13]. Díky zavedení mikroorganismů do procesu lze kromě žádoucí vůně a příchuti také získat navýšení nutričních hodnot, doby trvanlivosti a produkcí antimikrobiálních sloučenin, jako je kyselina mléčná, může navíc fermentace pomoci při konzervaci čili může pomoci zabránit zkažení [15].

Z hlediska chemického procesu je mléčná fermentace procesem přeměny mléčného cukru laktosy na kyselinu mléčnou pomocí bakterií mléčného kvašení, což vede ke snížení pH [16]. Proces acidifikace je klíčovým mechanismem odpovědným za koagulaci při fermentaci jogurtu, jeho hustá struktura vzniká díky kaseinovým proteinům tvořícím gelovou matici [16]. Kaseiny, druh fosfoproteinů přítomných v mléce, se nacházejí ve formě suspendovaných částic – kaseinových micel – udržovaných pohromadě koloidním fosforečnanem vápenatým, jenž k sobě váže četné submicely. Snížení pH mléka zde vede k rozpuštění koloidního fosforečnanu vápenatého a tím k uvolnění obsahu kaseinu z micely. Během tohoto procesu je možno pozorovat tři fáze v závislosti na pH [16]. Na začátku okyselování, kdy se hodnota pH sníží z 6,7 na 6,0 se malé množství koloidního fosforečnanu vápenatého rozpustí, strukturální změny micel jsou omezené. V druhé fázi, kdy dochází ke snížení hodnoty pH na 5,0 je koloidní fosforečnan vápenatý zcela rozpuštěn. Nakonec, kdy hodnota pH klesá k izoelektrickému bodu kaseinu, jenž nastává okolo hodnoty pH 4,6, kaseinové micely agregují a vytváří gelové matrice. O konci procesu se rozhoduje právě když pH dosáhne hodnoty 4,6, jakmile je všechen kasein v solubilizované formě a je tvořena celková gelová matrice jogurtu. Při celém procesu probíhá důsledná kontrola pH [16].

2.1.4.5 Chlazení a balení produktu

Po fermentaci je jogurt ochlazen na 29 °C, promíchán a přečerpán do plnicího stroje. Poté je ochlazen na 4 °C chlazeným vzduchem a balí se do nádob nebo obalových materiálů [17]. Proces chlazení může probíhat buď v inkubační nádobě (v nádrži) nebo vrtulovém trubkovém či deskovém výměníku tepla během 20–30 minut, přičemž vrtulové chlazení je rychlejší a efektivnější. Jogurt je skladován při 4 °C po dobu 1–2 týdnů. Chlazení snižuje metabolickou aktivitu startovací kultury, tím je kontrolována kyselost jogurtu. Čerstvě připravený jogurt obsahuje přibližně 109 mikroorganismů na gram [17].

Jogurt lze dělit na základě postupu v balení produktu. Prvním typem jogurtu je „set type“ jogurt, jenž se balí ihned po naočkování startovací kulturou a je inkubován v obalech. Druhý typ je „stirred type“ jogurt, je vyráběn naočkováním startovací kultury a inkubací v tanku. Gelová struktura tohoto typu jogurtu je rozrušena před ochlazením a balením [17].

V současné době se využívá vylepšeného balení potravin (tzv. aktivní obaly), toto balení zahrnuje integraci nanomateriálů do polymerů za účelem vylepšení balení a ochrany potravin. Zahrnuje vylepšené balení pro identifikaci biochemických změn v potravinách, zajištění bezpečnosti potravin a prevenci jejich falšování [18].

Mlékárenský průmysl využívá nanofiltrů zajišťujících eliminaci virů a bakterií z mléka pro zvýšení bezpečnosti a zlepšení skladovatelnosti. To je dále umocněno použitím zeolitových produktů s náhradou stříbra používaných v nádobách a papírových obalech. Nejdůležitějšími nanomateriály používanými při balení potravin jsou silikát potažený oxidem zinečnatým, montmorillonit, kaolinit a oxid titaničitý. V nich filmy potažené nanomateriály působí jako bariéra proti O_2 a CO_2 [18].

2.2 Lyofilizace

Lyofilizace je unikátním procesem užívaným k odstranění rozpouštědla z produktu, většinou vody, bez narušení fyzikální a chemické struktury produktu [19]. Jedná se o nízkoteplotní dehydratační proces, kdy se odstranění obsahu vody z potravin provádí za pomoci sublimace [20]. Led sublimuje na vodní páru a pára kondenzuje jako led na studeném povrchu. Takové podmínky mohou být vytvořeny snížením teploty či použitím vakuového zařízení pro snížení tlaku sušicí komory pro řízení teploty ledu [21]. Je považována za jeden z nejběžnějších způsobů sušení pro její široké uplatnění [20]. Proces lyofilizace se provádí v lyofilizátoru, Obrázek 1, je vhodný pro konzervaci biologických materiálů citlivých na teplo, komplexních technologických výrobků, potravinářských výrobků, ovoce i zeleniny, květin, kosmetiky, enzymů, keramických prášků a mikroorganismů [20]. Význam procesu spočívá v menším poškození látky než při klasických způsobech dehydratace za vyšších teplot. Velmi nízká teplota totiž nezpůsobuje smrštění nebo ztuhnutí sušeného materiálu. Chutě a vůně zůstávají nezměněny, díky čemuž je proces příznivý pro konzervaci potravin [22].

Lyofilizace měla vždy, navzdory vysoké účinnosti procesu značnou nevýhodu, tou i nadále zůstává její velmi nákladný proces ve srovnání s jinými metodami používanými k dehydrataci produktů, z tohoto důvodu se používá pouze v procesech, v nichž je tepelná stabilita produktů jedinou možnou volbou, nebo kdy vysoká přidaná hodnota produktu odůvodňuje výdaje [23]. Byla provedena řada výzkumů s pokusy o snížení provozních nákladů a spotřeby energie u způsobu lyofilizace, s výsledkem vytvoření hybridu lyofilizace a jiných metod sušení z důvodu snížení spotřeby energie procesu, proces by byl nákladově efektivnější. Příkladem této kombinace je systém mikrovlnné vymrazovací sušičky. Zde je použito mikrovlnné trouby a tento postup by mohl vést k výraznému zvýšení rychlosti lyofilizace a snížení potřebného energetického vstupu. V posledních letech je testován pro vyhodnocení výkonu systému a jeho vliv na kvalitu sušených potravin [20].



Obrázek 1: Lyofilizátor; převzato z [24]

2.2.1 Princip lyofilizace

Proces lyofilizace zahrnuje tři hlavní kroky včetně zmrazení, primárního sušení a sekundárního sušení [19]. Proces probíhá z velké části při teplotách nižších než $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a tlacích nižších, než je tlak nasycených vodních par při odpovídající teplotě. Během prvního kroku je materiál zmrazen, ve druhém a ve třetím kroku je daný materiál sušen přímou sublimací ledu za sníženého tlaku, následovaný desorpčním procesem pro odstranění nezmrazeného rozpouštědla [19].

2.2.1.1 Zmrazení

Zmrazení je prvním krokem v daném procesu, během tohoto kroku je důležité ochladit materiál pod jeho trojný bod, tj. nejnižší teplotu, při které může koexistovat pevná a kapalná fáze materiálu pro zajištění sublimace namísto roztavení v následujících krocích. Teploty pod bodem mrazu se obvykle pohybují mezi -80 a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Fáze zmrazování je nejkritičtější v celém procesu lyofilizace z důvodu možného nevyužití výrobku při jejím nesprávném provedení [25]. Důležitým faktorem je u zmrazení také stupnice mrznutí, a to jak pro tvorbu ledových krystalků, tak pro jejich velikost. Při pomalé rychlosti mrznutí se tvoří větší ledové krystaly a naopak. V souladu s tím velikost krystalů ovlivňuje rychlost sušení, přičemž velké ledové krystalky se snadněji sublimují, a proto také zvyšují rychlost primárního sušení [26].

2.2.1.2 Primární sušení

Při této fázi se tlak v komoře, kde se produkt zpracovává, sníží na hodnotu, která způsobí sublimaci ledu. Vodní pára opouští produkt a je tvořeno pohyblivé rozhraní oddělující vysušený produkt a zmrazené jádro. Množství zmrzlé kapaliny postupně klesá, rozhraní se pohybuje z vnější části produktu do vnitřní a pára protéká vysušenou vrstvou produktu. Struktura vysušené vrstvy značně ovlivňuje rychlost odstraňování páry a je přímo úměrná velikosti ledových krystalů, jelikož prázdný prostor dostupný pro páru odpovídá tomu, který dříve zabíral led [27]. V této počáteční fázi sušení je sublimováno asi 95 % vody v materiálu a samotný

proces může být dosti zdlouhavý, kdyby bylo totiž přidáno příliš mnoho tepla, mohla by nastat změna v dané struktuře materiálu [25].

2.2.1.3 Sekundární sušení

Po procesu odstranění ledu v primární fázi sušení nastává fáze sekundární [27]. Cílem této fáze je odstranění nezmrzlé a vázané vody, jež je vázána na molekuly produktu, a která se ve fázi zmrazování nepřeměnila do pevného stavu. Tohoto úkolu je obecně dosaženo zvýšením teploty produktu, čímž se podpoří desorpce rozpouštědla z něj [27]. Teplota může být zvýšena i nad teplotu 0 °C pro přerušování fyzikálně-chemických interakcí, jež byly vytvořeny mezi molekulami vody a zmrzlým materiálem. Obvykle je v této fázi také snížen tlak pro podporu desorpce [25]. Je však náročné identifikovat koncový bod primárního sušení či začátek sekundární fáze sušení. Pokud se teplota zvýší dříve než nastane sublimace veškerého ledu, což je koncový bod primární fáze sušení, mohlo by dojít ke zhroucení produktu a ovlivnit tak výslednou kvalitu. Byly navrženy různé techniky k určení koncového bodu primárního sušení, jako je Piraniho tlakoměr, monitor rosného bodu apod. [26].

2.3 Sušené mléčné výrobky ve formě prášku

Sušené mléčné výrobky jsou klasifikovány jako potraviny se sníženým obsahem vody, čímž se mění na produkt skladovatelný při pokojové teplotě po dlouhou dobu bez výrazné ztráty kvality. Tyto produkty mají celosvětově konsolidovaný trh díky jejich přijatelnosti spotřebiteli a také představují výrobky s vysokou přidanou hodnotou pro mlékárenský průmysl. Některé sušené mléčné potraviny výrazně vynikají v konzumaci zákazníky, včetně sušeného mléka, práškového sýra a práškového jogurtu. Tyto konkrétní produkty se připravují ve větších měřítcích procesy sušení rozprašováním a lyofilizací. Proces sušení rozprašováním má některé výhodné parametry jako je vysoká produkce prášku generovaného průmyslovým závodem, účinná kontrola kvality a použití atmosférického tlaku, avšak mezi globálními spotřebiteli začínají být lyofilizované produkty velmi oblíbené a tento trh také již v určitých zemích rychle expanduje. Lyofilizace totiž zajišťuje snadné skladování, manipulaci a vysokou nutriční i senzoryckou hodnotu produktů, což jsou faktory požadované spotřebiteli [28]. Výrobek je však vysoce hygroskopický, materiál použitý pro balení jogurtového prášku by měl mít nízkou rychlost prostupu vodní páry, tudíž oxidační a další související degradační reakce ve výrobku by měly být minimalizovány, ne-li zcela eliminovány [29].

2.3.1 Lyofilizovaný jogurt

Lyofilizace je jednou z nejrozšířenějších technik výroby jogurtového prášku, jež je nyní nejnovější formou jogurtu [30, 31]. Jogurtový prášek vyrobený lyofilizací vyniká lepší chutí a vyšším počtem životaschopných bakterií, než ty získané jinými běžně používanými metodami sušení [31]. Poškození biologických systémů během lyofilizace může být způsobeno změnami ve fyzikálním stavu lipidové membrány a ve struktuře proteinů [32]. Proces lyofilizace dokáže zachovat nutriční hodnoty, strukturu, texturu, barvu, vůni a chuť jogurtu co nejbližší čerstvému produktu. Výsledný produkt má nízké poškození a jeho struktura je velmi porézní. V důsledku toho lze jogurt poměrně rychle získat zpět rehydratací [33]. Díky jeho vlastnostem nachází využití jako složka jiných potravin, ku příkladu pro pekařské a cukrářské výrobky, ovocné a zeleninové výrobky nebo nápoje, pro vylepšení chuti a výživy [30].

Byla pozorována odolnost jogurtových kultur vůči procesu lyofilizace, *S. thermophilus* byl prokázán odolnějším, také bylo v předchozích studiích uvedena vyšší citlivost *L. bulgaricus* na sušení mrazem [34]. Životaschopnost startovacích kultur je dále ovlivněna podmínkami skladování, vyšší míra přežití byla zaznamenána při nižších teplotách skladování [29, 35]. Také pro obnovu lyofilizovaných buněk se jeví jako velmi důležité následné podmínky skladování, včetně teploty, atmosféry, vystavení světlu a relativní vlhkosti [35].

2.3.2 Rehydratace lyofilizovaného jogurtu

Pro spotřebu sušeného jogurtu po jeho rekonstituci je nutno zajistit srovnatelné reologické chování s jogurtem čerstvým. Reologické a strukturní vlastnosti jogurtu do značné míry souvisejí se senzorickými kritérii kvality, jež přímo ovlivňují následné přijetí spotřebiteli. Zde však nastává problém, kdy reologické vlastnosti rekonstituovaného jogurtového prášku na stejný obsah sušiny jako čerstvého jogurtu bývají v porovnání s čerstvým jogurtem nedostačující. Čerstvý jogurt obsahuje trojrozměrnou proteinovou síť přirozeně díky procesu fermentace, ovšem proces sušení tuto gelovou strukturu narušuje [36].

V procesu rehydratace byla zkoumána redukce vody jako způsob kompenzace nižší mechanické pevnosti, dané vzorky obsahovaly 100 %, 70 % a 60 % původního obsahu vody. Výsledky ukázaly nejlépe hodnocené reologické vlastnosti u produktu rehydratovaného 70 % původního obsahu vody. Nicméně konečný obsah vody v produktu závisí na následném přijetí spotřebitelem [32].

2.4 Senzorická analýza

Během zpracování potravin senzorické vlastnosti produktu podléhají změnám, jež jsou definovány dle způsobu a podmínek technologického zpracování. Obecně se jedná o změny typu fyziologického, enzymového, chemického i mikrobiologického [37]. Změny vlastností produktu mohou být pozitivní, jichž je snaha dosáhnout během zpracování, tyto změny jsou charakteristickými očekávanými vlastnostmi produktu. Také však mohou nastat změny negativní jako vznik netypické chuti, vůně, zbarvení či snížení nutriční hodnoty [38]. Technologické zpracování tyto změny může způsobovat, urychlovat nebo naopak tlumit [37].

Mezi metody hodnocení jakosti potravin spadá právě senzorická analýza, patří mezi nejstarší z nich. Při této analýze je využíváno lidských smyslů přímých subjektivních orgánů za objektivních, spolehlivých a opakovatelných podmínek. Posuzovatelé provádějící hodnocení potravin by měly být školené osoby splňující podmínky zaručující jejich dostatečnou způsobilost. Tyto požadavky spolu s požadavky na provedení samotných senzorických zkoušek jsou zaznamenány v mezinárodních normách. Pro vlastní senzorické hodnocení je využíván zrak, čich a hmat hodnotitelů, dále jejich vnímání chuti, barev i hodnocení přítomnosti aromatických látek [39].

2.4.1 Senzorické vlastnosti

Texturu neboli konzistenci potravin tvoří obsah vody, tuku, složení polysacharidů a obsah bílkovin. Při výrazných změnách těchto faktorů nastávají také změny celkové textury, ať už pouhou změnou obsahu vody či tuků, tak i důsledkem destrukce polysacharidů, koagulací nebo hydrolyzou proteinů [38].

Chuť a vůně závisí na obsahu a koncentraci látek s příslušnými vlastnostmi. Snížením obsahu sensoricky aktivních látek důsledkem jejich rozkladu či úniku z potravin se projevuje vliv technologického zpracování na chuť a vůni výrobku. Tento vliv je zdrojem typické vůně a chuti jogurtu [39].

Barva je také faktorem silně ovlivněným technologickým zpracováním výrobku, a to zejména degradací přirozených barviv v produktu, vznik barevných látek také umožňuje samotné zpracování. Barvu lze ovlivnit přidávkem aditivních barviv, ať už přírodních či syntetických [39].

2.4.2 Sensorická kvalita mléčných výrobků

V potravinářském průmyslu je využíváno sensorických metod hodnocení, jež jsou aplikovatelné pro hodnocení mléčných výrobků. Mezi tyto metody patří afektivní testování, diskriminační testování a deskriptivní analýza. Při afektivním testování je cílem určit míru spotřebitelské preference nebo přijetí produktu. Diskriminační testování je využíváno k určení vnímaného rozdílu mezi dvěma produkty, metodika zahrnuje různé testy. V deskriptivní analýze je vyvinut celkový sensorický popis produktu identifikací i kvantifikací dané příchutě, jeho aroma a kvality textury detekovatelné v produktu. Vyvinuté testovací metody pro deskriptivní analýzu jsou široce využívány, ačkoli k interpretaci dat vyžadují statistické a matematické modely. Metodiky pro provádění sensorického hodnocení mléčných výrobků souvisí s deskriptivní analýzou, řídí se praktickým přístupem a běžně se jich využívá v mlékárenském průmyslu pro sensorické hodnocení produktů na základě jejich atributů souvisejících s chutí, texturou, barvou a vzhledem [40].

2.5 Aromatické látky jogurtu

Jedinečné složení mléka je dáno druhem savce, z něhož pochází, ať už jde o hlavní či vedlejší složky mléka. Všeobecně nejvíce přijímán je jogurt z kravského mléka, také je nejvíce prozkoumáván a používán v mlékárenském průmyslu [41]. Právě jogurt hraje významnou roli v lidské stravě pro svou jedinečnou chuť, vysokou nutriční hodnotu a své funkční vlastnosti [42]. Samotná chuť a textura jogurtu je důležitým faktorem ovlivňujícím hodnocení kvality a spotřebitelské přijetí, zásadně ovlivněna je daným syrovým mlékem, startovacími kulturami i výrobním procesem [42, 43]. Startovací kultury obsahují velké množství bakterií, z nichž každá je schopna metabolizovat různé substráty za vzniku různých chuťových sloučenin. Četné těkavé aromatické sloučeniny pocházejí z degradace proteinů, laktosy a aminokyselin, jejich množství je výrazně větší ve smíšených startovacích kulturách než v monokulturách [42].

V jogurtu bylo dosud identifikováno více než 90 různých těkavých sloučenin, včetně alkoholů, aldehydů, ketonů, kyselin, esterů, laktonů, sloučenin obsahujících síru, pyrazinů a derivátů furanu, látky byly seskupeny do tříd v závislosti na jejich chemické struktuře a jsou uvedeny v Tabulka 1. Ne všechny obsažené těkavé složky jogurtu však mají velký sensorický význam, liší se zásadně svou koncentrací. Vnímání lidskými smysly nastává, pokud koncentrace složky překročí prahové hodnoty aroma, jež se mohou lišit o několik řádů. Běžně uváděnými hlavními sloučeninami zodpovědnými za dodání žádoucí chuti jogurtu jsou kyselina mléčná, acetaldehyd, diacetyl, acetoin a 2-butanon [44]. Diacetyl dodává produktu

sladkou, máslovou, smetanovou a mléčnou chuť, běžně se používá ke zvýraznění máslových chutí. Acetoin snižuje stimulující aroma vysoce koncentrovaného diacetylu a dodává výrobku jemnou smetanovou chuť. Již zmíněné sloučeniny se často používají ke zlepšení chuti jogurtu prostřednictvím fermentace za účasti kultur či přímým přidáním jako zvýrazňovače chuti. Řada studií prokázala, že vhodné koncentrace aromatických sloučenin mohou dodávat potravině žádoucí příchut', zatímco nadměrné množství může vést k příchutím nežádoucím a snížení přijatelnosti ze strany spotřebitelů [45].

Značné množství těkavých sloučenin lze zkoumat, izolovat a identifikovat pomocí mikroextrakce na pevné fázi a plynové chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií. Dané úspěšně použité metody pro profilování chuti fermentovaných výrobků by na pokročilejší úrovni měly možnost usnadnit vývoj rychlých metodologií pro kontrolu kvality a pravosti mléčných výrobků na základě profilu aroma-metabolitů startovacích kultur v konečném produktu [46].

Tabulka 1: Těkavé látky identifikovatelné v jogurtu, převzato z [44]

Aldehydy	Ketony	Alkoholy
Acetaldehyd	Diacetyl	1-Butanol
Propanal	Aceton	2,3-Butandiol
Butanal	Acetoin	Methanol
3-Methylbutanal	2-Propanon	1-Propanol
Hexanal	2-Butanon	2-Propanol
Octanal	2-Pentanon	Ethanol
Furfural	2,3-Pentandion	2-Heptanol
Benzaldehyd	2-Hexanon	2-Butanol
Methional	2-Undekanon	2-Furanmethanol
Pentanal	1-Nonen-3-on	1-Penten-3-ol
2-Methylbutanal	3-Penten-2-on	1-Pentanol
Heptanal	2-Heptanon	3-Methyl-2-butenol
Nonanal	3-Oktanon	3-Methylbutanol
(E)-2-Nonenal	Nonanon	1-Octen-3-ol
Dekanal	2-Dodekanon	Guajakol
Undekanal	3-Hexanon	
Fenylacetaldehyd	1-Octen-3-on	
Kyseliny	Uhlovodíky	Estery
Octová kyselina	Benzen	Ethyl acetát
Propionová kyselina	Toluen	Methyl acetát
Oktanová kyselina	Ethylbenzen	Butyl acetát
Pentanová kyselina	1,3-Dimethylbenzen	δ-Dodekalakton
Hexanová kyselina	1,4-Dimethylbenzen	γ-Dodekalakton
Heptanová kyselina	Trimethylbenzen	Ethyl hexanoát
Dekanová kyselina	Dichlormethan	Ethyl butanoát

Tabulka 1 pokračování: Těkavé látky identifikovatelné v jogurtu, převzato z [44]

Aldehydy	Ketony	Alkoholy
Máselná kyselina	Limonen	Ethyl oktanoát
3-Methylbutanová kyselina	Ethylbenzen	
Nonanová kyselina		
Mravenčí kyselina		
Isovalerová kyselina		
Isomáselná kyselina		
Heterocyklické sloučeniny	Furany	Sloučeniny síry
2-Methylthiofen	Furan	Dimethylsulfid
Pyrazin	2-Methylfuran	Dimethyldisulfid
Methylpyrazin	2-Pentylfuran	Dimethyltrisulfid
H-Pyrrol		

Stanoveny byly aromatické metabolické profily typických symbiotických startovacích kultur jogurtu *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. Během chromatografické analýzy bylo ve startovacích kulturách identifikováno 47 aromatických složek. Tyto metabolity byly seskupeny do tříd v závislosti na jejich chemické struktuře a jsou uvedeny v Tabulka 2 [46].

Tabulka 2: Aromatické látky stanovené u kultur *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, převzato z [46]

Aromatické látky	Estery	Alkoholy
3,7,7-trimethylbicyklo[4.1.0]hept-3-en	Ethylester propanové kyseliny	2-Furanmethanol
Undekan	5-Methyl -2-furanon	Ethanol
Tridekan	2-Ethylhexylester benzoové kyseliny	2-Oktyloxyethanol
2,2,4,6,6-pentamethyl-3-hepten	Methylester-4-ethylbenzoové kyseliny	3-Methyl-2-butanol
2 – Methylundekan	2',4'-dimethylacetofenon	2-Undekanol
3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)-oktadekan	Tridek-2-inylester 3-methyl-2-butenové kyseliny	
2,4,4-Trimethyl-2-penten		
Tetradekan		
2,4,6-Trimethyldekan		
Nonadekan		
Pentadekan		
Hexadekan		

Tabulka 2 pokračování: Aromatické látky stanovené u kultur *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, převzato z [46]

Aldehydy	Ketony	Kyseliny
Acetaldehyd	2-Pentanon	Mravenčí kyselina
Furaldehyd	Acetoin	Máselná kyselina
3-Hydroxybutanal	2,3-Butandion	Octová kyselina
Benzaldehyd	2-Acetyl-furan	Hexanová kyselina
Benzacetaldehyd	2-Nonanon	Pentanová kyselina
Ethylbenzaldehyd	2-Heptanon	Benzoová kyselina
2-Octenal	3-Methyl-2-butanon	Oktanová kyselina
Dekanal	2-Undekanon	1,2-Benzendikarboxylová kyselina

2.6 Stanovení těkavých látek v jogurtu

Analýza potravin je velmi důležitým procesem v potravinářském průmyslu, byly tedy vyvinuty metody využívající mnohé vysoce účinné přístroje, jako je plynová chromatografie, vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) či jejich kombinace s hmotnostní spektrometrií. Většina analytických přístrojů však neumí přímo zpracovávat matrice vzorků, metody tedy zahrnují procesy jako je odběr vzorků, jejich přípravu, separaci, detekci i analýzu dat [47]. Snahou je minimalizace počtu kroků při přípravě vzorku bez snížení kvality samotné analýzy. Technikou zkracující dobu analýzy díky kratší přípravě vzorku je mikroextrakce na pevné fázi [48].

2.6.1 Mikroextrakce na pevné fázi

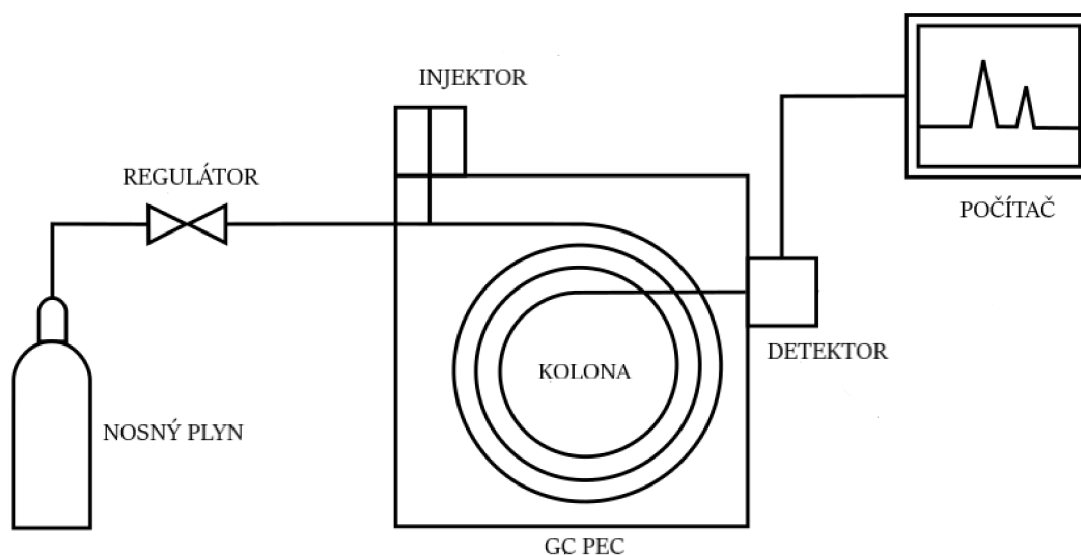
Mikroextrakce na pevné fázi (SPME) je hojně využívanou technikou pro vzorkování širokého spektra analytů z plynných, kapalných i pevných médií s různým složením matrice. Výhodou metody je její jednoduchost, krátká doba extrakce, možnost plné automatizace a snadné spojení s plynovou chromatografií, což snižuje kontaminaci původního vzorku a částečnou ztrátu analytů. Lze také získat spolehlivé výsledky pro analyty, jež jsou přítomny pouze ve stopových množstvích. Ovšem bez spojení s jinými metodami je její selektivita poměrně na nízké úrovni, mechanická odolnost vlákna je též nízká a výběr komerčně dostupných vláken je dosti omezený. Také účinnost samotné techniky je relativně nízká, zejména v případě polárních analytů v médiu obsahujícím převážně složky polární matrice či u analytů extrahovaných z kontaminovaných nebo komplexních vzorků [49].

Principem SPME je expozice malého množství extrakční fáze (sorbet zakotvený na povrchu křemenného vlákna) nadbytkem vzorku. Typ použitého vlákna závisí na povaze analytu. Nejběžnějším postupem pro desorpci analytů z vlákna je tepelná v injektoru plynového chromatografu, tato metoda desorpce zcela eliminuje použití organických rozpouštědel. Analyty nasorbované na vláknech mohou být také desorbovány použitím polárního organického rozpouštědla, jako je methanol či acetonitril, čehož je využíváno u kombinace s kapalinovou chromatografií (LC) [48].

2.6.2 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (GC) je separační a detekční metodou užívanou pro směsi vzorků, jejichž složky lze odpařit bez tepelného rozkladu. Slouží k separaci směsi plyných chemických sloučenin na základě rozdílů v relativních afinitách sloučenin k pevné (GSC) nebo kapalné (GLC) stacionární fázi v koloně. Plynová chromatografie je dnes jednou z nejrozšířenějších metod instrumentální analýzy, nedávný vývoj v GC vedl k zavedení lepších a selektivnějších kapilárních kolon z taveného oxidu křemičitého a metod pro přípravu vzorků [50]. Schéma plynového chromatografu je na Obrázek 2.

Směs v kapalné formě je vstříkována stříkačkou, s ostrým hrotem pro propíchnutí septa, do přístroje. Poté je kapalina okamžitě odpařena za pomoci zahřátí vstříkovacího otvoru a v plynné fázi nanese heliem kolonou, kde probíhá separace. Kolona spolu s detektorem jsou též zahřívány pro udržení plynné fáze, a to umístěním do pece. Oddělené složky směsi se poté eluují z opačného konce kolony, jedna po druhé procházejí sensorovým polem neboli detektorem, přičemž generují píky na obrazovce počítače. Detektory generují elektrický signál při eluci jiného plynu z kolony než plynu nosného [51].



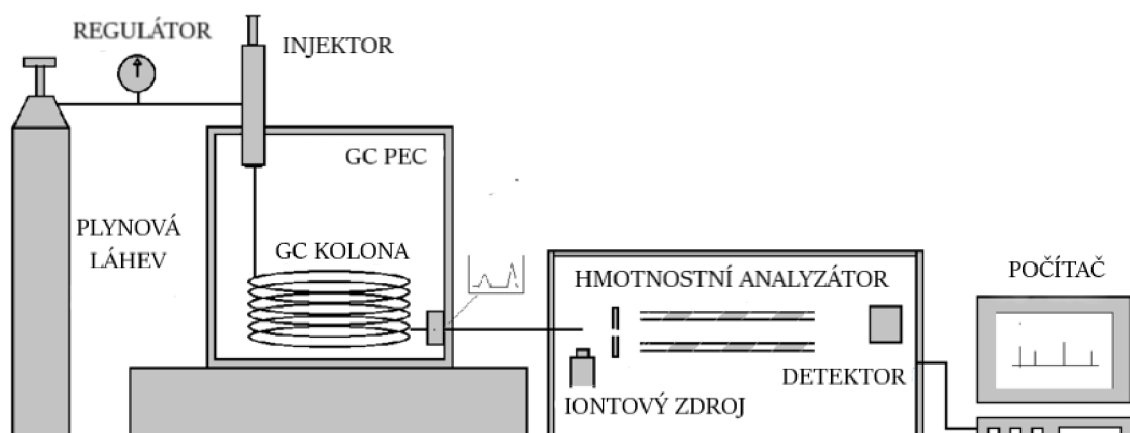
Obrázek 2: Schéma plynového chromatografu; převzato a upraveno z [52]

2.6.2.1 Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií

GC-MS je technikou kombinující GC oddělující složky směsi spolu s hmotnostní spektrometrií (MS) identifikující jednotlivé složky dané směsi. GC je založena výhradně na retenčním čase sloučenin, kdy látky s větší afinitou zůstávají na koloně déle, pomocí MS je poté každý analyt rozbit na ionizované fragmenty detekovatelné díky jejich poměru hmotnosti k náboji (m/z) [53]. Obecně se hmotnostní spektrometr skládá z iontového zdroje, hmotnostně selektivního analyzátoru a detektoru iontů, jelikož hmotnostní analyzátor, detektor i mnoho iontových zdrojů vyžadují pro svůj provoz vakuum, bývá proto součástí také čerpací systém. Schéma GC-MS je uvedeno na Obrázek 3.

Spojení metod GC a MS se využívá pro zvýšení citlivosti, dynamického rozsahu a selektivity analytické metody [54]. Běžné limity detekce pro většinu sloučenin jsou méně než 10^{-12} g

analytu [55]. Výhodou této metody je její výkonná detekce a specifická, ovšem hlavním omezením je časová náročnost, nákladnost a nutnost relativně specializovaného laboratorního nastavení [53, 56]. Metoda je široce využívána k analýze potravin [54].



Obrázek 3: Schéma plynového chromatografu s hmotnostním detektorem; převzato a upraveno z [57]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Laboratorní vybavení a chemikálie

3.1.1 Přístroje

Plynový chromatograf Trace™ 1310 se split/splitless injektorem, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA, hmotnostní detektor ISQ™ LT Single Quadrupole, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA, knihovna spekter NIST/EPA/NIH, Verze 2.0, Gaithersburg, Maryland, USA, lyofilizátor, Lyotrade Freeze Dryers s.r.o., ČR, lyofilizátor, Labconco Corporation, Kansas City, MO, USA, počítač PC, Intel Pentium procesor, pH metr HI 981032, analytické digitální váhy HELAGO, GR-202-EC, Itálie, předvážky EK-600i, A&D Instruments LTD., Japonsko, skříňová sušárna ULM 400, Memmert GmbH & Co. KG, Německo.

3.1.2 Pracovní pomůcky

SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 µm, Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA, mikrostřikačka Hamilton 100 µl, běžné laboratorní sklo, kuchyňské pomůcky a nádobí pro výrobu vzorků.

3.1.3 Plyny

Helium, čistota 4.8., v tlakové lahvi s redukčním ventilem, SIAD, Česká republika.

3.1.4 Suroviny pro výrobu jogurtové kultury a jogurtů

Čerstvé mléko polotučné 1,5 %, jogurtová kultura sušená, MILCOM a.s., Česká republika, sušené odtučněné mléko, NUTRIHOUSE.

3.2 Analyzované vzorky

V experimentální části bakalářské práce byly analyzovány vzorky čerstvých, lyofilizovaných a následně rekonstituovaných jogurtů. Vzorky byly vyrobeny standardním technologickým postupem (viz kap. 2.1.4 a 2.2) v laboratorních podmínkách na FCH VUT v Brně (značení vzorků viz Tabulka 3).

3.2.1 Postup výroby jogurtové kultury

Pro přípravu jogurtové kultury byl 1 litr mléka zahříván v hrnci na elektrickém ohříváči při 90–92 °C při mírném varu po dobu 2–3 minut. Následujícím krokem bylo ochlazení mléka na teplotu 45 °C ve vodní lázni spolu s přidavkem sušené jogurtové kultury (přip. 30 g předchozí kultury při přeočkování). Vše bylo dobře promícháno. Fermentace probíhala v uzavřené nádobě při teplotě 45 °C po dobu 3–6 hod. dokud nebylo dosaženo požadovaného pH (4,5–4,7). Hotová kultura byla skladována v lednici při teplotě 4–6 °C.

3.2.2 Postup výroby jogurtu

Jogurty byly vyrobeny obdobným způsobem jako jogurtová kultura (kap. 3.2.1). Rozdílem bylo použití mléka se zvýšeným obsahem sušiny, tudíž bylo před ohřevem kvantitativně přidáno 60 g sušeného odtučněného mléka.

3.3 Lyofilizace

Lyofilizace probíhala na Univerzitě obrany (UO) a na FCH VUT v Brně. Vzorky jogurtu byly lyofilizovány bez předchozí úpravy v plastových nádobkách (viz Obrázek 4) nebo hliníkových vaničkách (po cca 15 ml).

Parametry lyofilizace:

Doba mražení 4 hod. při teplotě $-43\text{ }^{\circ}\text{C}$, sušení 31 hod. při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, tlak 31 Pa (UO)

Doba mražení 24 hod. při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, sušení 24 hod. při $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$, tlak 33,6 Pa (FCH)

Hotové vzorky byly skladovány při pokojové teplotě ($22 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$).



Obrázek 4: Probíhající lyofilizace jogurtu; vlastní fotografie

3.4 Senzorická analýza

Senzorická analýza byla provedena v laboratoři senzorické analýzy Fakulty chemické VUT v Brně. Senzorické hodnocení bylo rozděleno do tří bloků. Nejprve bylo provedeno hodnocení lyofilizovaného jogurtu, kde byl hodnotitelům předložen jednoduchý spotřebitelský dotazník (viz Příloha 1). Celkem bylo pozváno 15 hodnotitelů z řad studentů FCH, měli za úkol zhodnotit předložený vzorek z hlediska chutnosti a jeho možného využití.

Ve druhé fázi byl hodnocen lyofilizovaný jogurt po rekonstituci, kde byl srovnán s čerstvě vyrobeným jogurtem jako standardem (viz Obrázek 5). Nejprve hodnocení podstoupila trojice vzorků, jež zahrnovala standard a jogurty rekonstituované s 50 % a 60 % vody. S ohledem na výsledky analýzy bylo provedeno následující hodnocení, tentokrát byl standard srovnán s jogurtem rekonstituovaným s 30 % vody.

Předložené vzorky byly hodnoceny z hlediska vzhledu, barvy, textury, chutě a vůně (použitý dotazník viz Příloha 2). Hodnocení bylo provedeno pomocí 10 cm grafické stupnice od nepříjemného po výborný, vůně a chuť byly hodnoceny také z hlediska intenzity od neznatelné po velmi silnou. Trojice vzorků byla hodnocena v rámci pořadové zkoušky (ČSN ISO 8587) z hlediska celkové přijatelnosti (nejlepší => nejhorší). K hodnocení bylo pozváno 22 hodnotitelů.

Ve třetím bloku hodnocení probíhalo podle stejného dotazníku (Příloha 2), pouze místo pořadového testu byla použita párová porovnávací zkouška (ČSN EN ISO 5495), hodnotitelé vybrali z dvojice vždy vzorek, který považovali za lepší, přijatelnější. Hodnocení se v tomto bloku zúčastnilo 5 hodnotitelů.

Hodnotitelé vždy dostali cca 20 g vzorku v kelímku označeném kódem, vodu jako neutralizátor chuti a dotazník pro hodnocení.



Obrázek 5: Senzorická analýza zahrnující standard a jogurty rekonstituované s 50 % a 60 % vody; vlastní fotografie

Tabulka 3: Označení vzorků

Vzorek	Označení vzorku
Čerstvě vyrobený jogurt (standard)	S
Lyofilizovaný jogurt	L
Rekonstituovaný jogurt s 30 % vody	L3
Rekonstituovaný jogurt s 50 % vody	L5
Rekonstituovaný jogurt s 60 % vody	L6

3.5 Stanovení těkavých látek

Těkavé látky byly analyzovány pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí ve spojení s mikroextrakcí pevnou fází (HS-SPME-GC-MS).

Postup:

Na předvážkách byly naváženy 2,0 g vzorku jogurtu do 10 ml vialky. Vialka byla uzavřena uzávěrem se septem a poté vložena do GC-MS.

3.5.1 Podmínky GC-MS analýzy

Kapilární kolona ZB–Wax; parametry kolony: 30 m × 0,25 mm × 0,5 μm, teplota injektoru (teplota desorpce) 240 °C, doba desorpce 20 min, dávkování splitless, ventil uzavřen 10 min, hloubka ponoření vlákna do injektoru 40 mm, nosný plyn: helium, průtok nosného plynu: 1 ml · min⁻¹, teplotní program 40 °C s výdrží 2 min, vzestupný gradient 3 °C · min⁻¹ do 110 °C s výdrží 10 min, vzestupný gradient 3 °C · min⁻¹ do 200 °C s výdrží 0 min, celková doba analýzy: 65 min, ionizace v módu EI, energie ionizačních elektronů 70 eV, teplota iontového zdroje 200 °C, skenovací rozsah m/z: 30–370 amu, rychlost skenování: 0,2 s.

3.6 Doplnkové charakteristiky

3.6.1 Stanovení sušiny

Přístroje a pomůcky:

Analytické váhy, sušárna, exsikátor, hliníkové misky, skleněné tyčinky, mořský písek vyžiháný, kleště.

Postup:

Na vahách bylo do dvou hliníkových misek naváženo 20 g mořského písku. Misky spolu s víčkem a skleněnou tyčinkou byly dány do sušárny o teplotě 103 °C po dobu 1 hodiny. Poté byly misky uloženy do exsikátoru k vychladnutí. Následně byly misky spolu s víčkem a skleněnou tyčinkou zváženy na analytických váhách s přesností na 0,0001 g. Do misek bylo naváženo 5 g vzorku jogurtu s přesností na 0,0001 g. Po navážení byly misky přesunuty do sušárny po dobu 3 hodin, kdy po prvních 10, 20 a 30 minutách byl obsah promícháván. Po opětovném ochlazení v exsikátoru byly misky zváženy. Sušení bylo provedeno do dosažení konstantní hmotnosti [58].

Obsah vody se vypočítá pomocí vzorce (1):

$$w_v = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{(m_1 - m_0)} [\%] \quad (1)$$

w_v – obsah vody [%]

m_0 – hmotnost misky s pískem a skleněnou tyčinkou [g]

m_1 – hmotnost misky s pískem, tyčinkou a navázkou vzorku před sušením [g]

m_2 – hmotnost misky s pískem, tyčinkou a navázkou vzorku po sušení [g]

Obsah sušiny se vypočítá pomocí vzorce (2):

$$w_{suš} = 100 - w_v [\%] \quad (2)$$

$w_{suš}$ – obsah sušiny [%]

w_v – obsah vody [%]

3.7 Statistické zpracování výsledků

Získaná data byla vyhodnocena programem Microsoft Excel Office 2020. Porovnáním hmotnostních spekter s přístupnými knihovnamí spekter pomocí programu Xcalibur 2.2 byly identifikovány těkavé látky. Každé měření bylo provedeno třikrát ($n = 3$). Obsah skupin identifikovaných sloučenin byl vyjádřen semikvantitativně pomocí ploch příslušných píků na chromatogramu. Výsledky sensorického hodnocení byly vyjádřeny jako průměr hodnocení všech hodnotitelů \pm směrodatná odchylka, pořadová zkouška byla vyhodnocena jako suma jednotlivých pořadí. Výsledky byly znázorněny graficky.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato práce se zabývá problematikou lyofilizace potravin, konkrétně bílých jogurtů, a probíhá ve spolupráci s Univerzitou obrany v Brně. Nejprve byla provedena optimalizace výroby bílého jogurtu, vzorky jogurtu byly lyofilizovány a následně byly provedeny experimenty pro dosažení rekonstituce jogurtu. Hlavním záměrem bylo porovnání sensorických vlastností jogurtu čerstvého s jogurtem rekonstituovaným.

4.1 Příprava jogurtové kultury

Jogurtová kultura byla připravena z jednoho balení komerční jogurtové kultury v litru polotučného mléka. Mléko bylo pasterováno při 92–93 °C po dobu 2–3 minut, fermentace jogurtové kultury probíhala při 42–45 °C 3–6 hod. do dosažení požadovaného pH (viz kap. 3.2.1). Následný průběh fermentace byl pozorován měřením pH v pravidelných časových intervalech. Požadovaná kyselost (4,5–4,7 pH) byla dosažena až po 6 hod. fermentace. Připravená jogurtová kultura byla nadále použita pro výrobu samotného jogurtu.

4.2 Optimalizace výroby jogurtu

Proces výroby jogurtu je obdobný procesu přípravy jogurtové kultury (viz kap. 3.2.2). Postup se liší v přidavku sušiny, jejíž obsah má dosahovat min. 8,2 % hm. V praxi se této hodnoty dosahuje zahuštěním na odparce nebo právě přidavkem sušeného mléka [59]. Konkrétní přidavek sušeného mléka byl testován v předchozích experimentech pro dosažení optimálních sensorických vlastností jogurtu, zde tedy dostatečně husté konzistence získaného jogurtu. Jako optimální byl zvolen přidavek 6 % hm. sušeného mléka.

4.3 Lyofilizace jogurtu

Část vyrobených jogurtů byla následně podrobena lyofilizaci. Lyofilizace probíhala nejprve na UO v Brně, kde mají již zavedenou metodu pro lyofilizaci různých potravin. Další vzorky byly lyofilizovány na FCH, kde je však k dispozici jiný typ lyofilizátoru a podmínky – teplota, doba – bylo nutné vyzkoušet. Je poměrně složité a časově náročné určit přesné podmínky procesu, protože potravinářské materiály jsou odlišné a je obtížné předvídat jejich chování během lyofilizace, nevhodné teploty mohou vést k nežádoucím změnám ve skruktuře produktu.

První krok – zmrazení – proběhlo jednoduše v mrazničce při cca -18 °C po dobu 24 hodin, což může být problém, protože žádaná teplota v této fázi je -30 až -40 °C pouze po dobu 4 hodin, mohlo tak dojít k nevhodné tvorbě velkých krystalů a k poškození produktu. Zmrazené vzorky byly poté vloženy do lyofilizátoru, použité parametry jsou uvedeny v kap. 3.3. Je jisté, že bude třeba podmínky lyofilizace optimalizovat.

Po ukončení procesu byly vzorky uloženy v laboratoři při pokojové teplotě pod parafilmem pro další zpracování, aby bylo zabráněno přístupu vzdušné vlhkosti.

4.4 Rekonstituce jogurtu

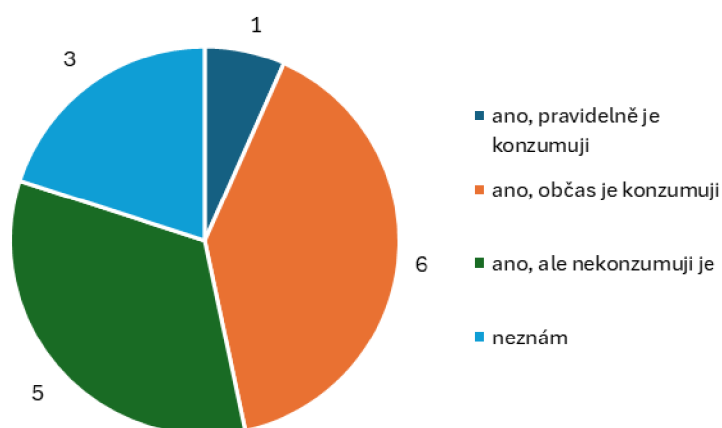
Lyofilizované jogurty byly následně rekonstituovány, k tomu bylo zapotřebí nejprve zjistit obsah vody (sušiny) v čerstvých jogurtech. Byla použita standardní metoda sušení do konstantní hmotnosti (kap. 3.6.1). Průměrný obsah sušiny ($n = 2$) byl stanoven na 14,8 %, což značí obsah vody 85,2 %. Tato data byla dále použita pro rekonstituci jogurtu (viz níže).

4.5 Senzorická analýza

4.5.1 Lyofilizovaný jogurt

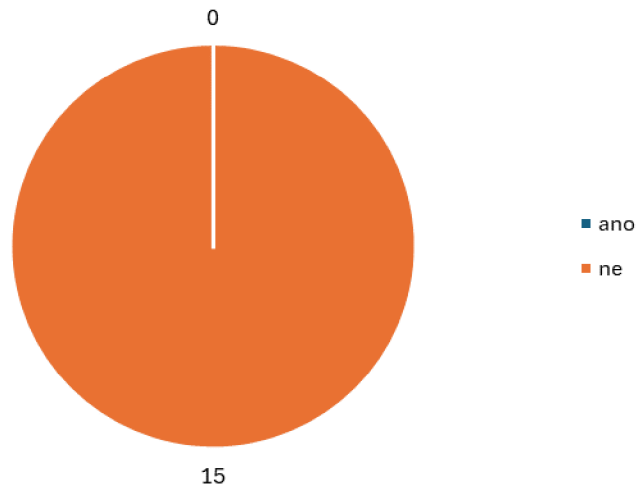
Nejprve byla provedena senzorická analýza samotného lyofilizovaného jogurtu v práškové formě. Vzhledem k tomu, že se jedná o poměrně nový výrobek, byl proveden jednoduchý spotřebitelský test, cílem bylo zjistit obecný názor „spotřebitelů“ na náš modelový výrobek a jejich povědomí o podobných produktech na trhu. Výsledky jsou zpracovány formou koláčových grafů na Obrázcích 1–5.

Hodnotitelé byli nejprve dotázáni, zda znají lyofilizované výrobky obecně. Dle Obrázek 6 celkem 7 hodnotitelů z 15 uvedlo jako odpověď lyofilizované ovoce, dva uvedli konkrétně jahody a maliny.



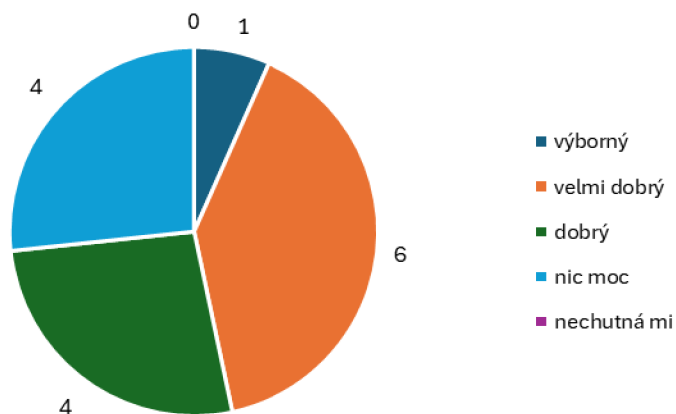
Obrázek 6: Výsledky spotřebitelského hodnocení lyofilizovaného jogurtu – znalost lyofilizovaných jogurtů

Hodnotitelé byli dále dotázáni, zda už se setkali s lyofilizovaným jogurtem, příp. jiným fermentovaným mléčným výrobkem. Je zajímavé, že všech 15 hodnotitelů odpovědělo ne (Obrázek 7), přestože na trhu se již nějaké produkty (lyofilizované různě ochucené jogurty nebo sýry) objevují.



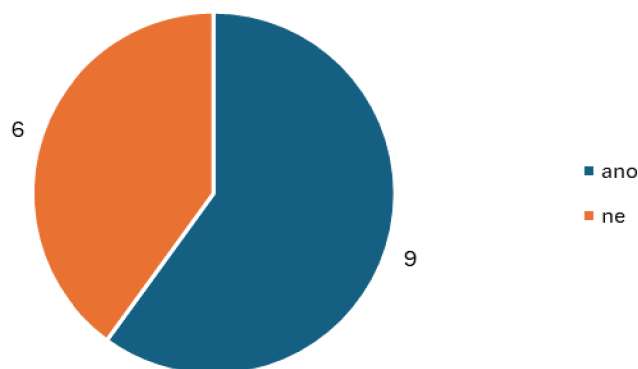
Obrázek 7: Výsledky spotřebitelského hodnocení – znalost konkrétně lyofilizovaného jogurtu

Dále hodnotitelé vzorek ochutnali a měli posoudit jeho chutnost. Převažovaly odpovědi „dobrý“ nebo „velmi dobrý“, jeden hodnotitel ho označil dokonce za „výborný“ (Obrázek 8).



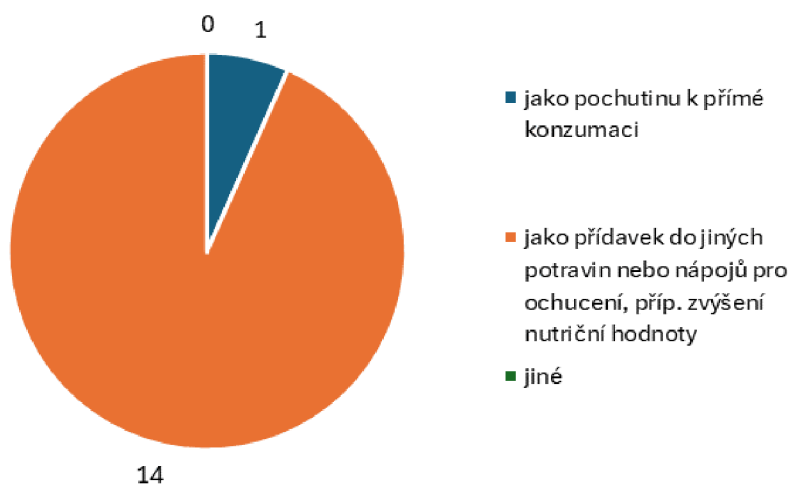
Obrázek 8: Výsledky spotřebitelského hodnocení – chutnost lyofilizovaného jogurtu

V návaznosti na hodnocení chutnosti byla testována celková atraktivita lyofilizovaného jogurtu pro eventuální spotřebitele, hodnotitelé byli dotázáni, zda by si byli ochotni vzorek koupit. Většinová odpověď na tuto otázku byla ano (Obrázek 9). Část hodnotitelů odpověděla že ne, je ale možné, že tito respondenti nemají v oblibě mléčné výrobky jako takové.



Obrázek 9: Výsledky spotřebitelského hodnocení – ochota koupit lyofilizovaný jogurt

Poslední otázka byla ohledně doporučeného použití výrobku. Pouze jeden hodnotitel doporučil výrobek k přímé konzumaci, ostatní navrhli produkt jako přídavek do jiných potravin či nápojů (Obrázek 10).



Obrázek 10: Výsledky spotřebitelského hodnocení – možnost použití lyofilizovaného jogurtu

Z uvedených výsledků spotřebitelského hodnocení vyplývá, že lyofilizovaný jogurt má velmi dobrý potenciál, nicméně k učinění závěrů bude potřeba získat podstatně více odpovědí.

4.5.2 První fáze senzorické analýzy jogurtů

Hlavní zamýšlené použití našeho produktu je jako jakási „konzerva“, kterou by bylo možné brát s sebou na cesty, na dovolenou, příp. i skladovat doma. Jogurt v práškové formě má podstatně delší trvanlivost, menší objem a díky šetrnosti procesu lyofilizace si uchovává i svoji nutriční hodnotu. Jednoduchým přídavkem vody by se získal zpět chutný „čerstvý“ jogurt, k tomu směřovaly další fáze senzorického hodnocení.

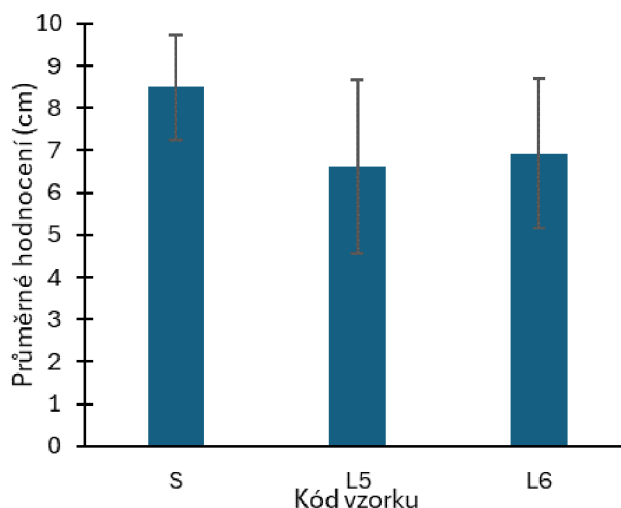
Bylo samozřejmě potřeba zjistit, kolik vody bude třeba do jogurtu přidat, tak aby se získal jogurt dobrých senzorických vlastností. Za tímto účelem byl nejprve stanoven obsah vody (sušiny) čerstvého (čerstvě vyrobeného) jogurtu (viz kap. 4.5). Podle předběžného testu se zdál

být optimální přídavek vody cca 50–60 % z celkového obsahu vody odstraněné lyofilizací, s těmito vzorky proběhla první část hodnocení.

Senzorické hodnocení podstoupila trojice vzorků, jež zahrnovala čerstvě vyrobený jogurt (standard) a jogurty rekonstituované s 50 % a 60 % vody.

4.5.2.1 Vzhled a barva

Dle Obrázek 11 je zřejmé, že z hlediska vzhledu a barvy byly oba rekonstituované vzorky na podobné úrovni, jejich barva byla popsána jako krémová, přičemž vzorek s 60 % vody byl hodnocen mírně lépe. Nejlépe byl hodnocen standard (čerstvě vyrobený jogurt).

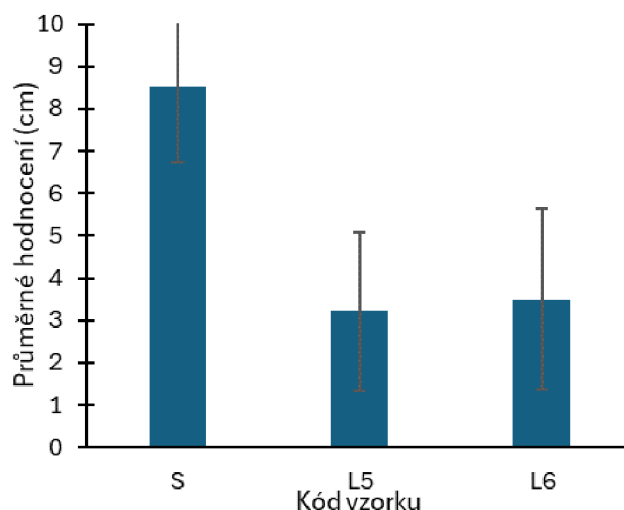


Obrázek 11: Výsledky senzoričského hodnocení pro vzhled a barvu vzorků (použitá stupnice nepřijatelná => výborná); značení vzorků viz Tabulka 3

4.5.2.2 Textura

Textura, resp. viskozita byla považována za kritický a nejdůležitější faktor. Příliš velký přídavek vody představuje riziko řídké konzistence, v rekonstituovaném jogurtu se může vyskytovat nehomogenita, kousky sušiny apod.

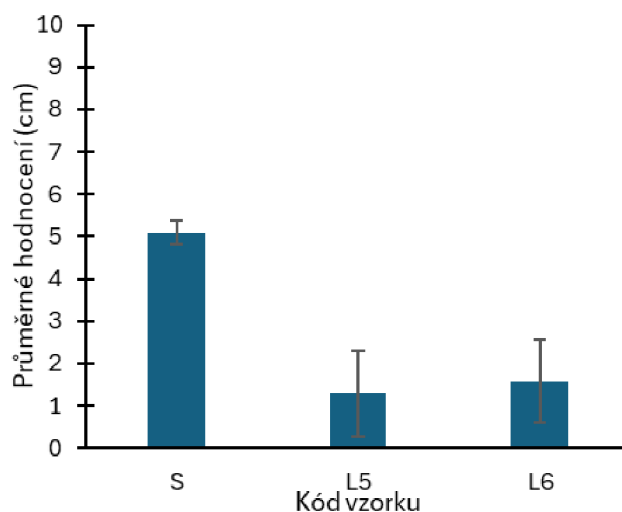
Podle očekávání byl nejlépe hodnocený z hlediska přijatelnosti standard, jak lze vidět na Obrázek 12. Vzorky rekonstituované byly označeny jako nevyhovující a jeden hodnotitel je považoval za místy hrudkovité.



Obrázek 12: Výsledky sensorického hodnocení pro texturu (nepřijatelná => výborná); značení vzorků viz Tabulka 3

Stejně tak z hlediska viskozity (viz Obrázek 13) byl standard označen jako optimální, vzorky rekonstituované byly označeny jako příliš řídké.

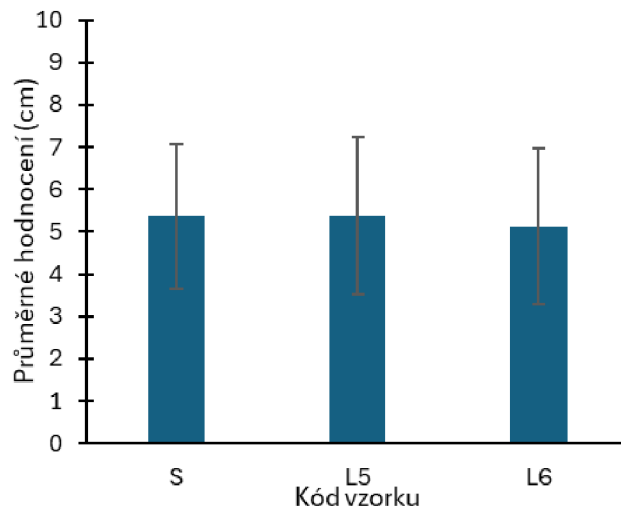
Je zajímavé, že ve studii Rosenthala [32] se uvádí jako optimální dokonce přidavek 70 % původního obsahu vody, tyto jogurty byly nejlépe hodnoceny z hlediska reologických vlastností. To může být způsobeno odlišnými podmínkami při lyofilizaci. V souladu s našimi výsledky však uvádí, že konečný obsah vody v produktu závisí na následném přijetí spotřebitelem.



Obrázek 13: Výsledky sensorického hodnocení pro viskozitu (příliš řídká => příliš hustá; značení vzorků viz Tabulka 3

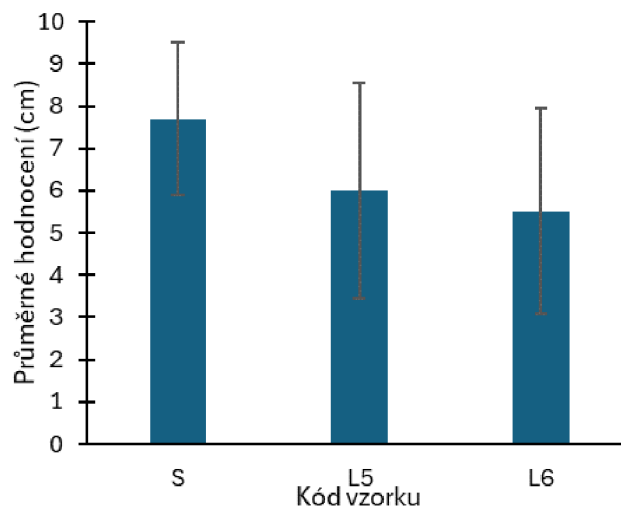
4.5.2.3 Vůně

Na vůni a chuť neměl zpětný přidavek vody tak výrazný vliv, jako na texturu. Všechny vzorky z hlediska vůně byly hodnoceny téměř stejně, vůně byla popsána jako kysele jogurtová (Obrázek 14), intenzita byla označena jako střední.



Obrázek 14: Výsledky senzoričkého hodnocení pro intenzitu vůně vzorků (neznatelná => velmi silná); značení vzorků viz Tabulka 3

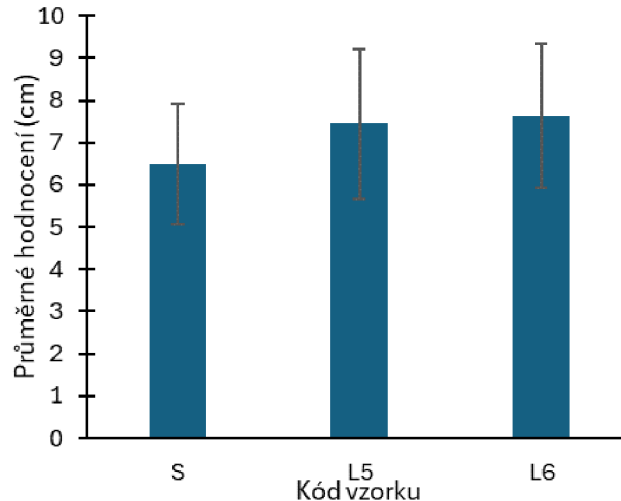
Větší rozdíly se ukázaly v příjemnosti vůně, dle Obrázek 15 byla hodnotiteli u vzorku S vůně označena za nejvíce příjemnou. Vůně rekonstituovaných vzorků byla shledána méně příjemnou.



Obrázek 15: Výsledky senzoričkého hodnocení pro příjemnost vůně vzorků (nepříjemná => velmi příjemná; značení vzorků viz Tabulka 3

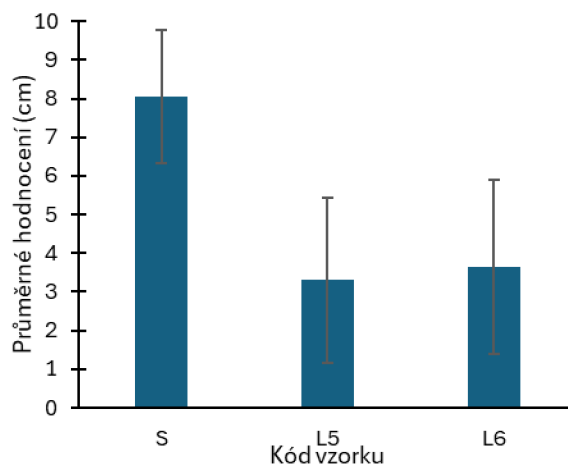
4.5.2.4 Chut'

Co se týče chuti, překvapivě větší intenzitu chuti hodnotitelé cítili u obou rekonstituovaných jogurtů (viz. Obrázek 16).



Obrázek 16: Výsledky sensorického hodnocení pro intenzitu chuti vzorků (nezatelná => velmi silná; značení vzorků viz Tabulka 3

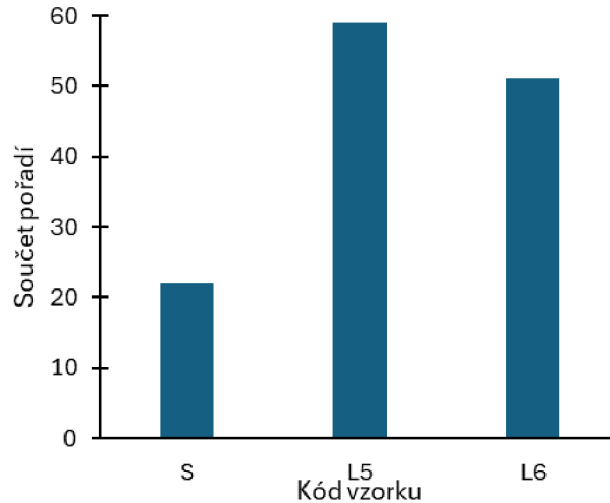
Z hlediska přijemnosti však byly vzorky hodnoceny obdobně jako v případě vůně. Nejchutnějším vzorkem dle hodnotitelů byl určen, jak lze vidět na Obrázek 17, standard, jeho chuť lze označit jako velmi příjemnou. Naopak vzorky rekonstituované byly hodnoceny spíše jako méně příjemné, hodnotitelé v nich cítili výraznější kyselou, někteří dokonce hořkou chuť. Dva navíc detekovali pachut' po sušeném mléce.



Obrázek 17: Výsledky sensorického hodnocení pro příjemnost chuti vzorků (nepříjemná => velmi příjemná; značení vzorků viz Tabulka 3

4.5.2.5 Pořadová zkouška

Na závěr měli hodnotitelé pomocí pořadové zkoušky seřadit vzorky podle celkové přijatelnosti (nejlepší => nejhorší vzorek). Výsledky jsou prezentovány na Obrázek 18 jako součet pořadí. Jak lze vidět jako nejlepší/nejpříjemnější byl jednoznačně hodnocen standard, tedy čerstvě vyrobený jogurt. Výsledku mohla přispět jemná příjemná chuť, vůně, optimální hustota i celková textura.



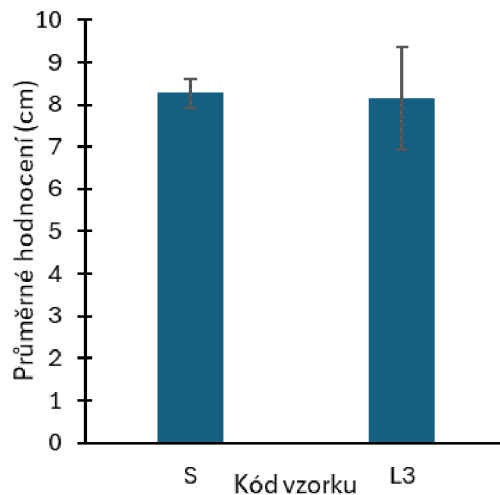
Obrázek 18: Výsledky pořadového testu vzorků jogurtu čerstvého a jogurtů rekonstituovaných s 50 % a 60 % vody (nejlepší ⇒ nejhorší); značení vzorků viz Tabulka 3

4.5.3 Druhá fáze senzorické analýzy jogurtů

S ohledem na výsledky první fáze analýzy, kdy byly rekonstituované jogurty označeny z hlediska viskozity jako velmi řídké a z celkového hlediska pak v porovnání s jogurtem klasickým jako nedostačující, v další fázi byl připraven jogurt s přidavkem pouhých 30 % vody, který byl následně opět srovnán s čerstvým jogurtem jako standardem. K hodnocení byl použit obdobný dotazník, jako v předchozí sérii hodnocení (viz Příloha 2).

4.5.3.1 Vzhled a barva

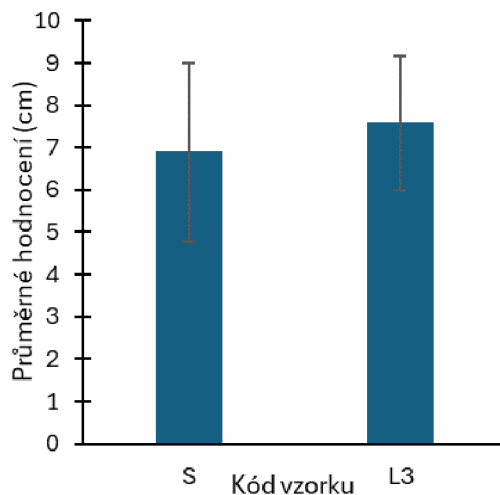
Dle grafu na Obrázek 19 je zřejmé, že z hlediska vzhledu a barvy byly vzorky na téměř stejné úrovni, spotřebitelé je ohodnotili jako velmi dobré.



Obrázek 19: Výsledky senzorického hodnocení pro vzhled a barvu vzorků (nepřijatelná => výborná; značení vzorků viz Tabulka 3)

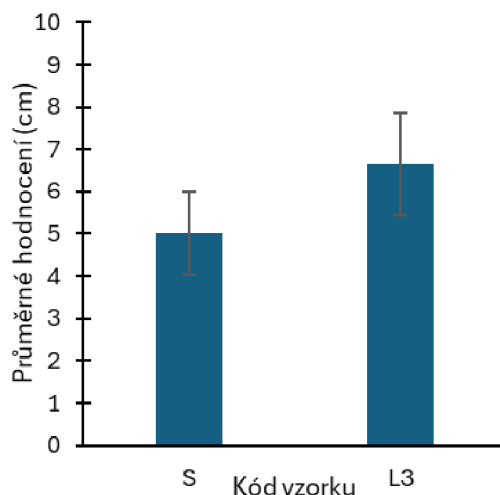
4.5.3.2 Textura

Podstatně nižší přídavek vody vedl k žádoucímu zlepšení (zahuštění) textury rekonstituovaného jogurtu. Jak je vidět na Obrázek 20, rekonstituovaný jogurt byl hodnocen dokonce jako mírně lepší než standard, u obou vzorků lze texturu označit jako velmi dobrou.



Obrázek 20: Výsledky sensorického hodnocení pro konzistenci vzorků (nepřijatelná => výborná; značení vzorků viz Tabulka 3)

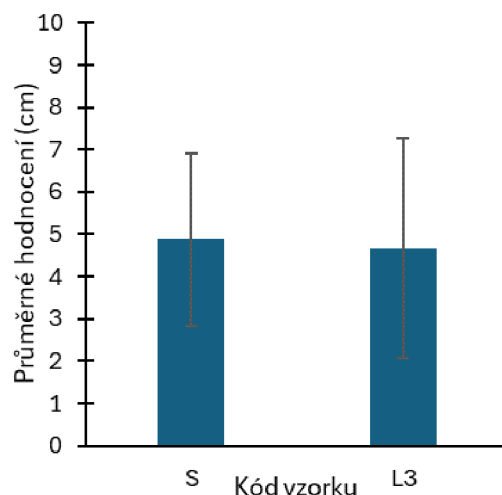
To bylo nepochybně způsobeno tím, že viskozita rekonstituovaného jogurtu byla hodnocena dokonce jako hustší než standard (viz Obrázek 15), poněkud v rozporu s hodnocením příjemnosti (Obrázek 21) textura standardu byla označena jako optimální.



Obrázek 21: Výsledky sensorického hodnocení pro viskozitu vzorků (příliš řídká => příliš hustá); značení vzorků viz Tabulka 3

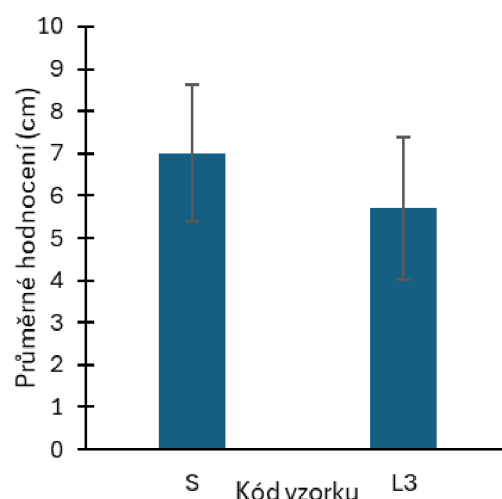
4.5.3.3 Vůně

Výsledky hodnocení chuti a vůně byly obdobné, jako v předchozí sérii, vliv lyofilizace a následné rekonstituce tady není tak výrazný. Dle Obrázek 22 byla shledána intenzita vůně obou vzorků jako střední.



Obrázek 22: Výsledky senzoričkého hodnocení pro intenzitu vůně vzorků (neznatelná => velmi silná); značení vzorků viz Tabulka 3

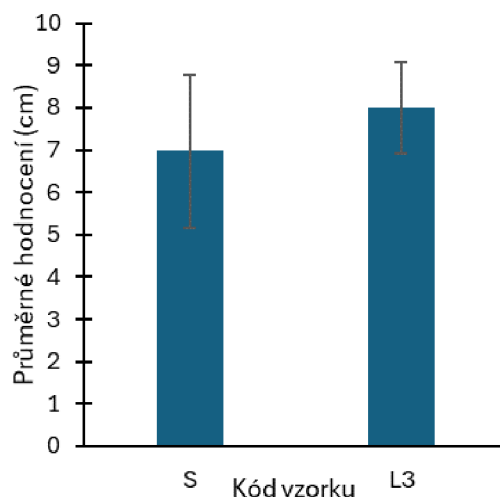
Co se týče příjemnosti, na Obrázek 23 je patrné, že oba vzorky byly shledány příjemnými, avšak standard byl označen jako příjemnější z hlediska jeho jogurtové vůně.



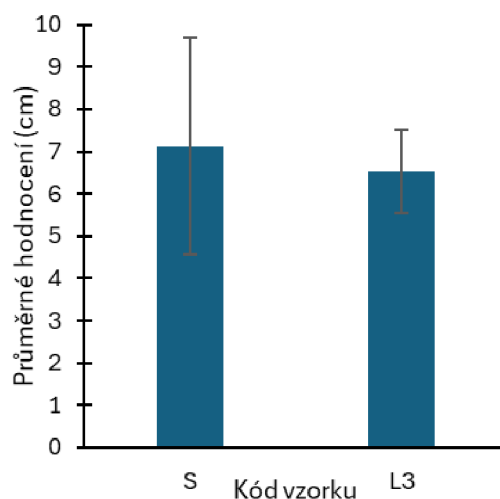
Obrázek 23: Výsledky senzoričkého hodnocení pro příjemnost vůně vzorků (nepříjemná => velmi příjemná); značení vzorků viz Tabulka 3

4.5.3.4 Chut'

V případě hodnocení chuti rekonstituovaný jogurt měl více intenzivní chuť (Obrázek 18), chuť standardu však stále byla označena jako příjemnější (Obrázek 24). Rozdíl však není tak markantní, jako v předchozí sérii, chuť obou vzorků lze označit jako příjemnou (Obrázek 25). Je třeba zmínit poznámku dvou hodnotitelů, kterým se jogurty zdály příliš kyselé.



Obrázek 24: Výsledky senzorickeho hodnoceni pro intenzitu chuti vzorku (neznatelná => velmi silná); značení vzorku viz Tabulka 3



Obrázek 25: Výsledky senzorickeho hodnoceni pro příjemnost chuti vzorku jogurtu čerstvého a jogurtu rekonstituovaných s 50 % a 60 % vody (nepříjemná => velmi příjemná); značení vzorku viz Tabulka 3

4.5.3.5 Párová porovnávací zkouška

Vzhledem k tomu, že není vhodné hodnotit pouze dva vzorky pořadovou zkouškou, byla v tomto případě na závěr použita párová porovnávací zkouška. Hodnotitelé měli určit, který ze vzorků je lepší, chutnější, kterému by dali přednost. Této sérii se účastnilo pouze 5 hodnotitelů, 4 vybrali jako lepší standard, 1 hodnotitel vybral rekonstituovaný jogurt.

I když rozdíly mezi vzorky byly malé, jako lepší lze označit standard. Pro statisticky průkazný rozdíl by však bylo třeba více odpovědí. Hodnotitelé preferovali vzorek čerstvě vyrobeného jogurtu, k čemuž mohla přispět především kladně hodnocená příjemnost vůně i chuti.

4.6 Identifikace a kvantifikace těkavých látek

Na závěr byly všechny tři typy jogurtu (čerstvý vs. lyofilizovaný vs. rekonstituovaný) porovnány z hlediska profilu těkavých látek stanovených pomocí metody HS-SPME-GC-MS. Podmínky jsou uvedeny v kapitole 3.5. Všechny připravené vzorky jogurtu byly měřeny třikrát pro potvrzení opakovatelnosti metody. Látky stanovené v těchto vzorcích byly identifikovány pomocí srovnání hmotnostních spekter s dostupnou knihovnou. Všechny sloučeniny jsou uvedeny v Tabulka 4 spolu s aritmetickým průměrem retenčních časů RT (n = 12). U všech sloučenin je dále uvedeno jejich zastoupení v konkrétních vzorcích jako % z celkové plochy píků.

Bylo detekováno celkově ve všech vzorcích jogurtu 51 různých těkavých látek. Ve vzorku standardu bylo stanoveno 24 těkavých látek, ve vzorku lyofilizovaného jogurtu 21. U jogurtů rekonstituovaných byl detekován počet sloučenin 22 u vzorku L5 a 21 u L6. Z celkového počtu 51 těkavých látek bylo 8 aldehydů, 3 alkany, 11 alkoholů, 5 esterů, 2 furany, 1 heterocyklická sloučenina, 8 ketonů (z nich 1 terpenický), 8 kyselin, 4 sloučeniny síry a 1 uhlovodík. Ve všech vzorcích se nacházely 4 stejné sloučeniny. Látky, jež byly pro všechny vzorky společné, byly 2 kyseliny a 2 alkoholy, konkrétně kyselina octová, butanová kyselina, a z alkoholů 3-pentanol spolu s 2-ethyl-1-hexanolem.

U vzorku standardu byly detekovány z celkového počtu 24 těkavých látek 2 aldehydy, jeden alkan, 5 alkoholů, 3 estery, 5 ketonů, 6 kyselin a 2 sloučeniny síry. Zdaleka nejvíce zastoupenou látkou zde byla kyselina octová (42,2 %) a dimethylsulfon (7,7 %). Dále byla ve vyšším množství zastoupena kyselina butanová (5,2 %), methyl alkohol (3,6 %), α -ionon (3,5 %), 3-pentanol (3,4 %) a v neposlední řadě (E)-2-butenal (3,3 %).

U lyofilizovaného jogurtu bylo detekováno těkavých látek 21, z toho 2 aldehydy, jeden alkan, 2 alkoholy, 2 estery, 5 ketonů, 6 kyselin a 3 sloučeniny síry. Nejvíce procentuálně zastoupenou látkou byl 2-heptanon (9,9 %), poté kyselina octová (7,6 %), 2-nonanon (4,9 %) a oktanová kyselina (4,5 %). Dále také kyselina butanová (4,3 %) a 2,3-pentandion (3,4 %).

U jogurtů rekonstituovaných s 50 % a 60 % přidané vody lze očekávat stejné, nebo velmi podobné složení, nicméně určité rozdíly mezi nimi nalezeny byly. Ukázka chromatogramu rekonstituovaného jogurtu je uvedena v Příloze 3.

U jogurtu rekonstituovaného s 50 % vody bylo identifikováno celkem 22 těkavých látek, celkový počet byl složen z 5 aldehydů, jednoho alkanu, 8 alkoholů, jedné heterocyklické sloučeniny, jednoho ketonu, 2 kyselin, jednoho furanu, 2 sloučenin síry a jednoho uhlovodíku, konkrétně 1,4-dimethylbenzenu. Nejvíce byl zastoupen hexanal (26,9 %), butanová kyselina (6,5 %), 2-pentanon (5,5 %), octová kyselina (5,3 %), 3-methylbutanal (5,1 %), dimethyldisulfid (3,9 %) a benzaldehyd (3,5 %) a 3-methyl-1-butanol (3,4 %).

U vzorku jogurtu rekonstituovaného s 60 % vody bylo identifikováno těkavých látek 21, z toho 3 aldehydy, jeden alkan, 5 alkoholů, jeden ester, jedna heterocyklická sloučenina, 3 ketony, 2 kyseliny, 2 furany, 2 sloučeniny síry a jeden uhlovodík, a to také 1,4-dimethylbenzen jako u vzorku L5. Nejvíce zastoupenou látkou byl hexanal (20,0 %), poté octová kyselina (8,0 %), 2-pentanon (6,1 %), 3-methylbutanal (3,7 %) a 3-methyl-1-pentanol (3,1 %).

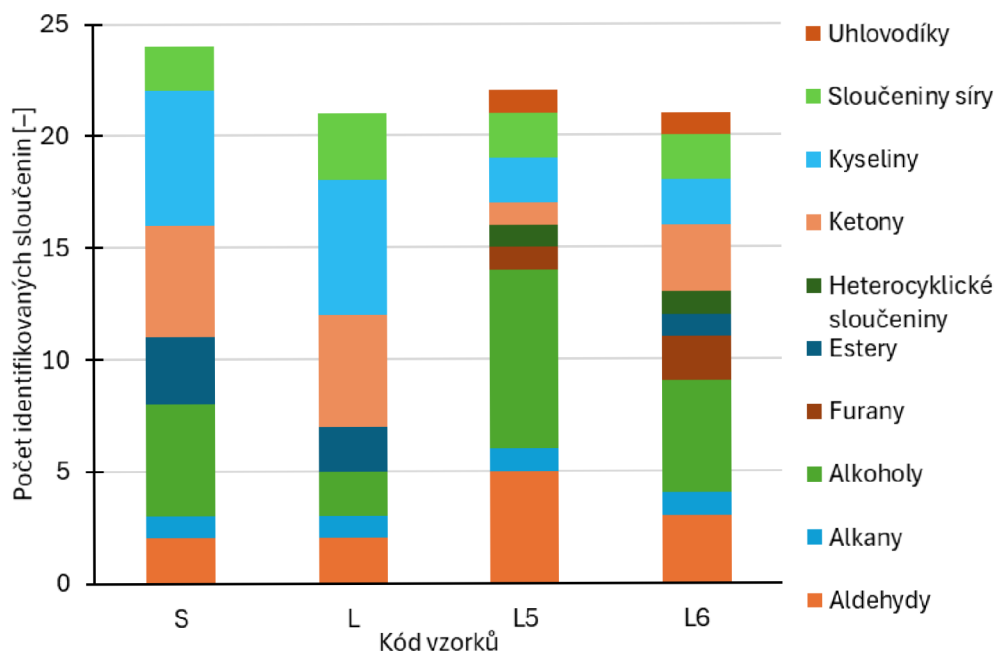
Nejvyšší počet detekovaných těkavých sloučenin (Obrázek 26) byl tedy u vzorku standardu, hodnoty u ostatních vzorků se však výrazně nelišily. Převládaly především alkoholy, dalším výrazným zastoupením byly kyseliny a následně ketony. Z výčtu těkavých látek lze vidět, že byly detekovány čtyři sírné sloučeniny, dimethyldisulfid, dimethyltrisulfid, dimethylsulfoxid a dimethylsulfon, jež způsobují výrazné aroma již ve stopových koncentracích. Jejich přítomnost způsobuje nežádoucí tzv. sírné aroma [60]. Tři z těchto látek byly přítomny u vzorku lyofilizovaného jogurtu, u ostatních vzorků se vyskytovaly vždy po dvou sloučeninách.

Z celkového zastoupení počtu těkavých sloučenin z Obrázek 26 je patrné, že vzorek S a L mají zhruba stejné skupinové zastoupení látek, rozdílem kromě některých konkrétních sloučenin je zde početní zastoupení některých skupin. Vzorky S a L se shodují v počtech většiny skupin látek, liší se počtem zastoupených alkoholů, esterů a sloučenin síry, přičemž vzorek S obsahuje vyšší zastoupení alkoholů a esterů. To by mohlo naznačovat, že proces lyofilizace je skutečně šetrný a profil těkavých látek výrazněji neovlivňuje.

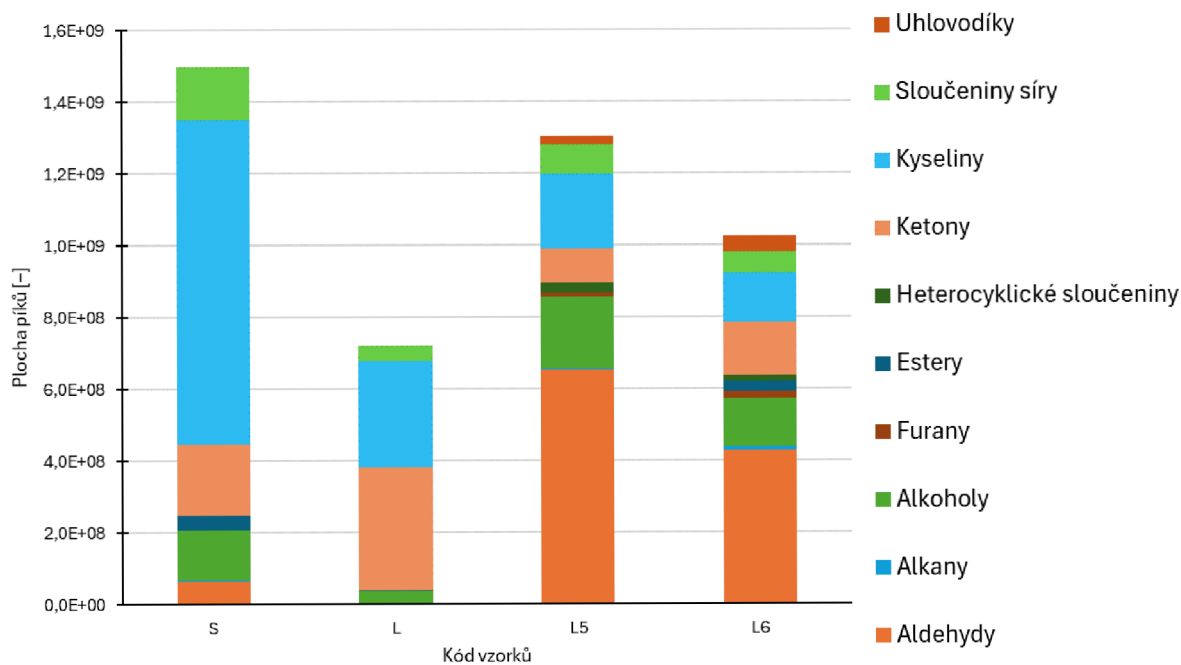
Jak už bylo zmíněno, u obou jogurtů rekonstituovaných, vzhledem k tomu, že se liší pouhými 10 % přidané vody, lze očekávat velmi podobné složení, což se v tomto případě celkem potvrdilo. Skupinové zastoupení látek u vzorků L5 a L6 je velmi podobné s výjimkou esterů, jež nebyly identifikovány u vzorku L6. Zde se výrazněji liší početní zastoupení aldehydů, ketonů, furanů a převážně alkoholů. U vzorku L5 je patrné vyšší zastoupení aldehydů a alkoholů, nižší zastoupení furanů spolu s ketony.

Na Obrázek 27 lze vidět, že se dle plochy píků značně liší zastoupení těkavých sloučenin v jednotlivých vzorcích. Je poněkud diskutabilní srovnávat vzorek lyofilizovaného jogurtu, který je tvořen v podstatě pouze mléčnou sušinou, a vzorek jogurtu, který obsahuje sušiny pouze menší % (podle našich výsledků 14,8 %). Přesto je v grafu patrný výrazný pokles v obsahu těkavých látek v lyofilizovaném jogurtu, což naznačuje, že přece jen během lyofilizace dochází ke ztrátám těkavých látek. Pokud však porovnáme procentuální zastoupení skupin sloučenin (Obrázek 28), je vidět že složení vzorků S a L je velmi podobné, převládají alkoholy, ketony a kyseliny.

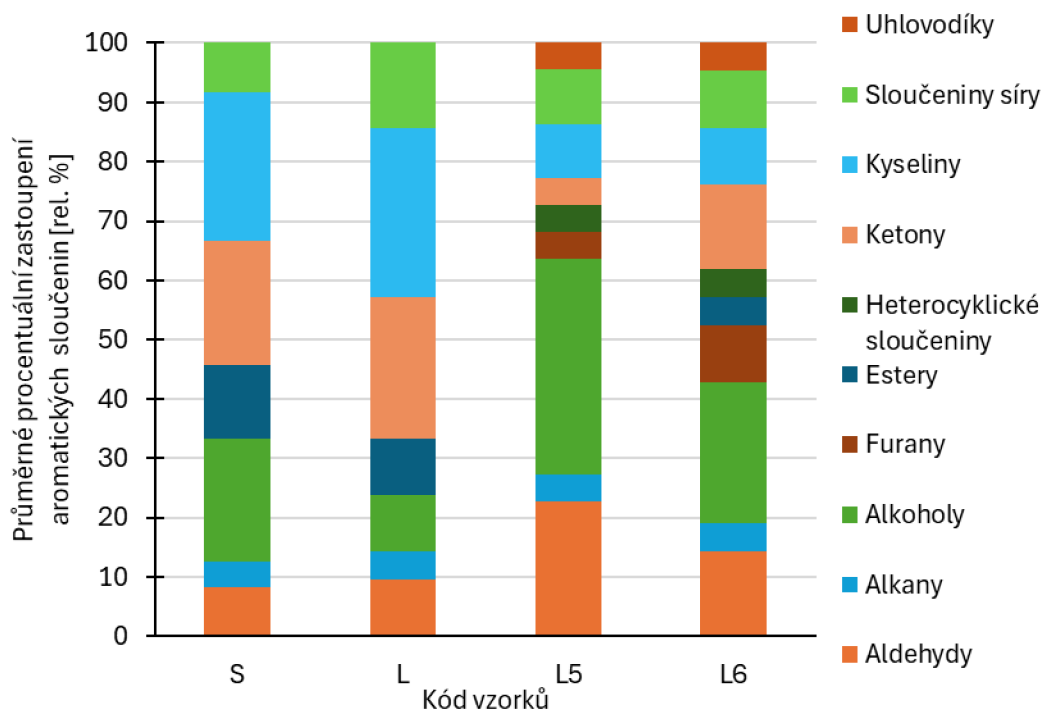
Důvodem nižšího obsahu těkavých látek v lyofilizovaném jogurtu by mohla být i prášková forma vzorku, ze které se těkavé sloučeniny hůře uvolňují. Po rekonstituci (vzorky L5 a L6) se celkový obsah nalezených sloučenin opět zvýšil (Obrázek 27), opět se potvrdila jejich podobnost, zajímavé je však jejich odlišné složení oproti standardu, objevily se některé nové sloučeniny, které naopak pravděpodobně vznikly během lyofilizace.



Obrázek 26: Celkový počet těkavých látek ve vzorcích jogurtu; značení viz Tabulka 3



Obrázek 27: Obsah těkavých látek ve vzorcích jogurtu; značení viz Tabulka 3



Obrázek 28: Procentuální zastoupení identifikovaných těkavých látek (dle plochy piků); značení viz Tabulka 3

Tabulka 4: Identifikované těkavé látky ve vzorcích jogurtů

Název sloučeniny	R _t [min]	Skupina	S [rel. %]	L [rel. %]	L5 [rel. %]	L6 [rel. %]
Ethyl acetát	3,91	Ester	2,0	nd	nd	1,6
3-Methylbutanal	4,43	Aldehyd	nd	nd	5,1	3,7
2-Pentanon	5,83	Keton	2,0	nd	5,4	6,1
Methyl alkohol	5,86	Alkohol	3,6	nd	nd	nd
Dekan	6,15	Alkan	nd	nd	0,5	nd
(E)-2-Butenal	7,64	Aldehyd	3,3	nd	nd	nd
2,3-Pentandion	8,33	Keton	3,1	3,4	nd	1,8
Dimethyldisulfid	8,72	Sloučenina síry	nd	1,0	3,9	2,5
Hexanal	9,06	Aldehyd	0,4	nd	26,9	20,0
1,4-Dimethylbenzen	10,87	Uhlovodík	nd	nd	1,4	0,1
Ethylester pentanové kyseliny	11,11	Ester	0,3	nd	nd	nd
2-Heptanon	13,04	Keton	0,8	9,8	nd	nd
Dodekan	13,27	Alkan	0,1	nd	nd	nd
3-Methyl-2-butenal	13,74	Aldehyd	nd	0,4	nd	nd
2-Methyl-1-butanol	14,42	Alkohol	0,6	nd	nd	nd
3-Methyl-1-butanol	14,57	Alkohol	nd	nd	3,4	nd
Ethylester hexanové kyseliny	15,20	Ester	0,2	nd	nd	nd
Ethylester-4-methyl-pentanové kyseliny	15,24	Ester	nd	0,1	nd	nd
1-Pentanol	16,28	Alkohol	0,2	nd	nd	nd
(Z)-2-Heptenal	19,09	Aldehyd	nd	nd	1,3	nd
3-Pentanol	20,04	Alkohol	3,4	1,4	1,8	2,2

Tabulka 5 pokračování I: Identifikované těkavé látky ve vzorcích jogurtů

Název sloučeniny	R _t [min]	Skupina	S [rel. %]	L [rel. %]	L5 [rel. %]	L6 [rel. %]
3-Nonanon	20,52	Keton	nd	nd	nd	0,5
2-Hydroxy-3-pentanon	20,72	Keton	1,9	1,0	nd	nd
3-Methyl-1-pentanol	20,80	Alkohol	nd	nd	2,7	3,1
Dimethyltrisulfid	21,34	Sloučenina síry	nd	0,9	0,9	0,7
2-Nonanon	21,88	Keton	nd	4,9	nd	nd
2-Ethylfuran	22,50	Furan	nd	nd	nd	0,3
Trimethylpyrazin	22,81	Heterocyklická sloučenina	nd	nd	1,6	1,0
(E)-2-Octenal	23,60	Aldehyd	nd	nd	0,5	0,7
1-Octen-3-ol	24,77	Alkohol	nd	nd	1,3	1,7
1-Heptanol	25,08	Alkohol	nd	nd	1,3	0,8
2-Ethyl-1-hexanol	26,47	Alkohol	0,3	0,4	1,0	0,7
Benzaldehyd	27,65	Aldehyd	nd	nd	3,5	nd
2-Nonanol	27,95	Alkohol	nd	nd	0,7	nd
Propanová kyselina	29,56	Kyselina	0,2	nd	nd	nd
1-Octanol	30,18	Alkohol	nd	nd	1,2	nd
Dimethylsulfoxid	31,62	Sloučenina síry	0,8	nd	nd	nd
2-Undekanon	32,16	Keton	nd	0,3	nd	nd
Octová kyselina	33,67	Kyselina	43,2	7,6	5,3	8,0
Ethylester dekanové kyseliny	35,21	Ester	nd	0,1	nd	nd
Butanová kyselina	35,99	Kyselina	5,2	4,3	6,5	nd
2-Furanmethanol	37,55	Alkohol	nd	nd	0,6	0,6
Kyselina 3-methyl butanová	38,68	Kyselina	0,3	0,4	nd	nd

Tabulka 5 pokračování II: Identifikované těkavé látky ve vzorcích jogurtů

Název sloučeniny	R _t [min]	Skupina	S [rel. %]	L [rel. %]	L5 [rel. %]	L6 [rel. %]
4-Ethylbenzaldehyd	40,69	Aldehyd	nd	0,1	nd	nd
Pentanová kyselina	41,98	Kyselina	nd	0,1	nd	0,1
α-Ionon	45,02	Terpenický keton	3,4	nd	nd	nd
Hexanová kyselina	45,58	Kyselina	1,7	nd	nd	nd
Dimethylsulfon	46,61	Sloučenina síry	7,7	0,4	nd	nd
Heptanová kyselina	48,58	Kyselina	nd	0,3	nd	nd
Oktanová kyselina	51,07	Kyselina	1,2	4,5	nd	nd
Pentylcyklopropan	60,24	Alkan	nd	0,1	nd	1,5

R_t – retenční čas; nd – nebylo detekováno; značení vzorků viz Tabulka 3

5 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zabývala výrobou jogurtu, jeho lyofilizací a opětnou rekonstitucí, a porovnáním všech tří forem jogurtu z hlediska senzorycké kvality a profilu těkavých látek.

V první části práce byla optimalizována technologie výroby jogurtu pro získání dostatečně husté konzistence, výsledkem byl přídavek sušeného mléka 6 hm. %. Dalším krokem byla lyofilizace. Část vzorků vyrobených jogurtů byla podrobena lyofilizaci na Univerzitě obrany v Brně s již zavedenou metodou. Druhá část vzorků byla lyofilizována na FCH VUT za odlišných podmínek, kdy probíhalo mrazení v mrazničce při vyšší teplotě (cca-18 °C) než je žádoucí, což potenciálně mohlo vést k poškození produktu nevhodnou tvorbou krystalů.

Nicméně z provedeného spotřebitelského testu vyplývá, že náš vzorek byl z hlediska chutnosti hodnocen pozitivně a většina respondentů by si byla ochotna jej zakoupit, nejlépe jako přídavek do potravin a nápojů. Z celkového hodnocení vyplývá velmi dobrý potenciál výrobku, ovšem bude potřeba získat více dat k učinění závěru.

Problémy se objevily při opětovné rekonstituci práškového jogurtu, příliš vysoký přídavek vody měl za následek řídký jogurt s výraznější kyselou chutí, s občas detekovanou pachutí po sušeném mléce. Jako optimální z hlediska textury se ukázal být přídavek vody cca 30 % z původně odebraného množství, nicméně i tak rekonstituovaný jogurt nedosahoval kvality/chutnosti čerstvě vyrobeného jogurtu. Pro statisticky průkazný rozdíl by však opět bylo třeba více odpovědí. Otázka optimalizace výroby lyofilizovaného jogurtu a jeho rekonstituce bude dále zkoumána v rámci navazujících experimentů.

Posledním krokem bylo stanovení těkavých látek za použití metody HS-SPME-GC-MS. Celkově bylo ve všech vzorcích detekováno 51 těkavých látek. Nejvíce jich bylo nalezeno v jogurtu čerstvém (24), ve vzorcích rekonstituovaných pouze 21. Ze srovnání tří typů analyzovaných jogurtů (čerstvý vs. lyofilizovaný vs. rekonstituovaný) vyplývá, že složení vzorků se liší především z hlediska obsahu sloučenin, ale ve všech vzorcích převládaly alkoholy, ketony a kyseliny.

Z výsledků práce vyplývá, že lyofilizace a následná rekonstituce zanechávají v jogurtu senzorycké změny, které souvisejí s jiným spektrem nalezených těkavých látek. Velkou výzvou bude dosažení optimální textury, což bude potřeba podrobněji prozkoumat, optimalizovat a standardizovat v následujících experimentech.

6 SEZNAM LITERATURY

- [1] 97/2016 Sb. Vyhláška o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. *Zákony pro lidi*. Accessed January 9, 2021. <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-397>.
- [2] KOPÁČEK, Jiří. *Mléko a mléčné výrobky: jak poznáme kvalitu?*. Praha: Sdružení českých spotřebitelů, 2014. Jak poznáme kvalitu?. ISBN 978-80-87719-18-3.
- [3] KADLEC, Pavel; MELZOCH, Karel a VOLDŘICH, Michal. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Monografie (Key Publishing). Ostrava: Key Publishing, 2012. ISBN 978-80-7418-145-0.
- [4] BUTTRISS, Judith. *Nutritional properties of fermented milk products*. [Online]. *International journal of dairy technology*. 1997, roč. 50, č. 1, s. 21-27. ISSN 1364-727X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.1997.tb01731.x>. [cit. 2023-10-30].
- [5] GARCIA-BURGOS, Maria; MORENO-FERNANDEZ, Jorge; DIAZ-CASTRO, Javier a LOPEZ-ALIAGA, Inmaculada. New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. Online. *Journal of Functional Foods*. 2020, č. 72, article 104059. ISSN 1756-4646. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104059>. [cit. 2023-11-10].
- [6] SHARMA, Heena; OZOGUL, Fatih; BARTKIENE, Elena a ROCHA, Joao Miguel. Impact of lactic acid bacteria and their metabolites on the techno-functional properties and health benefits of fermented dairy products. Online. *Food science and nutrition*. 2021, roč. 63, č. 21, s. 4819-4841. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.2007844>. [cit. 2023-11-20].
- [7] MORYA, Sonia; AWUCHI, Chinaza Godswill; NEUMANN, Arno; NAPOLES, Juan a KUMAR, Devendra. Chapter 7 - Advancement in acidophilus milk production technology. In: *Advances in Dairy Microbial Products*. Elsevier, 2022, s. 105-116. ISBN 0323857930. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85793-2.00016-3>.
- [8] GAO, Jie; LI, Xiyu; ZHANG, Guohua; SADIQ, Faizan Ahmed; SIMAL-GANDARA, Jesus et al. Probiotics in the dairy industry—Advances and opportunities. Online. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 2021, roč. 20, č. 4, s. 3937-3982. ISSN 1541-4337. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12755>. [cit. 2023-11-20].
- [9] ZIELIŃSKA, Dorota; MARCINIAK-LUKASIAK, Katarzyna; KARBOWIAK, Marcelina a LUKASIAK, Piotr. Effects of fructose and oligofructose addition on milk fermentation using novel lactobacillus cultures to obtain high-quality yogurt-like products. Online. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 2021, roč. 26, č. 19, s. 5730. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules26195730>. [cit. 2023-11-20].
- [10] DAHIYA, Praveen a JHA, Shipra. Chapter 5 - Recent trends in intellectual property rights protection in fermented dairy products. In: *Advances in Dairy Microbial Products*. Elsevier, 2022, s. 81-92. ISBN 0323857930. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85793-2.00027-8>.
- [11] ZAMBRINI, Angelo V a MUCCHETTI, Germano. Milk Preparation for Further Processing into Dairy Products. In: *Advances in Dairy Products*. Chichester, UK: John Wiley, 2017, s. 21-35. ISBN 1118906438. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781118906460.ch1b>.

- [12] KAILASAPATHY, Kasipathy. Chemical Composition, Physical, and Functional Properties of Milk and Milk Ingredients. In: *Dairy Processing & Quality Assurance*. 2nd Edition. Chichester, UK: John Wiley, 2016, s. 1-1. ISBN 9781118810316. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781118810279.ch04>.
- [13] ZHANG, Li; MI, Si; LIU, Ruo-bing; SANG, Ya-xin a WANG, Xiang-hong. Evaluation of Volatile Compounds during the Fermentation Process of Yogurts by *Streptococcus thermophilus* Based on Odor Activity Value and Heat Map Analysis. Online. *International journal of analytical chemistry*. 2020, roč. 2020, č. 2020, s. 1-10. ISSN 1687-8760. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2020/3242854>. [cit. 2023-12-19].
- [14] A New Synbiotic Fermented Dairy Product: Technological Production Features. Online. *Tehnika i tehnologija piševnih proizvodstv* (Online). 2021, roč. 51, č. 1, s. 17-28. ISSN 2074-9414. Dostupné z: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-17-28>. [cit. 2023-12-19].
- [15] SIDDIQUI, Shahida Anusha; EROL, Zeki; RUGJI, Jerina; TAŞÇI, Fulya; KAHRAMAN, Hatice Ahu et al. An overview of fermentation in the food industry - looking back from a new perspective. Online. *Bioresources and bioprocessing*. 2023, roč. 10, č. 1, s. 85-47. ISSN 2197-4365. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s40643-023-00702-y>. [cit. 2023-12-19].
- [16] MUNCAN, Jelena; TEI, Kyoko a TSENKOVA, Roumiana. Real-time monitoring of yogurt fermentation process by aquaphotomics near-infrared spectroscopy. Online. *Sensors*. 2021, roč. 21, č. 1, s. 1-18. ISSN 1424-8220. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/s21010177>. [cit. 2023-12-19].
- [17] Fermented Dairy Products. In: *Food Microbiology: Principles into Practice*. Chichester, UK: John Wiley, 2016, s. 253-287. ISBN 9781119237761. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781119237860.ch40>.
- [18] SAHU, Sradhanjali; CHOUDHURY, Priyanka; GOSWAMI, Luna a PAndA, Sandeep Kumar. Chapter 24 - Nanobiotechnology in fermented dairy products. In: *Advances in Dairy Microbial Products*. Elsevier, 2022, s. 347-355. ISBN 0323857930. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85793-2.00010-2>.
- [19] CASTRO, Filipa; DA SILVA, Nuno Ribeiro; SILVÉRIO, Sara Cruz; BALLESTEROS, Lina Fernanda a TEIXEIRA, José António. Chapter 17 - Unit operations for extraction and purification of biological products. In: *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, 2022, s. 455-495. ISBN 0323984835. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91167-2.00005-8>.
- [20] Drying of Fruits and Vegetables: The Impact of Different Drying Methods on Product Quality. In: *Advances in Heat Pump-Assisted Drying Technology*. CRC Press, 2016, s. 207-234. ISBN 9781498734998. Dostupné z: <https://doi.org/10.1201/b20209-16>.
- [21] ROOS, Yrjö H a LIVNEY, Yoav D. Freezing and Freeze-Drying. In: *Engineering Foods for Bioactives Stability and Delivery*. United States: Springer New York, 2016, s. 247-260. ISBN 9781493965939. ISSN 1571-0297. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6595-3_9.
- [22] GEORGIEV, Krassimir; KOSTURSKI, Nikola a MARGENOV, Svetozar. On the Numerical Solution of the Heat Transfer Equation in the Process of Freeze Drying.

- In: *LSSC*. 4818. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2008, s. 410-416. ISBN 9783540788256. ISSN 0302-9743. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-540-78827-0_46.
- [23] STRATTA, Lorenzo; CAPOZZI, Luigi C.; FRANZINO, Simone a PISANO, Roberto. Economic analysis of a freeze-drying cycle. Online. *Processes*. 2020, roč. 8, č. 11, s. 1-17. ISSN 2227-9717. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/pr8111399>. [cit. 2023-12-29].
- [24] Pilotní lyofilizátor genesis. Online. In: *Biotrade*. Dostupné z: https://www.biotrade.cz/obrazky/web/442pilotni-lyofilizator-genesis_st.jpg. [cit. 2024-01-12].
- [25] GEORGIEV, Krassimir; TODOROV, Michail a GEORGIEV, Ivan. Equivalence of Models of Freeze-Drying. In: *Advanced Computing in Industrial Mathematics*. 681. Switzerland: Springer International Publishing, 2017, s. 231-238. ISBN 3319495437. ISSN 1860-949X. Dostupné z: https://doi.org/10.1007/978-3-319-49544-6_19.
- [26] *Freeze-Drying Technology in Foods*. Basel, Switzerland: MDPI - Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2021. ISBN 3036500685. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/books978-3-0365-0069-0>.
- [27] BARRESI, Antonello A.; PISANO, Roberto a FISSORE, Davide. Advanced Control in Freeze-Drying. In: *Intelligent Control in Drying*. 1. CRC Press, 2019, s. 367-401. ISBN 9781138745810. Dostupné z: <https://doi.org/10.1201/9780429443183-19>.
- [28] ROSA, Elisama a PRUDENCIO, Elane Schwinden. A comprehensive approach about comparison between drying technologies and powdered dairy products. Online. *Food research international*. 2023, roč. 173, s. 113326-113326. ISSN 0963-9969. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113326>. [cit. 2023-12-29].
- [29] KUMAR, P. a MISHRA, H.N. Yoghurt Powder—A Review of Process Technology, Storage and Utilization. Online. *Food and bioproducts processing*. 2004, roč. 82, č. 2, s. 133-142. ISSN 0960-3085. Dostupné z: <https://doi.org/10.1205/0960308041614918>. [cit. 2024-03-09].
- [30] MALIK, Manisha a SHARMA, Alka. Optimisation of foam-mat drying of yoghurt and properties of powdered yoghurt. Online. *International journal of dairy technology*. 2019, roč. 72, č. 3, s. 381-387. ISSN 1364-727X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12594>. [cit. 2023-12-29].
- [31] TONTUL, İsmail; ERGIN, Firuze; EROĞLU, Emrah; KÜÇÜKÇETİN, Ahmet a TOPUZ, Ayhan. Physical and microbiological properties of yoghurt powder produced by refractance window drying. Online. *International dairy journal*. 2018, roč. 85, s. 169-176. ISSN 0958-6946. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.06.002>. [cit. 2023-12-29].
- [32] ROSENTHAL, Amauri. Powdered yoghurt produced by spray drying and freeze drying: a review. Online. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2018, roč. 21. ISSN 1981-6723. Dostupné z: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.12716>. [cit. 2023-12-29].
- [33] CHUTRTONG, Jaruwat. Survival of Probiotic Bacteria in Freeze - Dry Yogurt Starter Cultures Storage at 4 and 30 Degree Celsius. Online. *Procedia, social and behavioral sciences*. 2015, roč. 191, s. 2219-2225. ISSN 1877-0428. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.04.514>. [cit. 2023-12-29].

- [34] ÖZTÜRK, Hale İnci. The effect of different lyophilisation pressures on the microbiological stability, physicochemical, microstructural, and sensorial properties of yoghurt powders. Online. *International dairy journal*. 2022, roč. 129, s. 105347. ISSN 0958-6946. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105347>. [cit. 2024-03-09].
- [35] CARVALHO, Ana S.; SILVA, Joana; HO, Peter; TEIXEIRA, Paula; MALCATA, F.Xavier et al. Relevant factors for the preparation of freeze-dried lactic acid bacteria. Online. *International Dairy Journal*. 2004, roč. 14, č. 10, s. 835-847. ISSN 0958-6946. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.02.001>. [cit. 2024-03-09].
- [36] SAKIN-YILMAZER, Melike; KOÇ, Banu; BALKIR, Pinar a KAYMAK-ERTEKIN, Figen. Rheological behavior of reconstituted yoghurt powder—An optimization study. Online. *Powder Technology*. Elsevier, 2014, roč. 266, s. 433-439. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2014.06.060>. [cit. 2023-12-29].
- [37] KADLEC, Pavel; MELZOCH, Karel a VOLDŘICH, Michal. *Procesy a zařízení v potravinářství a biotechnologiích*. Ostrava: Key Publishing, 2013. ISBN 978-80-7418-163-4.
- [38] KADLEC, Pavel; MELZOCH, Karel a VOLDŘICH, Michal. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Monografie. Ostrava: Key Publishing, 2012. ISBN 978-80-7418-145-0. Dostupné také z: <http://www.digitalniknihovna.cz/mzk/uuid/uuid:45e27ff0-c971-11e9-af5a-005056827e51>.
- [39] DOSTÁLOVÁ, Jana a KADLEC, Pavel. *Potravinářské zbožíznalství: technologie potravin*. Monografie. Ostrava: Key Publishing, 2014. ISBN 978-80-7418-208-2. Dostupné také z: <http://www.digitalniknihovna.cz/mzk/uuid/uuid:d5dc2560-02ff-11e7-8830-005056827e51>.
- [40] ALVAREZ, Valente B. Sensory Evaluation of Milk and Milk Products. In: *Dairy Processing and Quality Assurance*. 2nd Edition. Chichester, UK: John Wiley, 2016, s. 1-1. ISBN 9781118810316. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781118810279.ch19>.
- [41] WANG, Liang; WU, Tao; ZHANG, Yi; YANG, Kangye; HE, Yuting et al. Comparative studies on the nutritional and physicochemical properties of yoghurts from cows', goats', and camels' milk powder. Online. *International dairy journal*. 2023, roč. 138, s. 105542. ISSN 0958-6946. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105542>. [cit. 2024-03-09].
- [42] DAN, Tong; HU, Haimin; LI, Ting; DAI, Annaer; HE, Binbin et al. Screening of mixed-species starter cultures for increasing flavour during fermentation of milk. Online. *International dairy journal*. 2022, roč. 135, s. 105473. ISSN 0958-6946. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2022.105473>. [cit. 2024-03-09].
- [43] CELIK, Omer Faruk a TEMIZ, Hasan. Traditional yogurt dilemma; rich flavor vs. Microbial safety: An investigation on volatile aroma profiles, chemical, and microbiological qualities of traditional yogurts. Online. *Journal of Central European Agriculture*. 2020, roč. 21, č. 3, s. 461-475. ISSN 1332-9049. Dostupné z: <https://doi.org/10.5513/JCEA01/21.3.2813>. [cit. 2024-03-09].
- [44] CHEN, Chen; ZHAO, Shanshan; HAO, Guangfei; YU, Haiyan; TIAN, Huaixiang et al. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. Online. *International journal*

- of food properties*. 2017, roč. 20, č. sup1, s. S316-S330. ISSN 1094-2912. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295988>. [cit. 2024-03-09].
- [45] TIAN, Huaixiang; YU, Benjie; YU, Haiyan a CHEN, Chen. Evaluation of the synergistic olfactory effects of diacetyl, acetaldehyde, and acetoin in a yogurt matrix using odor threshold, aroma intensity, and electronic nose analyses. Online. *Journal of dairy science*. 2020, roč. 103, č. 9, s. 7957-7967. ISSN 0022-0302. Dostupné z: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17495>. [cit. 2024-03-09].
- [46] KRASTANOV, Albert; GEORGIEV, Marin; SLAVCHEV, Aleksandar; BLAZHEVA, Denica; GORANOV, Bogdan et al. Design and Volatile Compound Profiling of Starter Cultures for Yogurt Preparation. Online. *Foods*. 2023, roč. 12, č. 2, s. 379. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/foods12020379>. [cit. 2024-03-09].
- [47] KATAOKA, H; LORD, H. L a PAWLISZYN, J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis: Chromatography and electrophoresis in food analysis. Online. *Journal of chromatography*. 2000, roč. 880, č. 1-2, s. 35-62. ISSN 0021-9673. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0021967300003095>. [cit. 2024-04-11].
- [48] BALASUBRAMANIAN, Sundar a PANIGRAHI, Suranjan. Solid-Phase Microextraction (SPME) Techniques for Quality Characterization of Food Products: A Review. Online. *Food and bioprocess technology*. 2011, roč. 4, č. 1, s. 1-26. ISSN 1935-5130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0299-3>. [cit. 2024-04-11].
- [49] SPIETELUN, Agata; KLOSKOWSKI, Adam; CHRZANOWSKI, Wojciech a NAMIEŚNIK, Jacek. Understanding Solid-Phase Microextraction: Key Factors Influencing the Extraction Process and Trends in Improving the Technique. Online. *Chemical reviews*. 2013, roč. 113, č. 3, s. 1667-1685. ISSN 0009-2665. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/cr300148j>. [cit. 2024-04-11].
- [50] PETER KUSCH. *Gas Chromatography: Derivatization, Sample Preparation, Application*. <https://directory.doabooks.org/handle/20.500.12854/130758>. IntechOpen, 2019. ISBN 1838818677. Dostupné z: <https://doi.org/10.5772/intechopen.73339>.
- [51] KENKEL, John. Gas Chromatography. In: *Analytical Chemistry for Technicians*. 4. CRC Press, 2014, s. 311-340. ISBN 1439881057. Dostupné z: <https://doi.org/10.1201/b15309-11>.
- [52] URBAN, Jiri. Schematic *GC instrument*. Online. In: Chromatographer. 2009. Dostupné z: <http://www.chromatographer.com/gas-chromatography/>. [cit. 2024-05-08].
- [53] SHILLITO, Lisa-marie. Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC/MS). In: *Archaeological Soil and Sediment Micromorphology*. Chichester, UK: John Wiley, 2017, s. 399-401. ISBN 1118941055. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781118941065.ch37>.
- [54] CORDERO, Chiara; LIBERTO, Erica; SGORBINI, Barbara; RUBIOLO, Patrizia a BICCHI, Carlo. Gas Chromatography. In: *Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications*. Elsevier Science & Technology, 2012, s. 311-373. ISBN 9780123848628. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384862-8.00011-X>.

- [55] ADAMOVIĆ, John A. a ESCHBACH, James C. Gas Chromatography. In: *Chromatographic Analysis of Pharmaceuticals*. 2. Routledge, 1997, s. 79-134. ISBN 0824797760. Dostupné z: <https://doi.org/10.1201/9781315139357-4>.
- [56] BERDIÉ RABANAQUE, Lourdes; FERNÁNDEZ VIDAL, Irene a TEIXIDOR CASAMITJANA, Pilar. Gas chromatography - Mass spectrometry. In: *Gas chromatography - Mass spectrometry*. Centres Científics i Tecnològics. Universitat de Barcelona, 2012. ISBN 9788461553730.
- [57] KOLAPKAR, Shreyas. *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) block diagram*. Online. In: ResearchGate GmbH. 2008. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/Gas-Chromatography-Mass-Spectrometry-GC-MS-block-diagram_fig9_328064295. [cit. 2024-05-08].
- [58] HRSTKA, Miroslav, Lenka SOMROVÁ a Pavel DIVIŠ, 2019. *Praktikum z analytické chemie potravin*. Vysoké učení technické v Brně Fakulta chemická. Brno.
- [59] PAVELKA, Antonín, 1996. *Mléčné výrobky pro vaše zdraví*. Brno: Litera. ISBN 80 85763-09-5.
- [60] CHENG, Hefa, 2010. Volatile Flavor Compounds in Yogurt: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 50(10), 938-950 [cit. 2024-05-08]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: [doi:10.1080/10408390903044081](https://doi.org/10.1080/10408390903044081)

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

<i>L. rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
<i>S. thermophilus</i>	Streptococcus thermophilus
Subs.	subspecies – poddruh
SPME	Solid-phase microextraction – mikroextrakce pevnou fází
GC	Plynová chromatografie
MS	Hmotnostní spektrometrie
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
HS-SPME-GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií ve spojení s mikroextrakcí pevnou fází
UO	Univerzita obrany
FCH	Fakulta chemická
VUT	Vysoké učení technické v Brně

8 PŘÍLOHY

Příloha 1 Dotazník sensorické analýzy lyofilizovaného jogurtu

Příloha 2 Dotazník sensorické analýzy čerstvého jogurtu s jogurty
rekonstituovanými

Příloha 3 Ukázka chromatogramu rekonstituovaného jogurtu s 50 % vody

Příloha 1 Senzorické hodnocení lyofilizovaného jogurtu – spotřebitelský dotazník

Hodnotitel: Věk:

Pohlaví: Muž Žena

Kuřák: Ano Ne

A. Znáte lyofilizované produkty?

ano, pravidelně je konzumuji

Které?

ano, občas je konzumuji

Které?

ano, ale nekonzumuji je

neznám

B. Setkal/a jste se s lyofilizovaným jogurtem, příp. jiným fermentovaným mléčným výrobkem?

ano

ne

S jakým?

Kde?

**C. Ochutnejte předložený vzorek lyofilizovaného jogurtu a posuďte jeho chutnost.
Vzorek je**

- výborný
- velmi dobrý
- dobrý
- nic moc
- nechutná mi

Příp. připomínky, vady

D. Byl/a byste ochoten/ochotna si ho koupit?

- ano
- ne

E. Jaké byste doporučil/a jeho použití?

- jako pochutinu k přímé konzumaci
- jako přídavek do jiných potravin nebo nápojů pro ochucení, příp. zvýšení nutriční hodnoty
- jiné

Příp. jaké?.....

Děkujeme za spolupráci.

Popis krajních bodů:

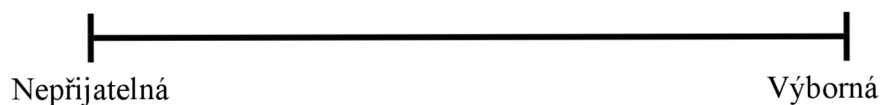
Výborná – barva smetanová, lesklá, stejnorodá, bez cizích odstínů. Vzhled čistý, hladký, lesklý, homogenní

Nepřijatelná – barva netypická (nažloutlá, nazelenalá aj.), vyvstávající syrovátka, nehomogenní vzhled, přítomnost bublinek a jiné vady

Připomínky

Konzistence (textura)

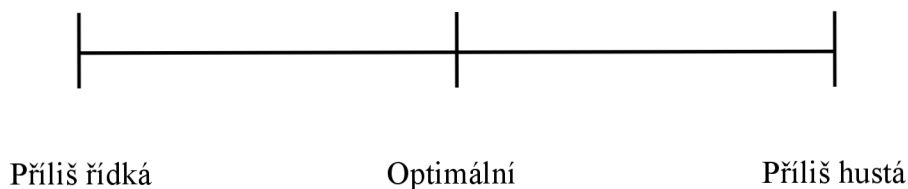
Pomocí uvedených grafických stupnic ohodnoťte texturu (hustotu, viskozitu) vzorků (do stupnice запиšte kódy vzorků).



Popis krajních bodů:

Výborná – jemná, krémovitá, hladká, viskosní, homogenní, stejnorodá

Nepřijatelná – nestejnorodá, nehomogenní, příliš řídká až vodnatá, mazlavá, hrudkovitá, krupičkovitá aj. vady

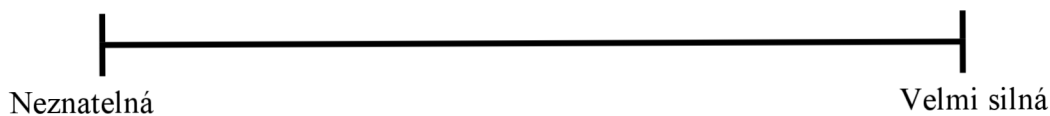


Připomínky

Vůně

Pomocí uvedených grafických stupnic ohodnoťte vůni vzorků (do stupnice запиšte kódy vzorků).

Intenzita vůně

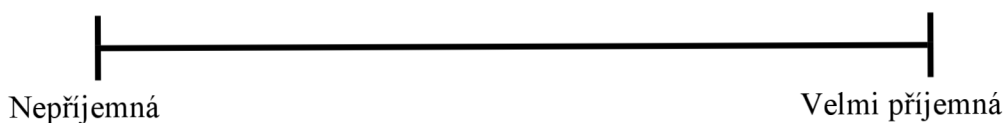


Příjemnost vůně

Popis krajních bodů:

Velmi příjemná – čistá, mléčná, mírně nakyslá

Nepříjemná – nečistá, nepříjemná, ostře kyselá, případné jiné vady

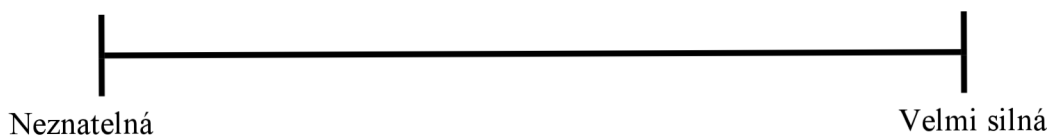


Připomínky

Chuť

Pomocí uvedených grafických stupnic ohodnoťte chuť vzorků (do stupnice запиšte kódy vzorků).

Intenzita chuti

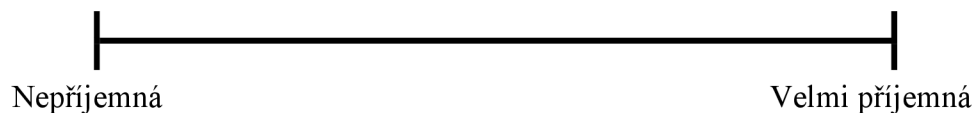


Příjemnost chuti

Popis krajních bodů:

Velmi příjemná – čistá, smetanová, jemně mléčně nakyslá, jogurtová

Nepříjemná – málo nebo naopak příliš kyselá, nepříjemná, nahořklá, cizí pachuti a jiné vady



Připomínky

Příp. pachut'?

Pořadová zkouška

V následující tabulce seřaďte vzorky podle **celkové přijatelnosti**.

Pořadí vzorků	1. (nejlepší)	2.	3. (nejhorší)
Kód vzorku			

Párová porovnávací zkouška

Označte vzorek, který je lepší, chutnější, kterému byste dali přednost.

	1. lepší	2. horší
Kód vzorku		

Příloha 3 Ukázka chromatogramu rekonstituovaného jogurtu s 50 % vody; identifikace sloučenin viz Tabulka 4

