



# 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

## LYOFILIZOVANÝ JOGURT – CHEMICKÁ, MIKROBIOLOGICKÁ A SENZORICKÁ CHARAKTERIZACE

LYOPHILIZED YOGURT - CHEMICAL, MICROBIOLOGICAL AND SENSORY CHARACTERIZATION

### DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Jakub Kirchdorfer

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.

BRNO 2025

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP2083/2024 Akademický rok: 2024/25  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Student: **Bc. Jakub Kirchdorfer**  
Studijní program: Chemie přírodních látek  
Studijní obor: bez specializace  
Vedoucí práce: **doc. Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

### Název diplomové práce:

Lyofilizovaný jogurt – chemická, mikrobiologická a senzorická charakterizace

### Zadání diplomové práce:

- Zpracujte literární přehled dané problematiky:
  - lyofilizace – princip, popis, lyofilizované fermentované mléčné výrobky
  - možnosti stanovení těkavých látek v jogurtu – přehled aplikací
  - možnosti senzorického hodnocení jogurtu – přehled aplikací
  - možnosti identifikace mikrobiálních kultur – přehled aplikací na jogurty
- Optimalizujte a standardizujte postup výroby lyofilizovaného jogurtu
- Pomocí vybraných metod posuďte profil těkavých látek, mikrobiální profil a celkovou senzorickou kvalitu modelových vzorků čerstvého/lyofilizovaného/rekonstituovaného jogurtu
- Vyhodnoťte vliv lyofilizace na uvedené parametry

### Termín odevzdání diplomové práce: 5.5.2025:

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

-----  
Bc. Jakub Kirchdorfer  
student

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

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 3.2.2025

-----  
prof. Ing. Michal Veselý, CSc.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Tato diplomová práce se zabývá výrobou lyofilizovaného jogurtu, jeho optimalizací, charakterizací z hlediska sensorické kvality, profilu aromatických látek a mikrobiologického profilu.

V experimentální části byla nejprve optimalizována výroba jogurtu. Pro dosažení správné konzistence byl zvýšen obsah sušiny přidávkem sušeného odtučněného mléka. Na základě sensorického hodnocení pomocí grafické stupnice a párové porovnávací zkoušky byl zvolen přídatek sušeného mléka 10 % hm., který jogurtu dodal příjemnou chuť a žádoucí hustou krémovitou konzistenci, která byla potvrzena i reologickým měřením.

Z optimálního vzorku byl vyroben lyofilizovaný jogurt, který byl následně rekonstituován. Opět na základě sensorické a reologické analýzy byl jako optimální vybrán jogurt se 75 % hm. původně odstraněné vody, který vykazoval podobné texturní vlastnosti jako jogurt čerstvý.

Pro zjištění vlivu lyofilizace byly vzorky čerstvého a rekonstituovaného jogurtu podrobeny mikrobiologické a molekulárně biologické (PCR) analýze, kde bylo zjištěno, že lyofilizace má vliv na životaschopnost buněk, respektive laktobacilů.

Při analýze aromatických sloučenin pomocí HS-SPME-GC-MS byl prokázán mírně odlišný aromatický profil jogurtu po rekonstituci. Celkem bylo identifikováno 44 sloučenin. Ve všech vzorcích převládaly kyseliny, aldehydy a ketony. Z látek byly nejvíce zastoupeny kyseliny octová, oktanová a hexanová spolu s acetoinem.

A v neposlední řadě byly vzorky podrobeny sensorickému hodnocení z hlediska vzhledu, barvy, textury, vůně a chuti. Většina hodnotitelů preferovala čerstvý jogurt kvůli hladké konzistenci a svěží chuti oproti kyselejšímu a jemně hrudkovitému rekonstituovanému jogurtu.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Jogurt, lyofilizace, aromatické látky, sensorická kvalita, SPME, GC-MS, PCR

## **ABSTRACT**

This thesis deals with the production of freeze-dried yogurt, its optimization, characterization in terms of sensory quality, flavour and microbiological profile.

In the experimental part, the production process of yogurt samples was optimised. To achieve the right consistency, the dry matter content was increased by the addition of non-fat milk powder. As a result of sensory evaluation, where a graphic scale and a paired comparison test was used, the optimum addition of milk powder was 10 % w/w, which gave the sample a pleasant taste and desired thick and creamy yogurt consistency, which was also confirmed by rheological measurements.

Freeze-dried yogurt was produced from the optimum sample and then reconstituted. Based on sensory and rheological analysis a yogurt with the addition of 75 % w/w water initially removed was selected as the optimum yogurt, which had similar characteristics of the fresh yogurt.

To investigate the effect of freeze-drying, fresh and reconstituted yogurt samples were subjected to microbiological and molecular biological (PCR) analysis, where it was found that freeze-drying had an effect cell viability specifically lactobacilli.

In the analysis of aromatic compounds by HS-SPME-GC-MS, a slightly different aromatic profile of yoghurt after reconstitution was determined. In total, 44 compounds were identified. Acids, aldehydes and ketones were predominant in all samples. The most abundant compounds were acetic, octanoic and hexanoic acid together with acetoin.

Finally, the samples were subjected to sensory evaluation in terms of appearance, colour, texture, aroma and taste. Most evaluators preferred fresh yogurt because of its smooth consistency and fresh taste compared to more acidic and slightly lumpy reconstituted yogurt.

## **KEY WORDS**

Yogurt, freeze-drying, aroma compounds, sensory quality, SPME, GC-MS, PCR

KIRCHDORFER, Jakub. Lyofilizovaný jogurt – chemická, mikrobiologická a senzorická charakterizace. Online, diplomová práce. Eva VÍTOVÁ (vedoucí práce). Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2025. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/161989>. [cit. 2025-04-26].

## **PROHLÁŠENÍ**

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

.....  
podpis studenta

## **PODĚKOVÁNÍ**

*Rád bych poděkoval vedoucí své diplomové práce paní doc. Ing. Evě Vítové, Ph.D. a Ing. Štěpánce Trachtové, Ph.D. za cenné rady, ochotu a odborné vedení při zpracování této diplomové práce.*

## OBSAH

1	ÚVOD.....	8
2	TEORETICKÁ ČÁST .....	9
2.1	Jogurt .....	9
2.1.1	Technologie výroby jogurtu .....	9
2.1.2	Zdravotní benefity .....	10
2.1.3	Bakterie mléčného kvašení.....	11
2.1.4	Mikrobiální profil jogurtu .....	12
2.1.5	Identifikace mikrobiálních kultur – aplikace na jogurt .....	13
2.1.5.1	Polymerázová řetězová reakce .....	14
2.1.6	Senzorická analýza jogurtu .....	15
2.1.6.1	Možnosti senzorického hodnocení jogurtu.....	16
2.1.7	Reologie.....	16
2.1.7.1	Reologické (texturní) vlastnosti jogurtu .....	17
2.1.8	Aromatické látky jogurtu.....	17
2.1.9	Metody stanovení těkavých látek jogurtu .....	18
2.1.9.1	SPME GC-MS .....	18
2.1.9.2	Elektronický nos .....	19
2.1.9.3	Nukleární magnetická rezonance.....	20
2.2	Lyofilizace .....	20
2.2.1	Proces lyofilizace .....	21
2.2.2	Lyofilizátor .....	21
2.2.3	Lyofilizace fermentovaných mléčných výrobků.....	21
2.2.4	Lyofilizace jogurtu .....	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	Chemikálie.....	24
3.1.4	Plyny.....	24
3.1.5	Suroviny pro výrobu jogurtové kultury a jogurtů .....	24
3.2	Analyzované vzorky .....	25
3.2.1	Postup výroby jogurtové kultury.....	25
3.2.2	Postup výroby jogurtu .....	25
3.3	Výroba lyofilizovaného jogurtu.....	26
3.4	Použité metody a experimentální postupy .....	26
3.4.1	Senzorická analýza .....	26
3.4.2	Stanovení těkavých látek.....	27
3.4.3	Podmínky SPME extrakce.....	27
3.4.4	Podmínky GC-MS analýzy .....	27
3.4.4.1	Identifikace a kvantifikace těkavých látek .....	28
3.5	Mikrobiologické vyšetření.....	28
3.5.1	Příprava kultivačních médií.....	28

3.5.2	Odhad počtu mikroorganismů pomocí McFarlandovy metody .....	28
3.5.3	Příprava hrubého lyzátu.....	29
3.5.4	Izolace DNA fenolovou extrakcí.....	29
3.5.5	Stanovení čistoty DNA.....	30
3.5.6	PCR v reálném čase.....	30
3.6	Stanovení sušiny .....	32
3.7	Reologická analýza .....	33
3.8	Statistické zpracování výsledků.....	34
4	VÝSLEDKY A DISKUZE .....	35
4.1	Příprava jogurtové kultury .....	35
4.2	Optimalizace výroby jogurtu .....	35
4.2.1	Senzorické hodnocení textury .....	36
4.2.2	Reologická analýza čerstvého jogurtu.....	38
4.2.3	Stanovení sušiny.....	39
4.3	Lyofilizace jogurtu.....	40
4.3.1	Charakterizace lyofilizovaného jogurtu .....	40
4.4	Rekonstituce lyofilizovaného jogurtu.....	40
4.4.1	Senzorické hodnocení.....	41
4.4.2	Reologická analýza.....	42
4.4.3	Porovnání reologických analýz – čerstvý vs. rekonstituovaný .....	43
4.4.4	Stanovení sušiny.....	45
4.5	Charakterizace vyrobených vzorků .....	45
4.5.1	Stanovení těkavých látek.....	45
4.5.1.1	Optimalizace metody GC-MS .....	45
4.5.1.2	Analýza vzorků.....	49
4.5.2	Mikrobiální profil.....	52
4.5.2.1	Odhad počtu mikroorganismů .....	52
4.5.2.2	Průkaz mikrobiální DNA.....	53
4.5.2.3	Průkaz jogurtové kultury .....	54
4.5.3	Senzorická analýza .....	56
4.5.3.1	Hodnocení vzhledu a barvy .....	56
4.5.3.2	Hodnocení textury .....	57
4.5.3.3	Hodnocení vůně.....	58
4.5.3.4	Hodnocení chutě .....	59
4.5.3.5	Párová porovnávací zkouška .....	60
5	ZÁVĚR.....	61
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....	62
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	70
8	PŘÍLOHY.....	71

# 1 ÚVOD

Jogurt představuje jeden z nejvýznamnějších a nejoblíbenějších fermentovaných mléčných výrobků na trhu. Jeho konzumace je spojována s řadou benefitů jako je zlepšení zažívání či prevence proti rakovině tlustého střeva a konečníku. Bakterie mléčného kvašení, které se pro výrobu jogurtu používají, napomáhají k udržení zdravé střevní mikroflóry, s níž jsou spojovány benefity vyplývající z konzumace jogurtů. Tyto bakterie způsobují okyselení mléka, kde přeměňují laktózu na kyselinu mléčnou. Tímto procesem vzniká tradiční gelovitá struktura jogurtu. Výroba jogurtu prošla velkým vývojem, v dávných dobách jogurt vyráběli spontánní fermentací, až po přítomnost, kdy se jogurty vyrábí za pečlivě vybraných podmínek a výběrem vhodných startovacích kultur. Nutriční hodnotu a chuť jogurtu může ovlivnit mnoho faktorů jako je roční období, původ mléka či výživa zvířat.

Lyofilizace neboli sušení mrazem je významným procesem využívaným nejen v potravinářství, jelikož umožňuje získání produktů s prodlouženou dobou trvanlivosti. To je žádoucí i u jogurtu, neboť práškový jogurt si po sušení zachovává řadu nutričních vlastností a zároveň se při jeho správném skladování prodlouží doba trvanlivosti.

Tato práce se zabývá optimalizací výroby lyofilizovaného jogurtu a jeho chemickou, mikrobiologickou a senzoryckou charakterizací. Cílem bylo posoudit vliv lyofilizace na sledované parametry.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Jogurt

Fermentované mléčné výrobky včetně jogurtu jsou konzumovány již od domestikace savců. Jogurt patří k produktům, jejichž původ pochází ze Středního východu [1]. To z jogurtu dělá mléčný výrobek, vyráběný po celá staletí [2]. Průmyslově se začal vyrábět až na konci dvacátého století, kdy se stal výnosným zbožím pro obchodování. V posledních dvaceti letech se zájem o jeho výrobu a výzkum zvýšil a vzniklo několik možných variant, které jsou zdraví prospěšnější a sensoricky chutnější než kdy dříve [1].

Je považován za klasický mléčný výrobek s příjemnou hustou texturou, který je vhodný ke snídani nebo jako dezert [3]. V posledních letech se stal jedním z nejvíce konzumovaných fermentovaných mléčných výrobků na trhu. Z chemického hlediska je jogurt komplexní systém skládající se z proteinů, polysacharidů a lipidů, které spolu vytváří gelovitou strukturu [4].

Dle české legislativy (vyhláška č. 397/2016 Sb.) je jogurt definován jako „kysaný mléčný výrobek získaný kysáním mléka, smetany, podmáslí nebo jejich směsi pomocí mikroorganismů uvedených v příloze č. 1 (symbiotická směs *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“. Požadovaná mléčná mikroflóra v jogurtu by měla být  $10^7$  v 1 g výrobku [5].

Jedná se o mléčný výrobek s vyváženým obsahem tuku (0–3,5 %), proteinu (5–6 %), laktózy (4,6–5,2 %) a minerálních látek jako jsou vápník, sodík, draslík, hořčík, železo či zinek [4]. Obsahuje vysoký podíl vápníku a je bohatý na fosfor, draslík, vitaminy skupiny B a vitamin A [2]. Pro svůj obsah aminokyselin a bioaktivních složek jako je kyselina mléčná či vitaminy rozpustné v tucích je doporučován při různých dietách [6].

Tento fermentovaný mléčný produkt je připravován pomocí naočkování mléka startovací kulturou obsahující bakterie mléčného kvašení [2]. Při výrobě je možné k jogurtové kultuře přidat další prospěšné druhy bakterií mléčného kvašení [6].

#### 2.1.1 Technologie výroby jogurtu

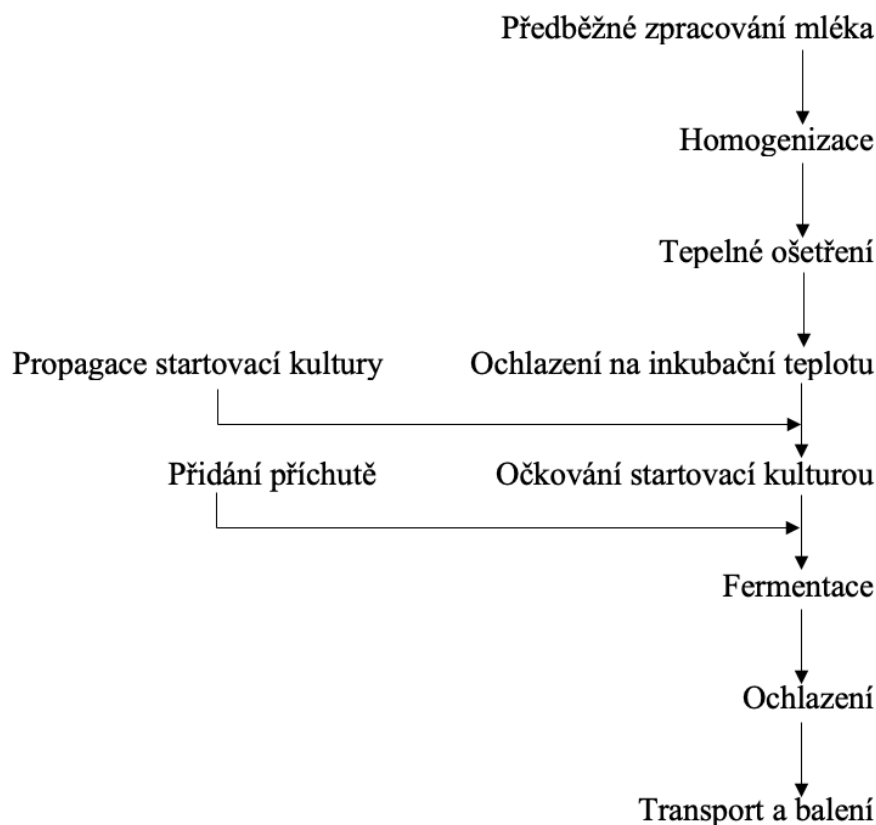
Při výrobě jogurtu je syrové mléko nejprve standardizováno. Tuk je odstraněn pomocí centrifugace pro dosažení potřebného procenta tuku. Odtučněné jogurty by neměly mít více než 0,01 % tuku, nízkotučné obsahují 1–2 % tuku a plnotučné jogurty mají více než 3,2 % tuku. Pro zlepšení struktury může být přidán syrovátkový či kaseinový protein. Tradičnější a více používanou metodou je však přidavek sušeného mléka. V této fázi přípravy jogurtu se do mléka před zaočkováním mohou přidat sladila či stabilizátory [7].

Po standardizaci je dále mléko ošetřeno pasterací. Ta může být provedena dvěma způsoby. Prvním způsobem je záhřev na teplotu 90–95 °C po dobu 1 minuty až několika minut, druhým způsobem je záhřev na 85 °C po dobu 30 minut [8]. Teplotní ošetření zajistí nezávadnost mléka z hlediska kontaminace patogenními mikroorganismy a dochází také k denaturaci syrovátkových bílkovin, díky čemuž získá výsledný výrobek hustší konzistenci [7]. Po ohřevu je mléko zchlazeno na teplotu 40–45 °C a poté může být zaočkováno příslušnou kulturou [8].

Kultura používaná pro výrobu jogurtu se skládá ze dvou bakterií mléčného kvašení – *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (1:1) [9].

Das a kol. [10] říkají, že výběr kultury je jedno z nejdůležitějších kritérií při výrobě jogurtu a obecně všech fermentovaných mléčných výrobků. Pokud by byl použit jen jeden z mikroorganismů běžně používané jogurtové kultury, jogurt by nevznikl.

Celá fermentace probíhá při kontrolované teplotě za občasného kontrolování pH [10]. Poté co je dosaženo příslušného pH (4,7–4,3) je jogurt zchlazen na teplotu kolem 5 °C [11]. Zchlazení zabrání dalšímu růstu bakterií a s tím spojenému růstu kyselosti jogurtu. Může být provedeno buď jednofázové chlazení, kde se jogurt rychle zchladí na teplotu pod 10 °C, nebo dvoufázové, kdy se jogurt zchladí na teplotu pod 20 °C a poté postupně chladí na teplotu 5 °C. Tento způsob se používá, když je do jogurtu přidáváno ovoce [1]. Jednoduché schéma výroby jogurtu je uvedeno na Obr. 1.



Obrázek 1: Schéma technologie výroby jogurtu [převzato z: 12]

### 2.1.2 Zdravotní benefity

Jogurt si získal velkou přízeň u spotřebitelů, díky svým výživovým hodnotám a zdravotním benefitům, které jeho konzumace přináší [2].

Dle Murette a Picard-Deland [13] má jogurt pozitivní vliv na zdraví dětí, jak díky svému množství makronutrientů, tak esenciálních mikronutrientů. Mezi makronutrienty obsažené v jogurtu patří proteiny, mastné kyseliny či laktóza. Mikronutrienty jsou vápník, draslík, zinek, fosfor, hořčík a vitaminy skupiny B, respektive vitamin B2, B5 a B12. V jogurtu je obsaženo i množství vitamínu A.

Murette a Picard-Delane [13] říkají, že díky snadno stravitelným proteinům v jogurtu, přispívá jeho konzumace nejen u dětí k vyššímu příjmu zdravých prospěšných proteinů a tím

napomáhá k růstu či udržení svalové hmoty. Studie ukázaly, že některé nutrienty v jogurtu mají velký vliv na vývoj a růst jedince.

Konzumace jogurtu zlepšuje celkové zdraví člověka z hlediska kostí či zažívání [2]. Díky tomu, že jogurt vzniká za účasti bakterií je také skvělým zdrojem zdraví prospěšných bakterií – probiotik, které hrají důležitou roli při zažívání [14]. Kultura obecně prodlužuje trvanlivost výrobku. Studie ukázaly, že konzumace jogurtu snižuje riziko výskytu diabetu [2]. Obsah proteinů či peptidů, specifických tuků, vitamínu D, vápníku a hořčičku v jogurtu mají příznivý vliv při kardiovaskulárních onemocnění [13].

Castellone a kol. [6] říkají, že jogurt je také zdrojem konjugované kyseliny linolové, která je známa svojí protirakovinnou aktivitou a indukcí apoptózy v rakovinových buňkách. Všechny zdraví prospěšné látky či prekurzory jsou přítomné již v mléce. Proces fermentace je však nezbytný k jejich maximální využitelnosti a uvolnění do jogurtu.

Díky kyselině mléčné, která vzniká při fermentaci a snižuje pH je zamezováno rozvoji nežádoucích mikroorganismů. Bakterie přítomné v jogurtu jsou schopny inhibovat růst a rozvoj některých patogenních bakterií jako je *E. coli* a *Salmonella enteritidis*. Předpokládá se, že konzumace jogurtu brání infekci a zánětům trávicího traktu a živé bakterie také obecně brání kolonizaci trávicího systému patogenními bakteriemi, které se do těla člověka mohou dostat konzumací kontaminovaných potravin [14].

### 2.1.3 Bakterie mléčného kvašení

Fermentace je jedna z nejstarších biotechnologických technik používaných v produkci potravin. V současnosti se jedná o jeden z hlavních procesů používaných v potravinářství. Fermentované produkty jako je sýr, sójová omáčka, víno, pivo či chléb jsou vyráběny od počátku civilizace. Fermentace různých druhů potravin za účasti bakterií mléčného kvašení (BMK) je jedním z nejstarších způsobů uchování potravin. Dříve však byla fermentace spíše spontánní než cílená [15].

Bakterie mléčného kvašení tvoří širokou skupinu mikroorganismů a jsou často spojovány s produkcí fermentovaných mléčných výrobků jako je jogurt či sýr [16]. Fermentace pomocí BMK dodává potravinám prodlouženou dobu trvanlivosti, ale také zlepšuje senzorycké vlastnosti [15].

BMK jsou považovány za zdraví prospěšné a některé druhy jsou dokonce označovány jako probiotické [7]. Dle Ayivi a kol. [16] byl pozitivní vliv na lidské zdraví zaznamenán již při jejich přiměřeném podávání. BMK produkují sloučeniny, které přispívají k textuře, chuti a aroma výrobku, díky těmto látkám dostává výrobek nezaměnitelné a charakteristické organoleptické vlastnosti.

BMK jsou používány k okyselení mléka a tím k výrobě fermentovaných mléčných výrobků jako je jogurt, sýr, máslo či zakysaná smetana [15]. Mohou být rozděleny do dvou kategorií – mezofilní a termofilní. Mezofilní druhy bakterií mají optimální teplotu růstu v rozmezí 20–30 °C a termofilní 30–45 °C. Mohou být také rozděleny podle toho, jaký je jejich konečný produkt při fermentaci glukózy [17].

Bakterie, jejichž konečným produktem fermentace je kyselina mléčná jsou homofermentativní a patří mezi ně rody *Pediococcus*, *Streptococcus* a *Lactococcus*. Mezi heterofermentativní bakterie patří *Weissella* a *Leuconostoc*. Konečným produktem těchto bakterií při fermentaci je laktát, oxid uhličitý a ethanol [17].

Teshome [17] uvádí, že jediným důvodem pro využívání BMK není pouze prodloužení trvanlivosti mléka a výrobků z něj, ale také udržení nutričních látek mléka. Přítomnost mléčných bakterií může být také spontánní, jelikož je mléko jejich přirozeným prostředím.

Nejenomže BMK napomáhají k delší čerstvosti potravin, ale také díky metabolitům, které produkují, inhibují další mikroorganismy, které by mohly kontaminovat potravinu, a tak ji znehodnotit. Mezi tyto metabolity patří kyselina mléčná, kyselina octová a další nízkomolekulární látky jako je diacetyl a mastné kyseliny [15].

Dalším pozitivním účinkem používání BMK při fermentaci je snížení množství používaných chemických konzervantů, které by se jinak musely použít při výrobě potravin. Tyto bakterie jsou všeobecně považovány za bezpečné (GRAS – Generally Recognized as Safe), a proto jsou široce využívány v potravinářství. Mají také velký podíl ve vytváření lidské mikroflóry zažívacího traktu [15].

#### 2.1.4 Mikrobiální profil jogurtu

Jogurt je vyráběn koagulací mléka účinkem kyseliny mléčné pomocí BMK (*Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus bulgaricus*). *S. thermophilus* a *L. bulgaricus* při anaerobních podmínkách za účasti enzymů laktázy rozkládají cukerné složky laktózy – glukóza a galaktóza [18]. Jsou to termofilní bakterie mléčného kvašení a patří mezi gram pozitivní, anaerobní a aerotolerantní [7]. V některých zemích nazývají „jogurtem“ jen takové produkty, které jsou vyrobeny za účasti pouze těchto dvou bakterií [19].

Laktóza je hlavním zdrojem energie a uhlíku pro BMK a díky jejich schopnosti rozkládat laktózu dostává jogurt svoji charakteristickou kyselou chuť [20].

Při výrobě jogurtu je důležitý správný poměr těchto bakterií [21]. Tento parametr je důležitý, jelikož různý poměr *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *S. thermophilus* v jogurtových kulturách má významný vliv na dobu fermentace či viskozitu jogurtu [16]. Obecně je poměr těchto bakterií 1:1 či 1:2 (*L. bulgaricus*:*S. thermophilus*). Obě tyto bakterie spolu dokáží ve směsi koexistovat. Při fermentaci dochází ke vzájemné výměně metabolitů, které jsou potřeba ke správnému růstu [4].

Při fermentaci bakterie jogurtové kultury vykonávají několik biochemických pochodů současně – glykolýza, kdy přeměňují cukry na kyselinu mléčnou, proteolýza, kde dochází k hydrolyze kaseinu na peptidy a volné aminokyseliny a lipolýza, při níž bakterie štěpí mléčný tuk na volné mastné kyseliny [22].

Dle Fetouh a kol. [23] se mikrobiologický profil jogurtu výrazně odráží na kvalitě a přijatelnosti výrobku.

Jogurty jsou obecně považovány za zdravotně nezávadné. Nezávadnost je jim přisuzována díky tepelně upravenému mléku při výrobě, uchování v chladničce a přítomnosti mikroorganismů, které snižují pH produktu. Tyto faktory zamezují růstu většině nežádoucích mikroorganismů [24].

Ke kontaminaci však může dojít při všech krocích přípravy jogurtu. Primárním zdrojem kontaminace může být samotné zvíře, krmivo a prostředí, ve kterém jsou zvířata chována. Z prostředí může pocházet několik možných patogenních mikroorganismů jako je *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. či *Yersinia enterocolitica*. Tyto bakterie jsou běžně spojovány s kontaminací potravin. Ke kontaminaci může ale dojít i při přepravě mléka, skladování a při zpracování surovin [25].

Všechny tyto faktory by mohly mít negativní dopad na fyzické zdraví spotřebitelů [23]. Při dodržování hygieny a čistého prostředí by neměl jogurt představovat žádné riziko [24]. Avšak ani při pasteraci mléka nemusí zcela dojít ke zničení spor kontaminujících mikroorganismů [26].

Hlavní kontaminanty, vyskytující se v jogurtu mohou být různé plísně a jejich toxiny. Patří mezi ně druhy plísní jako je *Aspergillus niger* či *Asperigillus gumigatus* a další druhy plísní, které přežijí nízké pH [23]. Jejich přítomnost má vliv na sensorické vlastnosti a vzhled výrobku [24].

Wang a kol. [24] uvádí, že kvasinky jsou také jedním z možných kontaminantů jogurtů a představují riziko pro potravinářský průmysl kvůli znehodnocení a následné ztrátě produktů. Fetouh a kol. [23] zmiňují další možné patogeny vyskytující se v jogurtu, jako například *E. coli*, *E. faecalis* nebo třeba *B. cereus*. Mohou se ve výrobku vyskytnout kvůli špatné sanitaci výrobních linek, kontaminovaným nástrojům či špatné hygieně samotných pracovníků.

Marette a Picar-Delane [13] uvádí, že jogurt může být brán jako regulátor střevní mikrobioty. Střevní mikroflóra je v dnešní době považována za důležitý faktor v určování zdraví jedince. I když je aktivita střevního mikrobiomu stabilní, může být ovlivněna faktory jako je věk a strava. Bylo dokázáno, že aktivita a složení střevního mikrobiomu souvisí i s obezitou či inzulinovou rezistencí. Konzumace jogurtu zajišťuje změny rovnováhy a metabolické aktivity mikroorganismů obývajících střevní trakt.

### **2.1.5 Identifikace mikrobiálních kultur – aplikace na jogurt**

Fermentované mléčné výrobky (FMV) a zvláště jogurt jsou považovány za jedny z nejžádanějších potravin, kvůli svým zdravotním benefitům, které jejich složení přináší. Proto také patří k potravinám, které se často falšují [27].

Pro identifikaci mylného označení je používána polymerázová řetězová reakce (PCR). Správná identifikace je důležitá z hlediska informování zákazníka už kvůli alergiím nebo pouhým preferencím [27]. Biçer a kol. [27] zkoumali využitelnost PCR při určování pravosti mléka použitého v ovčím jogurtu. Zjistili, že tato metoda je vysoce citlivá na detekci falšovaných potravin a mohla by být běžně používanou metodou při určování pravosti.

Pro zjištění a identifikaci mléčné mikrobiální kultury je základem standardní kultivační, příp. mikroskopické vyšetření. Prvním krokem je správné ředění vzorku. Většinou se jedná o naředění daného množství vzorku jogurtu ve sterilované vodě. Obvykle je pro tyto účely vybráno ředění  $10^{-4}$  či  $10^{-5}$  [28]. Poté je obvykle 0,1 ml vzorku daného ředění rozetřeno na živné médium, v případě jogurtů je využíván MRS agar, který se používá jako živné médium pro stanovení BMK [29]. Doporučené podmínky kultivace – 37 °C po dobu 48–72 hodin [30].

Při identifikaci jak už samotné jogurtové kultury, tak i patogenních mikroorganismů je využívána metoda PCR [23]. Miller a kol. [31] říkají, že využití plotnových metod není příliš přesné, vzhledem k tomu, že kolonie bakterií jsou si fenotypově velmi podobné, a proto by mohlo dojít k nepřesnému určení kultury. Kvůli tomu se využívá metoda PCR, respektive kvantitativní PCR, která pomáhá od sebe druhy rozlišit. Tato metoda pomáhá k lepšímu a přesnějšímu rozlišení mikroorganismů.

Při analýze zabývající se pravostí původních surovin či kvality je u mléčných výrobků je využíváno technik založených na metabolomice, kde jednou z hojně používaných metod je nukleární magnetická rezonance (NMR). Tato metoda má za úkol rychle a správně určit

metabolity vznikající při fermentaci [32]. Tato skutečnost může pomoci při identifikaci jak substrátu, tak samotné kultury použité při výrobě [3].

### 2.1.5.1 Polymerázová řetězová reakce

PCR (polymerázová řetězová reakce) je jednou z nejdůležitějších technik molekulární biologie. Je běžně používána k vytváření mnoha kopií určitého segmentu DNA pomocí oligonukleotidových primerů [33].

Při PCR je využíván princip syntézy nového vlákna, která spočívá v hybridizaci specifických primerů „*in vitro*“. Výsledkem jsou miliony kopií, které jsou těmito primery označeny. Pro ověření velikosti molekul je využívána gelová elektroforéza, která je nejjednodušší a nejběžnější metodou pro potvrzení velikosti molekul [34].

Tato metoda našla uplatnění nejen v medicíně, ale i zemědělství či kriminalistice. Díky zavedeným standardním postupům je PCR považována za spolehlivou a relativně levnou techniku [33]. V potravinářství je důležitou metodou například v případě geneticky modifikovaných organismů nebo alergenů a jejich kvantifikace, kterou vyžadují legislativní požadavky [34].

K amplifikaci DNA je nutná reakční směs pro PCR. Ta obsahuje primery, termostabilní enzym DNA polymerázu, chlorid hořečnatý a také PCR vodu (Nuclease-free Water – deionizovaná voda bez DNázy, RNázy a nukleáz). PCR směs zahrnuje i templátovou DNA, která je určená k replikaci [35]. PCR je popisována třemi fázemi – denaturace, annealing a elongace.

- Denaturací dochází k rozdělení dvoušroubovice DNA při teplotách 94–96 °C. DNA je rozdělena na jednovláknovou, kvůli rozbití vodíkových vazeb, které řetězce spojují. Tato fáze je vratná, a to díky snížení teploty [35].
- Annealing je fáze, která začíná ochlazením reakční směsi což umožňuje nasedání primerů, které jsou komplementární k replikované DNA. Tato fáze probíhá při nižší teplotě (55–68 °C). Každý z primerů se naváže na opačné strany – jeden se naváže na antisense vlákno (3'→5') a druhý na sense vlákno (5'→3'). Mezi primery a templátovou DNA se tvoří vodíkové vazby což trvá několik vteřin nebo až 1 minutu [35].
- Elongační fáze probíhá při vyšší teplotě, tedy 72–80 °C. Enzym DNA polymeráza se aktivuje a syntetizuje nové vlákno DNA. Tento proces probíhá přidáváním dusíkatých bází ve směru 5'→3' za pomoci DNA polymerázy [35].

Khalil [35] uvádí, že PCR může být aplikována jak na DNA, tak RNA, u které je však nutné vytvoření komplementární DNA (cDNA) pomocí reverzní transkriptázy. PCR je tedy poté podrobena samotná cDNA.

Pro lepší kvantifikaci v potravinářství byly vyvinuty dvě kvantitativní metody – kvantitativní kompetitivní PCR (QC-PCR) a PCR v reálném čase neboli kvantitativní PCR (real-time PCR nebo qPCR) [34].

Kvantitativní PCR je metoda, která využívá detekci fluorescenčního signálu, který je produkovaný úměrně amplifikaci PCR produktu. Emisi fluorescence měří termocyklér spojený s optickým čtecím systémem. Metoda spočívá ve sledování fluorescenčního signálu pomocí fluorescenčního barviva (SYBR Green, SYTO-9, apod.) nebo za využití fluorescenční sondy, která je na 5' konci označena fluorescenčním barvivem a na 3' konci zhášením.

Kritickým parametrem je, aby sonda měla teplotu hybridizace vyšší než primery, aby se během elongační fáze hybridizovala [36]. Možnost použití specifických sond nebo značených primerů v real-time PCR umožňuje simultánní detekci a potvrzení fragmentů, čímž se zvyšuje spolehlivost této techniky a rozšiřuje se její využití v analýze potravin [34].

Další metody potvrzení či analýzy fragmentů lze provést štěpením fragmentů restrikcí endonukleázami (PCR-RFLP), sekvenčními technikami fragmentů, simultánní amplifikací dvou nebo více fragmentů s různými páry primerů (multiplex PCR) [34].

Multiplex PCR umožňuje amplifikaci více cílů v jediném PCR experimentu. Je tedy možné amplifikovat více než jednu cílovou sekvenci pomocí několika párů iniciátorů v reakční směsi. Tato technika má potenciál významně ušetřit čas v laboratoři, aniž by se snížila její spolehlivost [35].

Mezi další metody k analýze fragmentů je analýza polymorfismů pomocí PCR-SSCP, která uplatňuje elektroforetickou mobilitu na základě jejich konformace. Další strategie používané k identifikaci druhů v potravinách zahrnují analýzu náhodně amplifikované polymorfni DNA (RAPD), která využívá krátké náhodné primery a analýzu repetitivních sekvencí (SSR), známé také jako mikro satelity [34].

#### **2.1.6 Senzorická analýza jogurtu**

Senzorické vlastnosti jogurtu jsou ovlivněny několika faktory – mléko použité k výrobě, startovací kultura, metoda výroby, teplota fermentace anebo výsledné pH produktu [37]. Nicméně jsou tyto parametry, samotný průběh a vývoj sensoricky aktivních látek ovlivněny především použitou startovací kulturou [19]. Dan a kol. [4] zmiňují, že doba fermentace má významný vliv na chuť a přijatelnost jogurtu. Ze vzorků jogurtu s různou dobou fermentace (6,5–8 hodin), hodnotitelé jako nejlepší vybrali vzorek s dobou fermentace 7,5 hodiny.

Při konzumaci jogurtu je lidské vnímání ovlivněno aromatem, chutí a texturou. Mimo tyto kritéria závisí i na preferencích hodnotitele [4]. Senzorická analýza při produkci jogurtu a obecně fermentovaných mléčných výrobků je důležitou metodou, díky které je dosaženo nejlepší kvality produktu [38].

Při hodnocení jogurtu je kladen důraz na chuť, vzhled či texturu výrobku. Senzorická analýza slouží ke studiu, hodnocení a celkovému pozorování reakcí na určité potraviny. Při hodnocení jsou zapojeny smysly hodnotitelů – čich, zrak, chuť, hmat a sluch [38]. Technicky vzato se mohou lidské smyslové orgány považovat za detektory, které pomáhají ve vysílání informací do mozku [39].

Cheng a kol. [38] uvádí, že sensorická analýza slouží k vysvětlení vztahu mezi vůní a smyslovým vnímáním produktů a s tím spojené porozumění klíčových sensorických vlastností produktu. I přes to, že např. terpeny vykazují pachovou aktivitu, musí být přítomny ve větších koncentracích kvůli svému vysokému prahu detekce, aby ovlivnily sensorické vnímání. Některé alkoholy také přispívají k aromatu jogurtu, nižší alkoholy ovlivňují chuť jogurtu a pozitivně působí na chuť výrobku.

Chuť je sensorický vjem pokrmu či jiného produktu a je rozpoznán, když vzorek vložený do úst chemicky reaguje s chuťovými receptory. Tyto chuťové vjemy mohou být poté popsány jako sladké, kyselé, slané, hořké či umami [22].

U hodnocení jogurtu je hodnotitelům podáván neutralizátor pro minimalizaci zbytkové pachuti po předešlém vzorku. Jako neutralizátor je většinou používána voda, sušenky

či pečivo [40]. Při hodnocení jogurtu jsou charakteristiky produktu a zaměření hodnotitele na ně jedním z ukazatelů přijatelnosti produktu [39].

Při samotné analýze jsou vzorky jogurtu obvykle vyjmuty z chladničky o teplotě 4 °C asi 30 minut před začátkem. Vzorky jsou podávány na bílém nádobí, aby bylo možné zhodnotit barvu jogurtu [41]. Mělo by být používáno nádobí, které nebude interagovat se vzorkem a nebude jogurtu dodávat jakoukoliv nežádoucí pachut', vůni či dokonce barvu. Množství, které se hodnotitelům podává by mělo být dostatečné, v případě potřeby druhého ochutnání [42]. Kódy, pod kterými jsou vzorky podávány jsou většinou třímístné a náhodně vygenerované [41]. Důležité je i světlo, aby nezkreslovalo zbarvení vzorku, proto se využívá denního světla anebo častěji, vzhledem k rychlé změně denního světla se používá osvětlení simulující denní světlo [37].

### **2.1.6.1 Možnosti senzorického hodnocení jogurtu**

Senzorická analýza je prováděna v senzorické laboratoři v oddělených kójiích, kde má každý hodnotitel své místo k hodnocení [41].

Obvykle jsou na začátku hodnocení hodnotitelé dotazováni, jaký mají vztah ke konzumaci jogurtu a jak často jej konzumují. Poté jsou dotazováni, aby ohodnotili vzorky podle určitých atributů – vzhled, chuť, textura a celkový vzhled [42].

Při větším počtu vzorků jogurtů jsou obvykle vzorky dodávány v blocích a pro každého náhodně, aby mohly být sledovány účinky zkreslení při různém podávání [37].

Při hodnocení přijatelnosti jogurtu obvykle není vyžadován u hodnotitele trénink a často se využívají hedonické stupnice, které předpokládají, že hodnotitel vyjadřuje své preference na škále z hlediska vzhledu, vůně, chuti či textury [38]. Pro hodnocení specifických vlastností jogurtu už je zapotřebí mít zkušenosti či trénink pro senzorickou analýzu. Je důležité popsání vjemů či správné vyjadřování. Výhodou při senzorické analýze je, aby hodnotitelé konzumovali jogurt na denní bázi. Pokud hodnotitelé jogurt nekonzumují, mohli by jejich odpovědi zkreslit výsledky celé analýzy [37].

Při hodnocení jogurtu je většinou zapotřebí vytvořit si seznam deskriptorů, zpravidla pomocí několikakrokového ochutnávání vzorků. Po vypracování seznamu deskriptorů, jsou vyškrtnutá synonyma nebo shodné deskriptory [43].

Při senzorické analýze může být kromě samotných vzorků hodnotitelům podán i referenční vzorek, což většinou bývá komerčně dostupný produkt, který už prošel testováním a je přijatelný pro zákazníky. Referenční vzorek neboli standard je podáván kvůli tomu, aby pomohl hodnotitelům přiblížit vlastnosti hledané v předložených vzorcích nebo pokud je třeba jejich porovnání [37].

Moga [39] ve svém výzkumu, kde se zaměřila na analýzu aditiv v jogurtu, respektive přídavek tapiokového škrobu a sušeného mléka a jejich vlivu na senzorickou kvalitu výrobku, zjistila, že přídavek zlepšil texturní vlastnosti jogurtu. Hodnotitelé u jogurtu se sušeným mlékem pociťovali zrnitou texturu, která přetrvávala i po polknutí.

### **2.1.7 Reologie**

Reologie se zabývá studiem, jak se různé materiály chovají při působení externích sil. Zabývá se deformací a tokem komplexních kapalin či měkkých materiálů, jako jsou např. i potraviny. Síly, působící na materiál mohou být přirozené, jako je gravitace nebo

interakce, které drží strukturu pohromadě. Mezi cílené síly, které působí na materiál, patří ty, které jsou použity během výrobního procesu potraviny [44].

Potraviny jsou z pohledu reologie velmi komplexní materiály často složené z pevných i tekutých složek. Chování potravin při mechanickém namáhání (reologické chování) souvisí úzce s jejich texturou. Texturou se rozumí vlastnosti potravin vyvolávající hmatový (haptický) vjem registrovaný hmatovými receptory v ústní dutině, příp. rukou [45].

Pro měření textury jsou používány texturometry neboli texturové analyzátoři, které se používají k měření parametrů textury – pevnost, lepivost, pružnost a žvýkavost [46]. Reometry jsou využívány pro charakterizaci tokových a viskoelastických vlastností [47].

Prajapati a kol. [45] uvádí, že vždy během míchání nebo plnění jogurtu dochází ke změnám, které ovlivňují jeho tokové vlastnosti. U míchaných jogurtů míchání způsobuje snižování viskozity, která se po namáhání obnovuje pouze částečně.

### **2.1.7.1 Reologické (texturní) vlastnosti jogurtu**

Pro smyslové vnímání, a tedy pro senzoričnou analýzu je důležité mít informace o reologických vlastnostech jogurtu. Tyto znalosti jsou důležité ke správnému pochopení struktury a tokových vlastností při zpracování jogurtu v ústech [44]. Textura jogurtu je jedním z aspektů, které se liší jak na základě preference konzumenta, tak na základě kultury a země, kde je jogurt konzumován. V Číně jsou např. preferovány jogurty řidší a například na Blízkém východě jsou vyhledávanější tužší jogurty [47].

Reologické procesy hrají významnou roli z hlediska senzoričnou analýzy jogurtu [44]. Termín reologické vlastnosti zahrnuje několik atributů jako je celkový vjem, textura, pocit v ústech a mikrostruktura. Celkový vjem zahrnuje celkovou fyzickou strukturu jako je pevnost, gelovitost a hrudkovitost. Textura odkazuje na mikrostrukturu jogurtu a jeho uspořádání částic [47].

Na reologii samotného jogurtu má vliv počáteční homogenizace mléka, která díky tomu, že jsou rozbity tukové kuličky na menší, přispívá k pevnosti a zadržování vody v jogurtu [48]. Sözeri a kol. [44] uvádí, že jogurty lze popsat jako látky, jejichž viskozita se s rostoucí smykovou rychlostí snižuje. To dělá z jogurtů neneutonské kapaliny.

Velký vliv má fermentace, texturní vlastnosti jogurtu se mohou lišit podle použité kultury a doby fermentace. Reologické vlastnosti produktu se mění na základě doby skladování [48]. Lussier a kol. [48] zjistili, že pevnost jogurtu se zvýšila v rozmezí 1. a 21. dne skladování. Největší nárůst v pevnosti byl zaznamenán mezi 7. a 21. dnem.

### **2.1.8 Aromatické látky jogurtu**

Senzoričnou vlastnosti jogurtu záleží na rovnováze chuťových látek, pocházejících z tuku, proteinů a sacharidů nacházejících se v mléce. U jogurtu jeho charakteristické chuti přispívá kyselina mléčná a komplexní směs chuťových látek, ty zahrnují látky přítomné již v mléce a také látky vznikající při fermentaci [19].

Fermentované mléčné výrobky a obzvláště jogurt mají nakyslou a někdy dokonce lehce natrpklou chuť [16]. Vůně a chuť je charakteristická díky mnoha metabolitům bakteriálních kultur [12]. Routray a Mishra [12] uvádí, že jedním z nejdůležitějších metabolitů, a také látkou dodávající jogurtu jeho aroma, je kyselina mléčná. Bylo prokázáno, že látky, které mají

na svědomí chuť jogurtu jsou netěkavé, těkavé a karbonylové sloučeniny, kde karbonylové sloučeniny mají nejvyšší podíl na charakteru vůně a chuti produktu.

Dan a kol. [4] zjistili, že karboxylové kyseliny jsou látky, které jogurtu dodávají jeho silné aroma. Hlavní kyselinou, vznikající při fermentaci, je kyselina octová. Je nejdůležitější, protože dodává jogurtu jeho silnou, ostrou, nakyslou až lehce octovou chuť. Další kyselinou, která jogurtu dodává jeho aroma je kyselina hexanová. Přispívá svojí koncentrací k chuti podobné sýru. Kyselinou, která přispívá k ovocné až karamelové chuti, je kyselina oktanová.

Aldehydy, i přes svůj nízký práh detekce, jsou důležitými sloučeninami dodávající jogurtu charakteristické aroma a chuť [4]. Typické aroma jogurtu dodává acetaldehyd vyznačující se příchutí zeleného jablka či ořechů a přispívá tak ke svěží chuti. Koncentrace acetaldehydu se může lišit na základě procesu výroby jogurtu a kmene mikroorganismů [22]. Chen [22] uvádí, že i když koncentrace acetaldehydu může být v rozmezí od 2,0 do 41 mg · kg<sup>-1</sup>, chutnější vzorky jogurtu měly vždy koncentraci vyšší než 8 mg · kg<sup>-1</sup>.

Krastanov a kol. [19] říkají, že kvalita jogurtu je silně závislá na vyváženém množství těkavých látek, což zahrnuje skupinu uhlikatých sloučenin. Karbonylové sloučeniny jsou jedny z hlavních látek dodávající jogurtu jeho charakteristickou chuť a vlastnosti.

Krastanov a kol. [19] identifikovali více než 38 karbonylových sloučenin, mezi které patří diacetyl a acetoin, které dodávají jogurtu jeho máslovou a krémovou příchutí. Chen [22] uvádí, že diacetyl je prokazatelný již při koncentraci 1 mg · kg<sup>-1</sup>. Redukovanou formou diacetylu je acetoin, který i přes svoji slabší chuť v porovnání s diacylem hraje důležitou roli. Dodává jogurtu jeho krémovější chuť, a tím tlumí výraznou máslovou chuť diacetylu. Sloučenina přispívající ke krémové či máslové příchuti jogurtu je 2,3-butandiol, který je redukovanou formou acetoinu.

Tabulka 1: Obvyklé uhlikaté sloučeniny v jogurtu [převzato z: 17]

Sloučenina	Obvyklý obsah v jogurtu (mg/kg)
acetaldehyd	23–40
diacetyl	0,2–3
acetoin	1,2–28,2
aceton	0,3–4,0
2-butanon	0,1–7

## 2.1.9 Metody stanovení těkavých látek jogurtu

### 2.1.9.1 SPME GC-MS

SPME metoda je v současnosti jedna z nejvíce používaných extrakčních metod na světě. Největší výhodou je její jednoduchost. Metoda je snadno automatizovatelná, jelikož modul SPME lze jednoduše zahrnout do automatického vzorkovacího podavače všech typů plynových chromatografů. Odběr vzorků pomocí SPME lze provádět manuálně i automaticky, jelikož se u manuální verze výsledky výrazně neliší od automatizované verze. Další výhodou této metody je široká škála druhů vláken, což zvyšuje selektivitu vzorkování [49].

Dan a kol. [50] uvádí, že analýza aromatických látek v mléce a dalších mléčných výrobcích je problematická, vzhledem ke složitosti matrice. Székelyhidi a kol. [49] zmiňují, že analýza terpenoidů v mléce pomocí HS-SPME dokáže určit krmivo dojníc anebo dokonce zeměpisnou oblast, ze které zvířata pocházejí. Terpenoidy, které byly nalezeny v mléce ovcí a koz jsou považovány za biomarkery jejich stravy.

V jogurtu jsou aromatické látky obvykle přítomny ve stopovém množství, proto je třeba při jejich izolaci využít plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) [12]. Spolu s GC-MS je využívána metoda mikroextrakce na pevné fázi (SPME), která se stala hlavní metodou v analýze těkavých látek [51]. SPME se stala hlavní metodou také protože umožňuje rychlé odebrání vzorku bez potřeby rozpouštědla či úpravy vzorku před analýzou. Mimo jiné se vyznačuje dobrou opakovatelností a je považována za jednoduchou, vysoce citlivou a selektivní metodu [38].

Vzorek jogurtu není třeba předem upravovat, jelikož metoda SPME dokáže analyzovat tekuté vzorky [38]. Cheng a kol. [38] uvádí, že i když delší doba extrakce a vyšší teplota může pomoci k dosažení rovnováhy, což vede ke zvýšení odezvy méně těkavých látek, je třeba dbát na správný teplotní program, aby nedošlo k vytvoření či zvýraznění některých těkavých látek.

Tanello a kol. [51] při analýze probiotického jogurtu zjistili, že teplota extrakce má velký vliv na těkavé látky spolu s vysolením pomocí chloridu vápenatého. V jejich případě získali nejlepší výsledky při teplotě extrakce 50 °C a vysolení vzorku 5 g NaCl.

Metoda SPME GC-MS je široce využívána pro další potraviny jako je sýr fermentované mléko nebo další fermentované produkty [50].

Tabulka 2: Některé z těkavých látek jogurtu [převzato z: 19]

Aldehydy	acetaldehyd, furfural, hydroxybutan-3-al, benzaldehyd, okten-2-al, dekanal
Ketony	pentan-2-on, butan-2,3-dion, 2-acetylfuran, 2-heptanon, nonan-2-on, acetoin, 3-methyl-2-butanon, undekan-2-on,
Kyseliny	mravenčí, máselná, octová, hexanová, pentanová, oktanová
Alkoholy	2-furanmethanol, undekan-2-ol, 3-methyl-2-butanol
Estery	5-methyl-2-furanon, vinyl propanoát
Uhlovodíky	Undekan, tridekan, tetradekan, oktadekan

### 2.1.9.2 Elektronický nos

Další metodou, jak stanovit těkavé sloučeniny v jogurtu, je elektronický nos. Je to ideální nástroj pro identifikaci a kvantifikaci aromatických sloučenin. Elektronický nos neboli e-nos je systém, který se skládá ze systému přivádění vzorku, detektoru a analyzátoru dat. Vzorek může být poslán do přístroje pomocí injektoru nebo může být přiváděn pomocí nosného plynu.

Senzory uvnitř e-nosu reagují s těkavými látkami a senzory posílají signály do počítače, kde jsou porovnány pomocí knihoven a jsou vypočítány koncentrace těkavých látek. Pole senzorů je vyrobené ze specifického materiálu, jako jsou kovové oxidy, vodivé organické polymery nebo křemenné krystaly. První dva senzory reagují na změny vodivosti, zatímco třetí je ovlivněn změnami rezonanční frekvence. Někdy se používá i externí detektor hmotnostní spektrometrie (MS) [52].

Elektrický nos byl poprvé využit na mléčné výrobky již v roce 1990. Samotný přístroj byl vyvinut pro specifickou aplikaci a pro lepší výsledky, které nejsou detekovatelné lidským nosem [52]. Zeng a kol. [53] uvádí, že elektronický nos je vhodná metoda, jak analyzovat těkavé látky a k získání obecného kvantitativního přehledu. Díky této metodě je rovněž možné získat informace o přijatelnosti jogurtu hodnotiteli.

### **2.1.9.3 Nukleární magnetická rezonance**

Pro analýzu aromatických látek jogurtu byla použita i nukleární magnetická rezonance (NMR), respektive H-NMR. Tato technika se zdá být velmi dobře využitelná v analýze těkavých látek [54]. Settachaimongkon a kol. [55] pomocí H-NMR identifikovali celkem 43 metabolitů, včetně aminokyselin, sacharidů, organických kyselin, karbonylových a siřných sloučenin. K využitelnosti této metody přispívá i to, že je citlivá na velké spektrum metabolitů produkovaných mikroorganismy, látek vznikajících při fermentaci nebo při zrání a skladování [54].

Na rozdíl od MS, která je široce využívána při identifikaci těkavých látek, je NMR kvantitativní metodou a není potřeba vzorek před analýzou upravovat derivatizací či separací. I když se citlivost metody výrazně zvýšila, její citlivost pro analýzu stopového množství analytů se ještě stále nevyrovná MS [54].

## **2.2 Lyofilizace**

Sušení je zřejmě nejstarší metoda používaná k uchovávání potravin. Brání totiž množení bakterií, které by mohly způsobit rozklad či kažení potravin. Zpomaluje enzymatické reakce a také prodlužuje životnost potraviny [56]. Vzhledem ke svému zmenšenému objemu jsou sušené potraviny lépe uchovatelné, co se týče balení, přepravy či skladování [57]. Je to kvůli tomu, že voda je materiál, který může podporovat rozvoj nežádoucích mikroorganismů a s tím spojené chemické, biochemické nebo mikrobiologické procesy [58].

Lyofilizace je metoda konzervace potravin, kde hlavním principem je odstranění rozpouštědla [57]. Tato metoda je proces, kdy voda sublimuje díky přímé změně skupenství z kapalného přes tuhé na plynné. Metoda je využívána k uchování vysoce kvalitních potravin, biologického materiálu a léčiv. Díky lyofilizaci jsou sušené produkty zachovány v nejvyšší možné kvalitě s původním složením nutrientů [58].

V potravinářství má lyofilizace větší využití než prostá dehydratace, jako je například klasické sušení. Díky lyofilizaci je totiž zachována původní barva, vůně a chuť [59]. Lyofilizace je využívána a preferována hlavně u potravin, které jsou citlivé na teplo nebo na oxidaci [60]. Díky sušení mrazem je zamezeno většímu zhoršení nutriční hodnoty potravin, což by bylo nežádoucí [59].

U všech lyofilizovaných potravin je důležité po procesu lyofilizace zkontrolovat její kvalitu. To zahrnuje kontrolu barvy, která se spíše používá při kontrole lyofilizovaného ovoce

a zeleniny. Dalším měřeným parametrem při kontrole je celková vlhkost. Rehydratace je také testována, protože je důležité, aby rekonstituované produkty byly co nejvíce podobné původnímu výrobku. Čím vyšší je rehydratační stupeň, tím kvalitnější je lyofilizovaná potravina [59].

Lyofilizované potraviny jsou ideální stravou na cesty pro turisty [59].

### **2.2.1 Proces lyofilizace**

Nejčastěji se lyofilizace rozděluje do tří fází – mražení, primární mrazící fáze a sekundární fáze sušení [57]. Kombinací těchto kroků se docílí odstranění až 99 % vody [60].

Tyto tři fáze zahrnují pět stádií lyofilizace. Prvním stádiem je zmrazení produktu, kde dochází ke zmrazení rozpouštědla, kterým je nejčastěji voda [57]. Díky tomu, že je voda zmrazena je docíleno několika efektů. Jedním z nich je imobilizace složek v roztoku a prevence pění při vysokém tlaku v komoře lyofilizátoru. Dochází také k zamezení chemickým, biochemickým či mikrobiologickým změnám [61].

Po kompletním zmrazení produktu dochází k sublimaci rozpouštědla za sníženého tlaku. Zmrazené rozpouštědlo je tedy zahřáto a dochází k sublimaci. Tato fáze je nazývána jako primární sušení. Sublimace je následována sekundárním sušením, kvůli odstranění rozmrzlého rozpouštědla. Poté dochází k sublimaci rozpouštědla, a následně dochází k desorpci, vakuovému čerpání a kondenzaci par [57].

### **2.2.2 Lyofilizátor**

Tento přístroj se skládá ze čtyř komponentů – sušící komora, vakuová pumpa, tepelný zdroj a kondenzátor [56].

Sušící komora může, ale nemusí být prostorem, kde se produkt zmrazí před lyofilizací. Komora je místem, kde je uložen zmrazený produkt. Musí být navržena tak, aby byla dostatečně vakuována, těsná a police musí být udržované v určité teplotě. Tato opatření a parametry jsou nastavené kvůli tomu, že v komoře probíhají operace ohřevu a chlazení [56].

Vakuová pumpa slouží k odstranění plynů, které nelze kondenzovat. Je navržena tak, aby vydržela extrémní podmínky a také musí být dostatečně výkonná, protože je třeba dosáhnout podtlaku 0,61 kPa [56].

Při lyofilizaci jsou dva důležité faktory – skelný přechod a obsah vlhkosti v potravíně. Ovlivňují teplotu ohřevu, kterou zajišťuje tepelný zdroj. Teplota v lyofilizátoru se může pohybovat od -30 °C do 150 °C [56].

Kondenzátor je poslední částí lyofilizátoru a zajišťuje sbírání par vody, která se uvolňuje při rozpouštění ledových krystalků uvnitř potraviny. Důležitým parametrem kondenzátoru je jeho dostatečná plocha a chladicí schopnost, aby došlo k úplné kondenzaci par během sublimace. V moment, kdy dojde ke kontaktu páry a povrchu kondenzátoru, zformují se krystalky, které uvolní energii před evakuací ze systému [56].

### **2.2.3 Lyofilizace fermentovaných mléčných výrobků**

Fermentované mléčné výrobky se staly populárními potravinami díky obsahu prospěšných mléčných bakterií a jejich pozitivnímu vlivu na lidské zdraví. Nejběžnější a také nejvíce známé FMV jsou jogurt, bio-jogurt či kefir. Vzhledem k tomu, že jejich doba trvanlivosti, i přes uchování v chladničce, je krátká, vymýšlí se nové způsoby uchování. Jednou z těchto metod

je lyofilizace, která je preferována hlavně kvůli zachování mléčných bakterií, fyzikálních i chemických vlastností a také sensorické kvality produktu [62].

Při lyofilizaci FMV prochází produkty dvěma fázemi. První fází je kompletní zmražení produktu. V druhé fázi dochází k odstranění zmrzlé vody ve vakuu a dochází k sublimaci při tlaku nižším, než je trojný přechod vody. Poté se zbylá voda odstraní sušením, kdy se zvýší teplota na 36 °C [62].

Kromě jogurtu se na trhu objevují i lyofilizované sýry. Jejich lyofilizace napomáhá uchovat jeho základní vlastnosti a výživové hodnoty, které mají potenciál zajistit vyváženou stravu jako v původním stavu. Kvůli svému obsahu vody je sýr rychle se kazící potravinou. Pro uchování jeho nutričních hodnot bylo vyzkoušeno sušení teplem, avšak to změnilo strukturu i obsah látek v sýru [63].

Konuk Takma a kol. [64] uvádí, že na trhu nejsou obvyklé lyofilizované sýry, a to kvůli vysoké ceně lyofilizace. Při lyofilizaci nedochází ke ztrátám nutričních hodnot sýrů. Například u bílého sýru, jehož doba expirace se blíží ke konci, může být využita k vytvoření produktu, který lze potom přidávat do různých pokrmů např. pečiva, bramborových lupínků, sušenek či omáček. Zlepšuje tak funkčnost a nutriční hodnotu hotových pokrmů či polotvarů.

Při lyofilizaci sýru se jako u ostatních FMV prodlužuje jeho doba trvanlivosti. Jsou tedy díky tomu zastaveny všechny procesy, které jsou spojeny s přítomností vody v produktu – aktivita mikroorganismů či zhoršení sensorické kvality. Lyofilizací dochází k minimálním ztrátám aroma, chuti či vitaminů [63].

#### **2.2.4 Lyofilizace jogurtu**

Vzhledem k tomu, že je jogurt velmi bohatým zdrojem živin a má pozitivní vliv na zdraví je díky své chuti a vůni spotřebiteli vyhledávanou potravinou, musí být i při přepravě uchovávan v určitých podmínkách [65]. Ty zamezí jeho předčasnou expiraci a kontaminaci kvasinkami, plísněmi či jinými patogeny. To se však odráží na ceně produktu [20].

Prodloužení doby trvanlivosti lze dosáhnout snížením obsahu vody v jogurtu. Toho se docílí například odkapáváním syrovátky, rozprašováním či lyofilizací jogurtu. Díky těmto metodám dojde k odstranění vody a tím se prodlouží doba trvanlivosti. Odstraněním vody se také zmenší náklady na balení a uchovávaní jogurtů. Při jeho dehydrataci a následné rekonstituci je důležité, aby si výsledný produkt zanechal své aroma a strukturu jako měl před samotnou lyofilizací [20]. Lyofilizace je, vzhledem ke všem parametrům, které se musí dodržet, nejlepší volbou při sušení jogurtu pro prodloužení jeho trvanlivosti [66].

Jogurt je při lyofilizaci obvykle vložen na nerezový plech a zmražen [67]. Vzorek jogurtu však může být zmražen i v láhvi nebo jiné nádobě, která vydrží podmínky zmražení. Teplota zamražení se většinou pohybuje kolem -20 °C [66]. Vzorčky vyrobeného jogurtu jsou v mrazáku obvykle ponechány po dobu 24 hodin a poté jsou podrobeny lyofilizaci při nastavených podmínkách [67]. Kumar a Mishra [20] uvádí, že před samotnou lyofilizací by bylo užitečné zakonzentrovat jogurt, například odstraněním syrovátky, a tím se zlepší účinnost sušícího procesu.

Tato metoda zajistí zachování maximálního množství nutričních látek, mikrobiologické a sensorické charakteristiky. Výsledný suchý produkt by měl být lehce rehydrovatelný a měl by být skladován při nízké teplotě a v suchém prostředí [66]. Semenov a kol. [62] uvádí,

že lyofilizovaný jogurt nejenže je dobrou alternativou při nedostatku chladícího zařízení, ale je také dobrou a bohatou nutriční náhražkou či doplňkem stravy.

Při rekonstrukci jogurtu je důležité, aby měl výsledný produkt co nejvíce podobné vlastnosti, co se chuti, vůně a konzistence týče. Při rehydrataci jogurtu je klíčová jeho konzistence, jelikož se spotřebitelé nejvíce zaměřují na jeho vzhled a viskozitu, a je jedním z parametrů, který je nejhůře dosažitelný [65].

Při samotné lyofilizaci může být do jogurtu přidána ochranná látka, která zajistí přežití jogurtové kultury či dalších kultur, které mohou být do jogurtu přidané (probiotická). Jako tzv. kryoprotektant může být použito odtučněné mléko či koncentrát syrovátkového proteinu. K ochraně kultury byly v minulosti použity i jiné látky jako glukóza, maltodextrin, guarová guma či trehalóza. Ismail a kol. [66] uvádí, že po přidání syrovátkového proteinu se výtěžnost nepatrně zvýšila o necelé 3 %. Bylo zjištěno, že použití guarové gumy, maltodextrinu a sacharózy během lyofilizace zvýšilo životaschopnost lyofilizované jogurtové kultury.

## **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, 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, chladnička s mrazničkou, centrifuga MINI Spin Plus 14 500 min<sup>-1</sup>, 14 000× g (Eppendorf, Německo), NanoDrop 2 000, lyofilizátor AMARU Lyotrade Freeze Dryers s.r.o, vakuová balička Henkelman NEO 42, mrazicí pult Elcold model UNI 31 Pultový mrazák 3001/-45C, Eco™ Real-Time PCR System (Illumina, California, USA), Denzitometr McFarland typ DEN-1, McFarland Standard Set SD2350, vakuový exikátor, Thermocycler ROTOR-GENE RG-6000, reometr Anton Paar Rheometr RheoCompass 302e

#### **3.1.2 Pracovní pomůcky**

SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 μm, Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA, běžné laboratorní sklo, kuchyňské pomůcky a nádobí pro výrobu vzorků, vialky s kaučuk-teflonovými septy a šroubovacími uzávěry, mikropipety

#### **3.1.3 Chemikálie**

Chlorid sodný P. A. Lach-Ner, Neratovice, mořský písek vyžíhaný, heptan-2-ol Říčany-Jažlovice, kyselina heptanová Merck KGaA, Praha, methyl-isobutyl keton Loba Feinchemie, Fischamend, etanol Lach-Ner, Neratovice, Lactobacillus MRS bujon, ČADERSKÝ-ENVITEK, spol. s.r.o., Dodecylsulfát sodný (SDS), Sigma, St. Louis, USA, fenol, Sigma, St. Louis, USA, izoamylalkohol Lachema, Brno, ČR, chloroform, Lachema, Brno, ČR, etylendiamintetraoctová kyselina (EDTA), Sigma, St. Louis, USA, tris-HCl Penta, Chrudim, ČR, lysozym Reanal, Budapešť, Maďarsko, proteináza K Sigma, St. Louis, USA, octan sodný Lachema, Brno, ČR, ethanol, 96 % Penta, Chrudim, ČR, PCR voda Top-Bio, Praha, ČR, SYTO PCR SYBR Master mix, Top Bio, Praha, ČR, primer R\_eub (10 pmol/μl), primer F\_eub (10 pmol/μl), primer Delbrueckii R (10 pmol/μl), primer Delbrueckii F (10 pmol/μl), primer R Strept. sal (10 pmol/ μl), primer F Strept. sal (10 pmol/ μl)

#### **3.1.4 Plyny**

Dusík 5.0 SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem a kovovou membránou, SIAD, Česká republika, vodík 5.5 SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem, SIAD, Česká republika, vzduch 5.0 SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem pro kyslík, SIAD, Česká republika, helium, čistota 4.8., v tlakové lahvi s redukčním ventilem, SIAD, Česká republika

#### **3.1.5 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 práce byly analyzovány vzorky čerstvých, lyofilizovaných a následně rekonstituovaných jogurtů. Vzorky byly vyrobeny standardním technologickým postupem v laboratorních podmínkách na FCH VUT v Brně.

#### 3.2.1 Postup výroby jogurtové kultury

Polotučné mléko (1 litr) bylo zahřáto v hrnci na teplotu 85–90 °C. Byl udržován mírný var po dobu dvou minut, kde se případný povrchový film vytvořený zahřátím mléka odstranil sterilovanou lžičkou. Po uvaření bylo mléko schlazeno na teplotu 42–45 °C. Po ochlazení mléka byla přidána sušená jogurtová kultura případně 30 g z předchozí kultury při přeočkování. Obsah byl dobře promíchán a přemístěn do nádob, ve kterých se kultura fermentovala.

Fermentace probíhala při teplotě 43–45 °C po dobu 3–6 hodin. Po dosažení požadovaného pH (4,3–4,5), zjišťovaného pomocí pH metru byl jogurt přemístěn do chladničky a skladován při 4–6 °C.



Obrázek 2: Jogurtová kultura

#### 3.2.2 Postup výroby jogurtu

Jogurt byl vyroben stejným způsobem jako jogurtová kultura s rozdílem, že po dosažení požadované teploty mléka při vaření bylo přidáno příslušné množství odtučněného sušeného mléka (optimalizace přidaného množství viz kap. 4.2) pro zlepšení konzistence. Značení vzorků s různým přídatkem sušeného mléka viz Tabulka 3.

Tabulka 3: Značení vzorků s přídatkem sušeného mléka

Přídavek sušeného mléka	Vzorek
6 % hm.	SM6
8 % hm.	SM8
10 % hm.	SM10

### 3.3 Výroba lyofilizovaného jogurtu

Lyofilizace probíhala na Univerzitě obrany v Brně. Při výrobě lyofilizovaného jogurtu bylo odváženo do kelímků přesně 50 g čerstvého jogurtu. Kelímky se všemi vzorky byly vloženy do pultového mrazáku a vzorky byly předmrazeny po dobu 24 hodin při  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Zmražené vzorky byly poté vyjmuty z kelímku na plech lyofilizátoru. Samotná lyofilizace probíhala po dobu 40 hodin při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  za tlaku 31 Pa. Hotové vzorky (Obrázek 3) byly zavakuovány a skladovány při laboratorní teplotě ( $23 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).



Obrázek 3: Ukázka vzorku lyofilizovaného jogurtu

### 3.4 Použité metody a experimentální postupy

#### 3.4.1 Senzorická analýza

Optimalizace výroby jogurtu a rekonstituovaného jogurtu probíhala především na základě sensorického hodnocení textury. K sensorickému hodnocení textury bylo prizváno 10 hodnotitelů (v případě spotřebitelského dotazníku 5 hodnotitelů) z řad žen a mužů v různých věkových kategoriích.

Hodnotitelé měli za úkol na základě svých preferencí zhodnotit předložené vzorky jogurtů z hlediska příjemnosti/přijatelnosti textury. Hodnotili pomocí 10 cm grafické stupnice (od příliš řídká po příliš hustá). V rámci dotazníku byl i pořadový test, ve kterém hodnotitelé řadili vzorky z hlediska příjemnosti/přijatelnosti textury (nejlepší → nejhorší). Byl použit dotazník uvedený v Příloze 1. Na Obr. 2 je ukázka vzorků připravených pro hodnocení.



Obrázek 4: Ukázka vzorků připravených na senzorickou analýzu

Senzorická analýza byla použita také pro hodnocení lyofilizovaného jogurtu, kde byl hodnotitelům předložen jednoduchý spotřebitelský dotazník (viz Příloha 2). Hodnotitelé měli za úkol zhodnotit předložený vzorek z hlediska chutnosti a jeho možného využití.

Na závěr byly pomocí senzorické analýzy kompletně porovnány čerstvý vs. rekonstituovaný jogurt z hlediska vzhledu, barvy, textury, chuti a vůně pomocí 10 cm grafických stupnic, použitý dotazník je uveden v Příloze 3. Jejich celková přijatelnost byla hodnocena pomocí párové porovnávací zkoušky.

### 3.4.2 Stanovení těkavých látek

Těkavé látky byly stanoveny pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí s mikroextrakcí tuhou fází (HS-SPME-GC-MS). Před analýzou byly vzorky temperovány a naváženy do vialek po 0,5 g. Ke vzorku bylo přidáno 1,0 ml nasyceného roztoku NaCl. Metoda byla nejprve optimalizována (viz kap. 4.5.1.1) pro dosažení max. rozlišení a také max. výtěžku těkavých látek a tím co nejvyšší citlivosti, výsledné optimální podmínky analýzy jsou uvedeny dále.

### 3.4.3 Podmínky SPME extrakce

Doba inkubace (temperování) 5 minut, doba extrakce 35 minut, teplota agitátoru (teplota extrakce a inkubace) 40 °C, agitátor zapnutý 5 s, agitátor vypnutý 40 s, množství vzorku 0,5, hloubka ponoření vlákna do vialky 20 mm.

### 3.4.4 Podmínky GC-MS analýzy

Kapilární kolona ZB-WAX (parametry kolony: 30 m x 0,25 mm x 0,5 µl), teplota injektoru (teplota desorpce) 240 °C, doba desorpce 5 minut, dávkování: splitless (ventil uzavřen 5 min), hloubka ponoření vlákna do injektoru 40 mm, nosný plyn helium, průtok nosného plynu 1 ml · min<sup>-1</sup>, teplotní program: 30 °C s výdrží 5,50 min, vzestupný gradient 10 °C/min do 200 °C s výdrží 7,5 min, celková doba analýzy 70 min, hmotnostní detektor v módu EI (energie ionizačních elektronů 70 eV, teplota iontového zdroje 200 °C, skenovací rozsah m/z 35–250 amu, rychlost skenování 0,1 s).

#### 3.4.4.1 Identifikace a kvantifikace těkavých látek

Těkavé látky byly identifikovány srovnáním hmotnostních spekter s dostupnou knihovnou spekter a semikvantifikovány pomocí vnitřních standardů: heptan-2-olu, kyseliny heptanové a methylisobutylketonu. Pro tyto účely byl připraven a optimalizován jejich směsný standard.

Nejprve byly připraveny zásobní roztoky každé z látek o koncentraci  $1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ . Cílem bylo najít co nejlepší koncentraci, která by byla detekována a zároveň neinterferovala s dalšími těkavými látkami ve vzorku. Pro methylisobutylketon byl připraven roztok o koncentraci  $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , který byl poté 12x naředěn a napipetován do 10 ml baňky určené pro směsný standard. Výsledná koncentrace methylisobutylketon ve směsném standardu je  $0,833 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Pro heptan-2-ol byla zvolena koncentrace  $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ , který byl 500x zředěn, kvůli svému vysokému píku na chromatogramu. Jeho výsledná koncentrace ve směsném standardu je  $0,020 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Kyselina heptanová byla ze zásobního roztoku naředěna 50x a napipetována ke zbylým standardům. Koncentrace kyseliny byla  $20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ . Po smíchání všech komponent byla baňka doplněna rozpouštědlem (ethanol:voda v poměru 1:9).

Připravený směsný standard byl přidán do vzorku jogurtů v množství  $15 \mu\text{l}$ .

Relativní koncentrace jednotlivých sloučenin se vypočítá pomocí vzorce (1):

$$c = \frac{A_c}{A_{is}} \cdot c_{is} \quad (1)$$

$c$  ... relativní koncentrace analytu ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ );  $c_{is}$  ... koncentrace vnitřního standardu ( $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1} \approx \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) (methylisobutylketon –  $0,025 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ; heptan-2-ol –  $0,0006 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ; kyselina heptanová –  $0,6 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ );  $A_c$  ... plocha píku analytu;  $A_{is}$  ... plocha píku vnitřního standardu.

### 3.5 Mikrobiologické vyšetření

Vzorky jogurtů (čerstvý a rekonstituovaný) byly podrobeny mikrobiologickému rozboru.

Vyšetření použitého sušeného odtučněného mléka bylo provedeno dle normy ČSN 5696/01 „Pravidla správné hygienické a výrobní praxe – Mléko a mléčné výrobky“ [68].

#### 3.5.1 Příprava kultivačních médií

Pro kultivaci mléčných bakterií bylo vybráno médium De Man–Rogosa–Sharpe bujon (MRS). Do Erlenmeyerovy baňky bylo odváženo příslušné množství MRS média uvedené na obalu, poté byla přidána destilovaná voda. Médium bylo napipetováno po 9 ml do zkumavek a vysterilováno v autoklávu.

Ze vzorku jogurtů bylo připraveno ředění  $10^{-1}$  přidáním 10 g vzorku do 90 ml sterilní vody. Poté bylo z tohoto ředění odebrán 1 ml a zaočkován do tekutého média. Připravené vzorky byly kultivovány po dobu 48–72 hodin při  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### 3.5.2 Odhad počtu mikroorganismů pomocí McFarlandovy metody

Pro orientační stanovení počtu mikroorganismů v jogurtech byly použity McFarlandovy standardy turbidity. Vzorky připravené v kap. 3.5.1 byly zvortexovány a proměřeny při vlnové délce 550 nm proti standardům (viz Tabulka 4).

Tabulka 4: Interpretace výsledků měření McFarlandovou metodou

McFarland standard	Průměrná bakteriální koncentrace (buňky/ml)	Teoretická optická hustota při 550 nm
0,5	$1,5 \cdot 10^8$	0,125
1,0	$3,0 \cdot 10^8$	0,25
2,0	$6,0 \cdot 10^8$	0,50
3,0	$9,0 \cdot 10^8$	0,75
4,0	$12,0 \cdot 10^8$	1,00
5,0	$15,0 \cdot 10^8$	1,25
6,0	$18,0 \cdot 10^8$	1,50

### 3.5.3 Příprava hrubého lyzátu

Pro izolaci DNA bylo třeba připravit hrubý lyzát buněk. Do sterilní eppendorfky (1,5 ml) byl odebrán 1 ml promíchané kultury viz kap. 3.5.1. Vzorek byl centrifugován po dobu 5 minut při  $14\,000\text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$ . Supernatant byl slit a sediment byl promyt 1 ml roztoku A ((10 nM Tris-HCl (pH 8,7); 5 nM EDTA). Po promytí byl vzorek opět centrifugován za stejných podmínek, supernatant byl slit a sediment resuspendován v 1 ml lyzačního roztoku B (10 nM Tris-HCl (pH 7,8); 5 nM EDTA; lysozym  $3\text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ). Vzorek byl inkubován po dobu 30 minut při laboratorní teplotě. Následně bylo přidáno  $12,5\ \mu\text{l}$  20/SDS a  $5\ \mu\text{l}$  proteinázy K. Vzorek byl poté inkubován do druhého dne při  $55\ ^\circ\text{C}$ .

### 3.5.4 Izolace DNA fenolovou extrakcí

K  $500\ \mu\text{l}$  hrubého lyzátu byl přidán stejný objem fenolu (destilovaný fenol nasycený v TE puftru, pH 7,8). Směs byla kývavým pohybem promíchána po dobu 4 minut. Poté byla směs centrifugována po dobu 5 minut při  $14\,500\text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$ . po centrifugaci byla odebrána vodná fáze do čisté eppendorfky (Obrázek 5).

K vodní fázi bylo přidáno  $700\ \mu\text{l}$  směsi chloroform-isoamylalkohol (24:1) a směs byla kývavým pohybem promíchána po dobu 4 minut. Následovala centrifugace po dobu 5 minut při  $14\,500\text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$ . Do čisté eppendorfky byla odebrána vodní fáze s DNA. Ke vzorku DNA bylo přidána 1/20 objemu 3 M octanu sodného a vzorek byl promíchán. Následně byl přidán 1 ml 96 % ethanolu a směs byla promíchána. DNA byla srážena při  $-20\ ^\circ\text{C}$  po dobu 30 minut. Vzorek byl centrifugován při  $14\,500\text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$  po dobu 5 minut a poté byl supernatant slit. Sediment byl promyt 70 % ethanolom a směs byla opět centrifugována při  $14\,500\text{ ot} \cdot \text{min}^{-1}$  po dobu 10 minut. Po slítí byl sediment vysušen v exsikátoru po dobu 30 minut. DNA byla rozpuštěna ve  $100\ \mu\text{l}$  TE puftru.



Obrázek 5: Oddělené fáze při fenolové extrakci DNA

### 3.5.5 Stanovení čistoty DNA

Čistota a koncentrace izolované DNA byla změřena spektrofotometricky na spektrofotometru Nanofotometr Implen N60 oproti TE pufru. K měření bylo vždy napipetováno 1–2  $\mu\text{l}$  vzorku DNA, kde po každém měření byl podstavec omyt destilovanou vodou. Požadovaný poměr absorbancí A260/A280 pro čistotu DNA byl přibližně 1,8.

### 3.5.6 PCR v reálném čase

Pro měření qPCR byla vyizolovaná DNA nejdříve naředěna na  $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ . Všechny komponenty pro PCR byly smíchány a krátce zcentrifugovány. Pro každý vzorek bylo připraveno 25  $\mu\text{l}$  PCR směsi dle Tabulky 5. Byly také připraveny pozitivní kontroly obsahující DNA vybraného kmenu a negativní kontroly neobsahující DNA, kde zbylý objem byl nahrazen PCR vodou. PCR byla provedena pomocí primerů jejichž charakterizace je uvedena v Tabulce 6.

Tabulka 5: Složení PCR směsi

Komponenty	Objem ( $\mu\text{l}$ )
SYTO PCR SYBR Master mix	12,5
Primer R	1
Primer F	1
Voda pro PCR	9,5
DNA	1

Tabulka 6: Použité PCR primery

	Primery	Sekvence 5'→3'	Zdroj
Doména <i>Bacteria</i>	F eub	TCC TAC GGG AGG CAG CAG T	[69]
	R eub	GGA CTA CCA GGG TAT CTA ATC CTG TT	
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	Delbrueckii F	CAT GTG CAG ACA TGC TAT CCT T	[70]
	Delbrueckii R	CTC TGA AGT GCC ATG TCT CAG T	
<i>Streptococcus salivarius</i>	Strept. sal. F	TTG CCA CAT CTT CAC TCG CTT	[71]
	Strept. sal. R	GTT TAG TAG CAA CTT CTG GCT T	

Pro potvrzení přítomnosti domény *Bacteria* byly vzorky podrobeny PCR. Pro PCR analýzu byly vzorky promíchány, krátce zcentrifugovány a umístěny do PCR cycleru. Teplotní profil qPCR provedené pomocí primerů specifických pro doménu *Bacteria* je uveden v Tabulce 7.

Tabulka 7: PCR v reálném čase pro doménu *Bacteria*

Proces	Teplota (°C)	Délka (s)	
Iničiační denaturace	95	300	30 cyklů
Denaturace	95	30	
Připojení primerů	55	30	
Syntéza DNA	72	30	
Druhá syntéza DNA	72	300	
Melt analýza	50–99		

Pro přiblížení, co se děje s jogurtovou kulturou před a po lyofilizaci byla provedena PCR v reálném čase pro druh *Lactobacillus delbrueckii* a druh *Streptococcus salivarius*. Pro laktobacily byla připravena qPCR směs viz Tabulka 8 s výsledným objemem 25 µl. Teplotní profil použitý pro amplifikaci cílové sekvence DNA je uveden v Tabulce 9.

Tabulka 8: Složení qPCR směsi pro identifikaci *Lactobacillus delbrueckii*

Komponenty	Objem (µl)
Voda pro PCR	10,5
SYTO PCR SYBR Master mix	12,5
Primer Delbrueckii R (10 pmol/µl)	0,5
Primer Delbrueckii F (10 pmol/µl)	0,5
DNA matrice (10 ng/ µl)	1

Tabulka 9: Teplotní profil qPCR pro *Lactobacillus delbrueckii*

Proces	Teplota (°C)	Délka (s)	
Iničiační denaturace	95	300	30 cyklů
Denaturace	95	30	
Připojení primerů	62	30	
Syntéza DNA	72	60	
Druhá syntéza DNA	72	300	
Melt analýza	72–95		

Pro analýzu streptokoků byla připravena qPCR směs dle Tabulky 10 a amplifikace cílové sekvence DNA proběhla za použití teplotního profilu z Tabulky 11.

Tabulka 10: Složení qPCR směs pro identifikaci druh *Streptococcus salivarius*

Komponenty	Objem (μl)
Voda pro PCR	10,5
SYTO PCR SYBR Master mix	12,5
Primer R Strept. sal (10 pmol/μl)	0,5
Primer F Strept. sal (10 pmol/μl)	0,5
DNA matrice (10 ng/μl)	1

Tabulka 11: Teplotní profil qPCR pro *Streptococcus salivarius*

Proces	Teplota (°C)	Délka (s)	
Iničiační denaturace	95	300	30 cyklů
Denaturace	95	30	
Připojení primerů	55	30	
Syntéza DNA	72	60	
Druhá syntéza DNA	72	600	
Melt analýza	72–95		

### 3.6 Stanovení sušiny

Do hliníkových misek bylo naváženo 10–30 g mořského písku. Misky s pískem, víčky a skleněnými tyčinkami se daly sušit do sušárny o teplotě  $102 \pm 2$  °C po dobu 1 hodiny. Po vysušení byly misky přemístěny do exsikátoru do vychladnutí.

Poté byl do misek navážen vzorek jogurtu o hmotnosti 3–5 g s přesností na 0,0001 g. Misky se vzorkem byly vloženy do sušárny a sušeny po dobu 3 hodin do dosažení konstantní hmotnosti. Prvních 30 minut byl obsah misek promícháván [72].

Výpočet obsahu vody se vypočítá pomocí vzorce (2):

$$w_v = \frac{(m_1 - m_2) \cdot 100}{m_1 - m_0} [\%] \quad (2)$$

$w_v$  – obsah vody [%]

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

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

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

Výpočet obsahu sušiny se vypočítá pomocí vzorce (3):

$$w_{suš} = 100 - w_v [\%] \quad (3)$$

$w_{suš}$  – obsah sušiny [%]

$w_v$  – obsah vody [%]

### 3.7 Reologická analýza

Pro doplnění senzoričkého hodnocení textury byly vzorky jogurtů podrobeny reologické analýze. Pro měření byl použit rotační reometr, principem je sledování chování vzorku při smykovém namáhání. Vzorek je podrobován smyku mezi dvěma definovanými plochami, z nichž jedna vykonává otáčivý pohyb různou rychlostí, druhá je stacionární. Vyhodnocuje se brzdňý účinek vzorku, který přímo souvisí s jeho viskozitou.

Vzhledem k typu vzorku byla použita geometrie měření deska-deska, kde spodní deska byla pevná a horní rotující. Vzorek jogurtu byl v přiměřeném množství nanesen na spodní desku, parametry měření jsou uvedeny v Tabulce 12. Výsledky jsou vyjádřeny graficky jako tokové a viskozitní křivky.

Reologická měření byla použita při optimalizaci výroby jogurtu a při optimalizaci rekonstituce lyofilizovaného jogurtu.

Tabulka 12: Podmínky reologické analýzy

Parametry	Hodnoty
Mezera (mm)	1,00
Teplota (°C)	5±0,2
Síla (N)	0,11
Smyková rychlost (s <sup>-1</sup> )	1–100
Průměr desky (mm)	50

### **3.8 Statistické zpracování výsledků**

Naměřená data byla vyhodnocena pomocí programu Microsoft Excel Office 19 a Statistica 14.1. Pro přehlednost jsou výsledky vyobrazeny v podobě sloupcových a boxových grafů. Ze statistických metod byla použita ANOVA a Pearsonova korelace.

Identifikace těkavých látek byla provedena za využití softwaru Xcalibur 2.2 s referenčními knihovnamí spekter. Každé měření bylo provedeno dvakrát ( $n = 2$ ). Obsah identifikovaných sloučenin byl vyjádřen semikvantitativně pomocí metody vnitřního standardu. Průměrný retenční čas (TR) byl vypočítán jako aritmetický průměr z jednotlivých měření.

Výsledky senzorického hodnocení jsou vyjádřeny jako průměr hodnocení všech hodnotitelů ( $n = 10$ ) a graficky znázorněny, chybové úsečky vyjadřují směrodatnou odchylku měření.

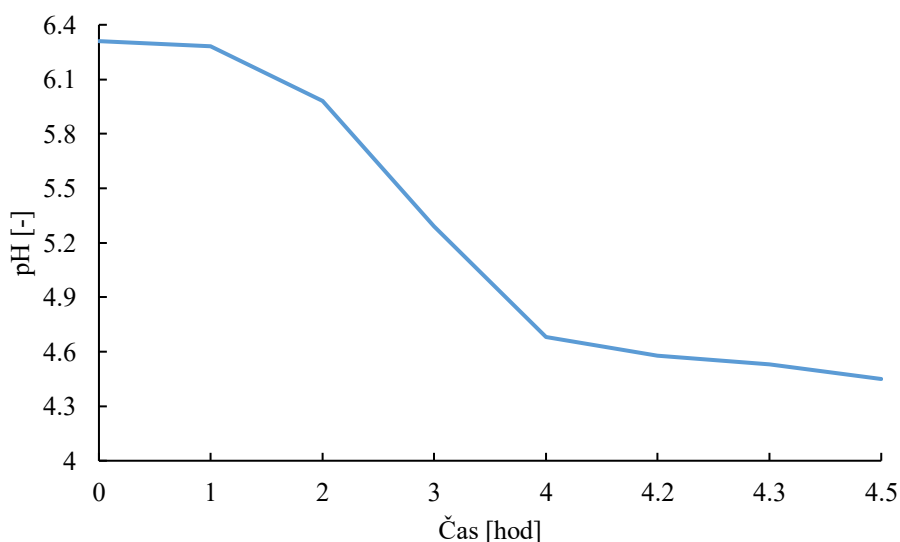
## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Tato práce se zabývá problematikou lyofilizace jogurtu a probíhá ve spolupráci s Univerzitou obrany v Brně. Nejprve byla provedena optimalizace výroby bílého jogurtu, vyrobené vzorky jogurtu byly lyofilizovány a následně byl lyofilizovaný jogurt rekonstituován zpětným přidavkem vody. Hlavním záměrem bylo dosáhnout stejných vlastností jogurtu po rekonstituci (chemických, fyzikálních, sensorických i mikrobiologických), jako u jogurtu čerstvého.

### 4.1 Příprava jogurtové kultury

Jogurtová kultura byla připravena dle návodu na obalu komerční jogurtové kultury. Jeden sáček byl rozmíchán v 1 litru mléka, které bylo pasterováno při 85–90 °C po dobu 2 minut. Standardní fermentace jogurtové kultury je 3–6 hodin při 43–45 °C do dosažení pH 4,3–4,5.

Průběh prokysávání byl měřen pomocí pH metru vždy v intervalu 1 hodiny (viz kysací křivka na Obrázku 6). Jakmile pH kleslo pod hodnotu 5, bylo měření kultury prováděno každých 10 minut do požadované hodnoty 4,4. Poté byla fermentace ukončena a kultura byla uchovávána v chladničce při teplotě 4–6 °C max. po dobu 14 dní.

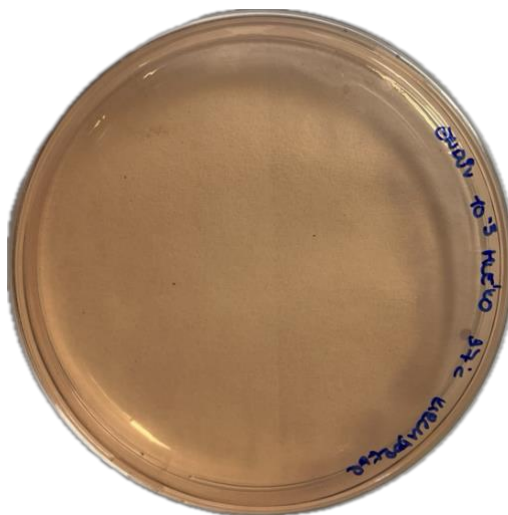


Obrázek 6: Průběh prokysávání jogurtové kultury při fermentaci

### 4.2 Optimalizace výroby jogurtu

Připravená jogurtová kultura byla použita pro výrobu jogurtu. Postup výroby je vesměs stejný jako výroba jogurtové kultury, pro dosažení žádoucí textury je však nutné zvýšit obsah sušiny, např. přidavkem sušeného mléka. Vzhledem k riziku možné kontaminace bylo sušené mléko nejprve zkontrolováno z hlediska mikrobiologické kvality dle normy ČSN 5696/01 [68], zkouška potvrdila jeho nezávadnost (viz Obrázek 7).

V rámci optimalizace byly vyrobeny tři jogurty s různým přidavkem sušeného mléka 6–10 % hm. (viz Tabulka 3). Nejlepší vzorek jogurtu byl vybrán na základě sensorické analýzy a instrumentálního měření reologických (texturních) vlastností.



Obrázek 7: Mikrobiologická zkouška sušeného mléka

#### 4.2.1 Senzorické hodnocení textury

K dosažení optimální textury byl vytvořen dotazník sensorického hodnocení (viz Příloha 1). Byly vyrobeny tři druhy jogurtů s jiným přídatkem % hm. sušeného mléka (značení viz Tabulka 3). K vyrobeným vzorkům byl přidán i vzorek komerčně dostupného jogurtu jako standardu s kódem ST.

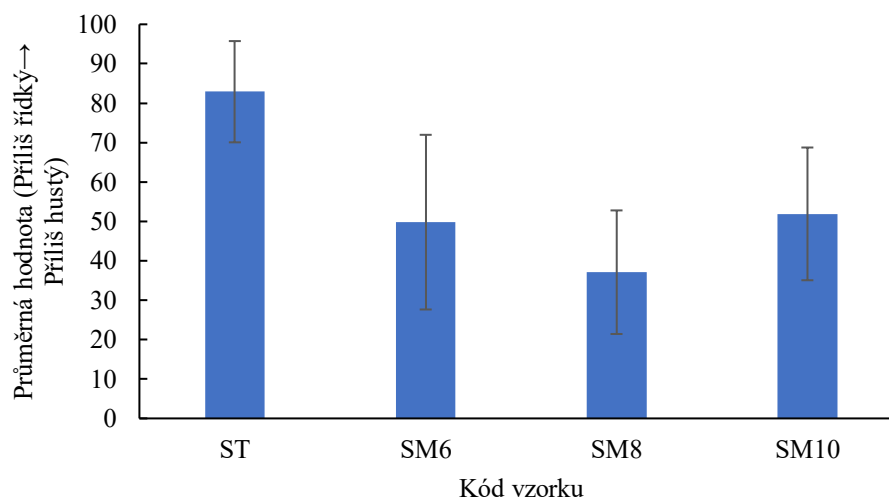
Vzorky byly nejprve hodnoceny jednoduše z hlediska hustoty (příliš řídký → příliš hustý) pomocí grafické stupnice. Výsledky jsou uvedeny v grafu na Obr. 8. Následně byl použit pořadový test, sestavený také z hlediska textury (nejlepší → nejhorší). Výsledky jsou prezentovány jako součet pořadí (viz Tabulka 13).

Z grafu na Obr. 8 je dobře patrné, že vzorek s přídatkem 8 % hm. sušeného mléka, tedy SM8 byl shledán jako nejvíce řídký. Na pohled byl popsán jako hladký bez viditelných hrudek. I přes svoji nižší hustotu byl shledán jako adekvátní.

Vzorek s označením ST byl podle hodnotitelů nejhustší, což bylo ale podle výsledků pořadového testu nevyhovující. I když měl přijatelnou strukturu s občasnými hrudkami, byl příliš hustý. V ústech byl pevný a nerozplýval se na jazyku v porovnání s ostatními vzorky. Někteří hodnotitelé popsali jeho strukturu jako lehce sražený a jemně zrnitý.

Vzorek SM6, tedy s přídatkem 6 % hm. sušeného mléka, hodnotitelé popsali jako jemný, lehce řidší s občasnými malými hrudkami.

Vzorek SM10 byl hodnocen jako nejlepší. Měl podle hodnotitelů nejpříjemnější texturu, hladkou a s minimem hrudek. Byl popsán jako pevný až gelovitý a byl svojí konzistencí přirovnán ke tvarohu.



Obrázek 8: Výsledky sensorického hodnocení textury jogurtu (použitá stupnice příliš řídký→příliš hustý); ST-standard; značení vzorků viz. Tabulka 3

Tabulka 13: Pořadový test z hlediska textury (nejlepší→nejhorší vzorek)

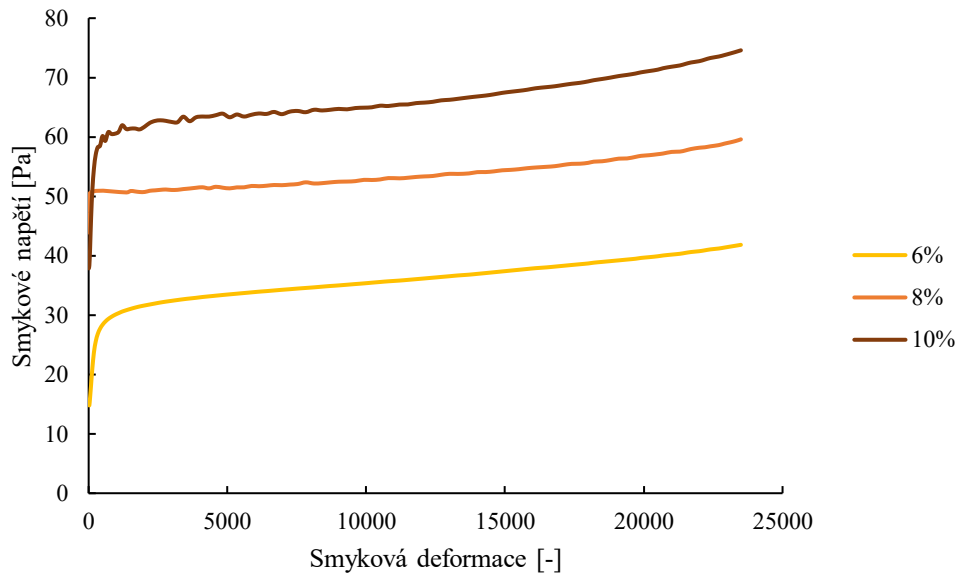
Hodnotitel	Kód vzorku			
	ST	SM6	SM8	SM10
1	4	2	3	1
2	4	3	1	2
3	2	4	1	3
4	4	1	3	2
5	2	3	4	1
6	4	1	2	3
7	4	2	3	1
8	4	2	1	3
9	4	2	3	1
10	1	3	4	2
Součet pořadí	33	23	25	19

ST-standard; značení vzorků viz Tabulka 3

Překvapivě byl nejhůře hodnocen komerčně dostupný jogurt ST, který byl některými hodnotiteli hodnocen „sražený“ nebo některými „příliš hustý“. Nejlépe byl hodnocen vzorek s kódem SM10, který byl následně použit pro lyofilizaci.

#### 4.2.2 Reologická analýza čerstvého jogurtu

Pro lepší představu o vlivu přídavku sušeného mléka na texturu byly tyto vzorky čerstvých jogurtů podrobeny reologické analýze.



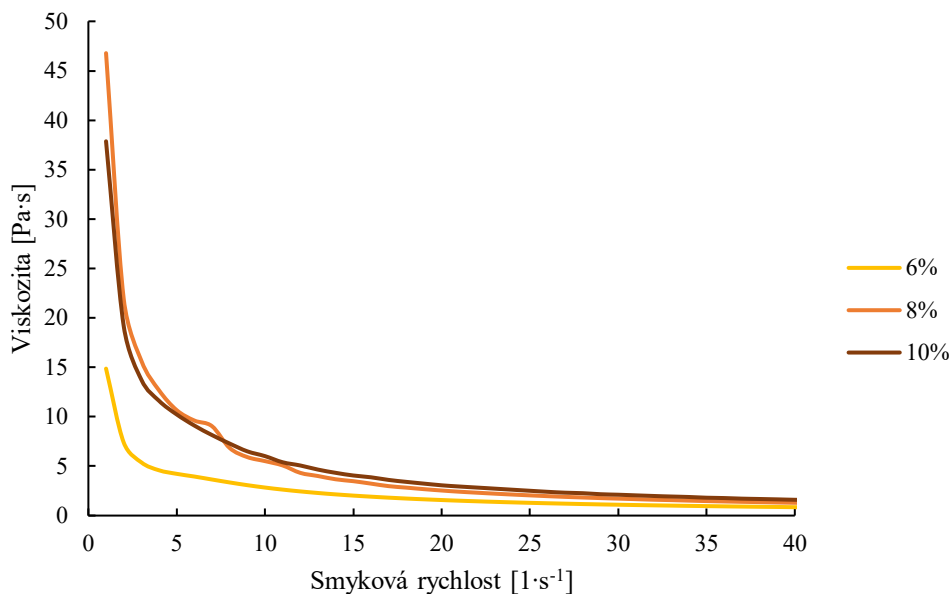
Obrázek 9: Reologická analýza čerstvých jogurtů

Z tokových křivek na Obrázku 9 je dobře patrné, že u všech vzorků jogurtu při rostoucí smykovém napětí dochází k postupnému nárůstu deformace.

V souladu se sensorickým hodnocením a podle očekávání má největší hodnotu vzorek s přídavkem 10 % hm. sušeného mléka. Můžeme říct, že je odolnější vůči deformaci, vzhledem k jeho hustotě, tedy má nejpevnější strukturu. Na obrázku 9 lze pozorovat jeho mírný nárůst při zvyšování hodnoty smykové deformace což poukazuje na jeho viskoelastický charakter.

U vzorku s přídavkem 8 % hm. sušeného mléka lze pozorovat mírnější nárůst při zvyšování smykového napětí a také menší úhel při zvyšování smykové deformace. To značí jeho nižší hustotu, tedy jeho menší odolnost vůči deformaci při reologickém měření.

U vzorku s přídavkem 6 % hm. sušeného mléka lze pozorovat nejnižší hodnotu smykového napětí. To popisuje jeho malou odolnost vůči deformaci.



Obrázek 10: Viskozitní křivka čerstvých jogurtů

Na obrázku 10 můžeme pozorovat, že jogurt s přidavkem 10 % hm. sušeného mléka má na začátku měření vysokou hodnotu viskozity. Byl tedy dle očekávání a sensorického hodnocení nejhustší ze všech analyzovaných vzorků. Jogurt s přidavkem 10 % hm. vykazuje největší odolnost vůči deformaci. Je patrné, že jeho vysoká viskozita brání porušení struktury.

Při měření vzorku s 8 % hm. sušeného mléka lze pozorovat největší počáteční viskozitu, ale rychlejší pokles při rostoucí smykové rychlosti. Počáteční hodnota viskozity mohla být způsobena přítomností hrudek špatně rozmíchaného koagulátu a jeho nanesení na destičku reometru.

Při měření jogurtu s 6 % hm. sušeného mléka je pozorována nejmenší viskozita na začátku měření, což koreluje se sensorickou analýzou, kde hodnotitelé tento jogurt popsali jako „lehce tekutý“.

Všechny vzorky, dle reologické analýzy, vykazují chování neneutronovské kapaliny, protože při větším namáhání jejich viskozita klesá a stávají se více tekutými [44].

#### 4.2.3 Stanovení sušiny

Kvalita vyrobeného jogurtu byla ověřena ještě stanovením obsahu sušiny, byla použita standardní metoda sušení do konstantní hmotnosti (kap. 3.6). Obsah tukuprosté sušiny byl porovnán s legislativou, konkrétně vyhláškou 397/2016 Sb., kde je uveden obsah tukuprosté sušiny nejméně 8,2 % hm. v bílém jogurtu [5].

U jogurtu bez přidavku sušeného mléka (jogurtové kultury) bylo zjištěno 10 % hm. sušiny. Obsah tuku nebyl sledován, ale při použití mléka o tučnosti 1,5 % lze předpokládat obsah tuku 1–2 %, což odpovídá množství tukuprosté sušiny 8–9 %. Tato hodnota je na hraně požadované legislativou a potvrzuje nutnost zvýšení obsahu sušiny, k čemuž byl použit (jak je uvedeno výše) přidavek sušeného odstředěného mléka. Obsah sušiny vzorku s přidavkem 10 % hm. sušeného mléka (vybrán jako optimální) byl stanoven 19,5 % hm., odpovídající obsah tukuprosté sušiny je tedy 17,5–18,5 %. Tento vzorek vyhovuje požadavkům

legislativy a přídavek měl i očekávaný příznivý vliv na texturní vlastnosti jogurtu (viz kap. 4.2.1 a kap. 4.2.2).

### **4.3 Lyofilizace jogurtu**

Hlavním záměrem této práce je výroba a charakterizace lyofilizovaného jogurtu, vzorky jogurtu vybrané v předchozí kapitole jako optimální (přídavek suš. mléka 10 % hm.) byly tedy následně lyofilizovány. Lyofilizace probíhala na Univerzitě obrany v Brně, která disponuje potřebným kvalitním vybavením a má již zavedenou metodu pro lyofilizaci různých potravin. Podmínky nebylo nutné optimalizovat, byly převzaty z předchozí práce Omelkové [73], a jsou specifikovány v kap. 3.3. Jak je popsáno v následujících kapitolách, takto připravený lyofilizovaný jogurt byl velmi kvalitní a vcelku dobře přijímal vodu při zpětné rekonstrukci.

#### **4.3.1 Charakterizace lyofilizovaného jogurtu**

Byla provedena senzorická analýza lyofilizovaného jogurtu v práškové podobě. Jelikož je lyofilizovaný jogurt poměrně nový produkt, byl hodnotitelům byl předložen jednoduchý spotřebitelský dotazník. Cílem bylo zjistit celkové povědomí o lyofilizovaných jogurtech a přijatelnosti vyrobeného produktu. Použitý formulář je uveden v Příloze 2.

Jako první byly hodnotitelé dotázáni, zda znají lyofilizované výrobky. Všichni dotazovaní odpověděli, že lyofilizované výrobky znají. Většina z nich uvedla lyofilizované ovoce, někteří dokonce specifikovali, že znají lyofilizované jahody, maliny či borůvky.

Na druhou otázku, zdali se hodnotitelé setkali s lyofilizovaným jogurtem nebo jinými fermentovanými mléčnými výrobky odpověděli všichni zúčastnění „ne“.

Dále byli požádáni o zhodnocení lyofilizovaného jogurtu z hlediska chuti. Tři z pěti hodnotitelů chuť výrobku zhodnotili jako „dobrý“. Byl popsán jako příliš kyselý, ale konzumovatelný. Další z hodnotitelů popsal produkt jako ne zcela vyhovující a další jej zhodnotil jako „nechutná mi“ s poznámkou o jeho velké lepivosti a chování v ústech, kde se vytvoří lepkavá hmota.

Další otázkou položenou hodnotitelům bylo, jestli by si výrobek byli ochotni koupit. Tři z pěti by si výrobek nekoupili, zbylí dva hodnotitelé by si výrobek koupili.

V poslední otázce, týkající se využití jogurtového prášku, všichni hodnotitelé navrhli jeho účelu odpověděli využití k přípravě jogurtových nápojů či jako přídavek do jiných potravin, a tak obohacení nutriční hodnoty.

### **4.4 Rekonstituce lyofilizovaného jogurtu**

Dalším krokem byla zpětná rekonstituce lyofilizovaného jogurtu. Bylo třeba nalézt vhodný přídavek vody pro dosažení optimální textury, co nejvíce podobné vzorku jogurtu čerstvě připraveného.

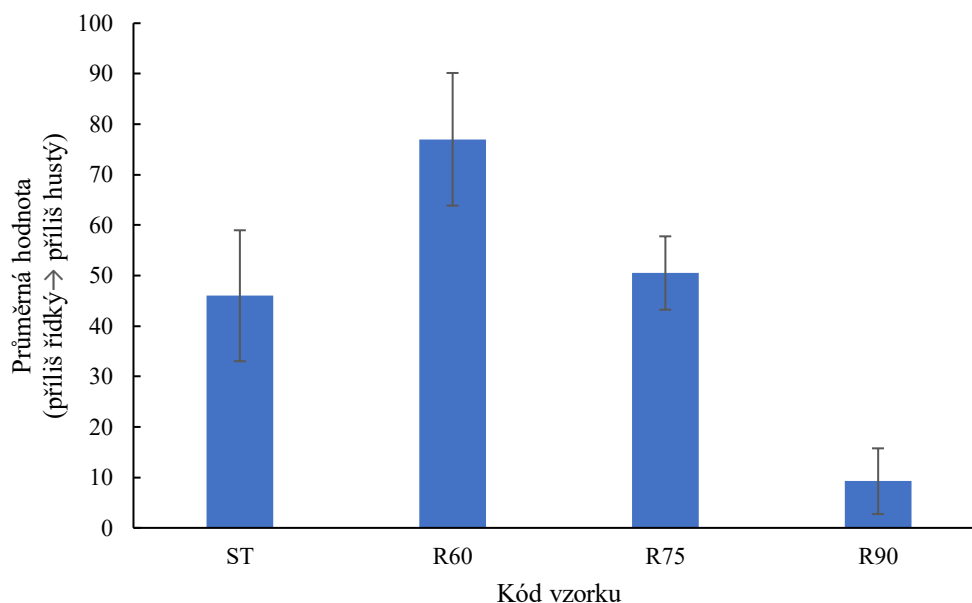
K rekonstrukci byly na základě literatury vybrány tři varianty % hm. přídavku vody [67] s drobnými úpravami, vzhledem k jiným podmínkám lyofilizace a textury čerstvého jogurtu. Přídavek byl také určen na základě zvážení, kde z původních 50 g čerstvého jogurtu bylo získáno 10 g lyofilizovaného jogurtu v práškové podobě.

K 10 g lyofilizovaného jogurtu bylo přidáno 60, 75 a 90 % vody z původního množství vlhkosti, zjištěné pomocí rozdílu hmotnosti čerstvého jogurtu a lyofilizovaného.

Optimální varianta byla opět vybrána na základě senzoričkého hodnocení a instrumentálního měření texturních vlastností.

#### 4.4.1 Senzoričké hodnocení

K dosažení optimálního přídávku vody k lyofilizovanému jogurtu a tím jeho nejlepší přijatelnost byly rehydratované vzorky podrobeny senzoričké analýze. Byly vyrobeny tři vzorky s různým přídávkem vody.



Obrázek 11: Senzoričké hodnocení textury rekonstituovaného jogurtu (použitá stupnice příliš řídký→příliš hustý);

ST – standard; R60-R90 – jogurt s 60-90 % hm. přidané vody

Tabulka 14: Senzoričké hodnocení textury rekonstituovaných jogurtů

Hodnotitel	Kód vzorku			
	ST	R60	R75	R90
1	1	3	2	4
2	2	3	1	4
3	2	3	1	4
4	4	2	1	3
5	1	4	2	3
6	3	1	2	4
7	1	3	2	4
8	1	3	2	4
9	2	3	1	4
10	1	4	2	3
Součet pořadí	18	29	16	37

ST-standard; R60-R90 – jogurt s 60-90 % hm. přidané vody

Hodnocení probíhalo dle formuláře v Příloze 1. Vzorky byly nejprve hodnoceny z hlediska hustoty (příliš řídký→příliš hustý) pomocí jednoduché grafické stupnice. Výsledky jsou uvedeny v grafu na Obr. 11. Poté byl použit pořadový test, postavený také na textuře (nejlepší→nejhorší). Výsledky jsou prezentovány jako součet pořadí (viz Tabulka 14).

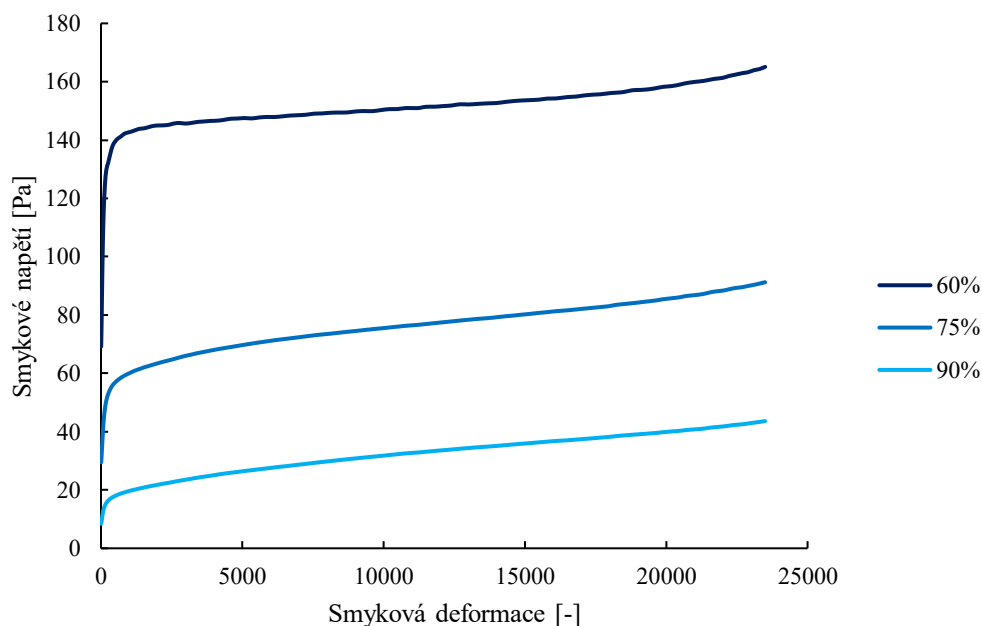
Z hlediska textury byl nejlépe hodnocen vzorek se 75 % hm. vody. Byl popsán jako nejvíce podobný komerčně dostupným jogurtům. K těm byl přirovnán i jogurt s kódem ST, což byl čerstvý jogurt, použitý jako standard. Vzorek s přidavkem 60 % hm. byl popsán jako velmi hustý a hutný, hodnotitelé také z hlediska textury popsali, že po pozření jde cítit jemný povlak na jazyku. Nejhůře byl dle očekávání hodnocen vzorek s kódem R90, kde bylo přidáno 90 % hm. z původního množství. Vzorek byl popsán jako „řídký“ a připomínající spíše „jogurtový nápoj“.

Z hlediska přijatelnosti a celkového dojmu byly všechny vzorky kromě standardu popsány jako ucházející s občasnými hrudkami. To může být způsobeno neúplnou rekonstitucí lyofilizovaného prášku.

Vzorek s přidavkem 75 % hm. vody byl dle z výsledků pořadové zkoušky vyhodnocen jako nejvíce podobný standardu, byl tedy použit pro další analýzy.

#### 4.4.2 Reologická analýza

Tytéž vzorky rekonstituovaných jogurtů byly podrobeny i reologické analýze.



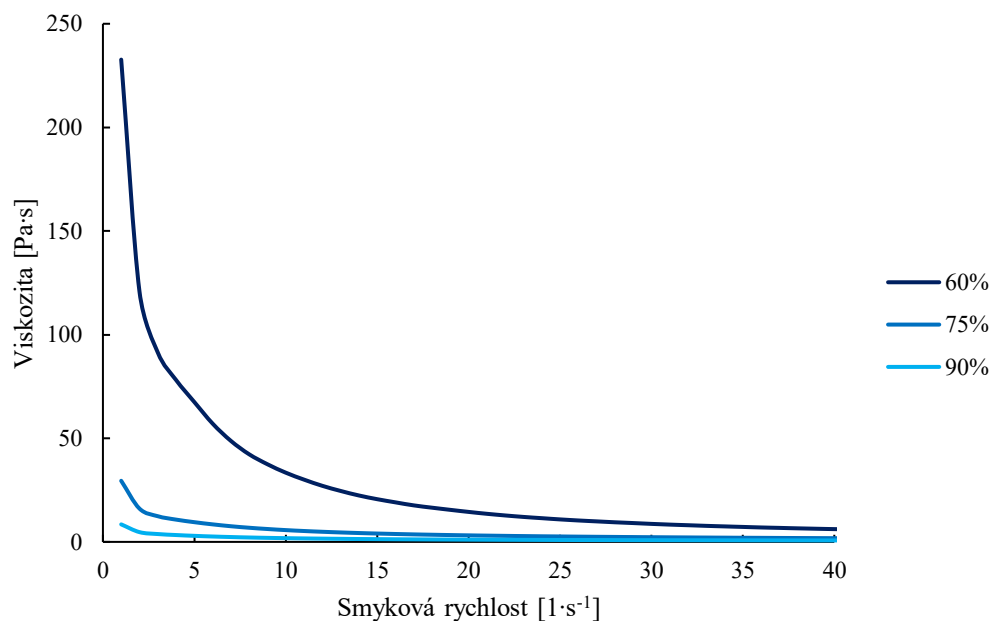
Obrázek 12: Reologická analýza rekonstituovaného jogurtu

Z tokových křivek na Obrázku 12 je dobře patrné, že všechny vzorky jogurtů mají podobný nárůst, což značí, že na začátku měření se chovají stejně a nedochází k porušení struktury. S dalším namáháním je u všech jogurtů vidět deformace struktury (zaoblení) a také zpomalení nárůstu.

Jogurt s přidavkem 60 % hm. vody byl nejhustší, má nejvyšší hodnoty smykového napětí. Je pozorovatelné jeho nejvíce zřetelné zaoblení, protože jeho pevná struktura se pomalu narušila, ale klade větší odpor kvůli své hustotě.

Při analýze jogurtu s přidavkem 75 % hm. je vidět mírnější zaoblení a také menší nárůst při počátečním namáhání.

Vzorek s přidavkem 90 % hm. vody kladl nejmenší odpor, vzhledem k vysokému obsahu vody. Proto můžeme pozorovat nejmenší nárůst a nevýrazné zaoblení přechodu, jelikož nekladl takový odpor jako ostatní vzorky.

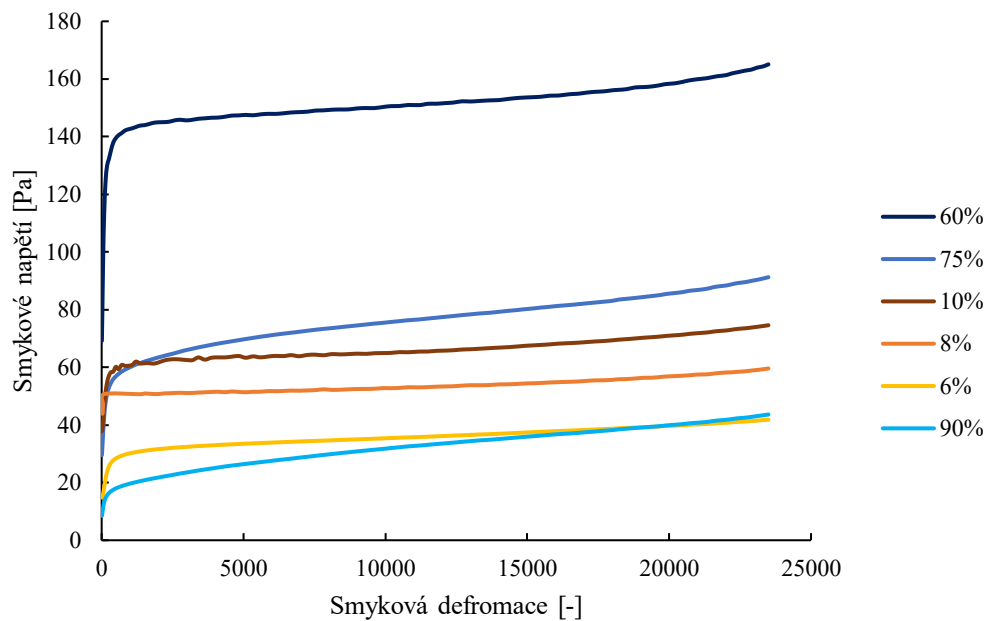


Obrázek 13: Viskozitní křivka rekonstituovaného jogurtu

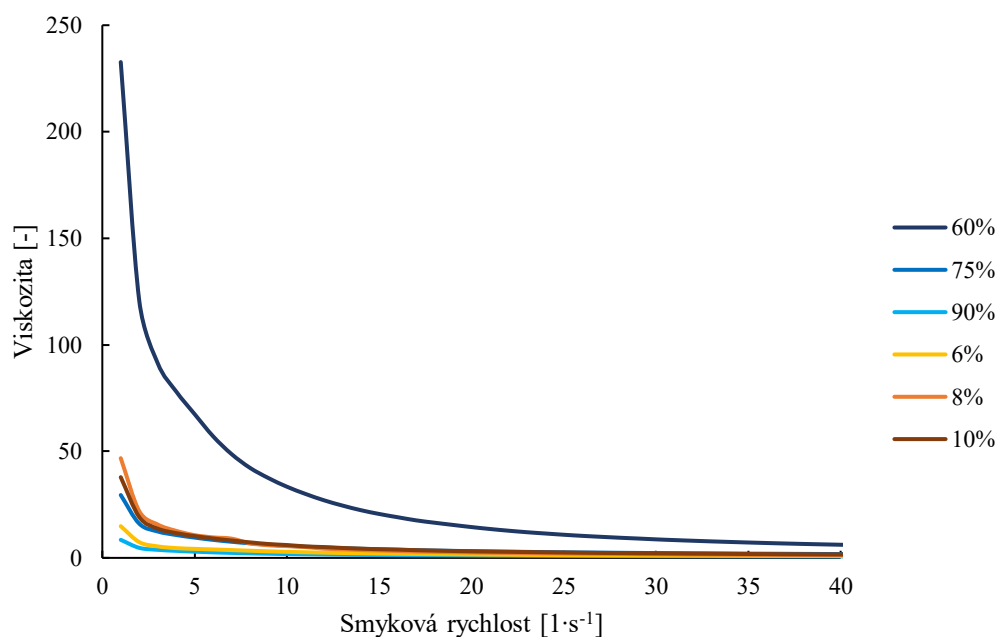
Z viskozitních křivek na Obrázku 13 lze pozorovat pokles viskozity s rostoucí smykovou rychlostí. U vzorku s 60 % hm. vody je vidět prudký pokles, vzhledem k malému obsahu vody. U dalších dvou vzorků je pokles zanedbatelný v porovnání s nejhustším vzorkem. Nejhustší jogurt tedy kladl největší odpor ze všech tří vzorků při smykovém namáhání. Při klesání viskozity se gelovitá struktura jogurtu narušovala a přecházela v tekutou. To potvrzuje tvrzení, že jogurt je neneutronovská kapalina [44].

#### 4.4.3 Porovnání reologických analýz – čerstvý vs. rekonstituovaný

Pro lepší představu o textuře jogurtu čerstvého a rekonstituovaného byla porovnána data získaná ze všech reologických měření.



Obrázek 14: Porovnání reologie čerstvého a rekonstituovaného jogurtu



Obrázek 15: Porovnání viskozitních křivek čerstvého a rekonstituovaného jogurtu

Při porovnání čerstvých a rekonstituovaných vzorků (viz Obrázek 14 a 15) lze vidět, že jogurt s přídavkem 60 % hm. vody byl nejhustší ze všech analyzovaných vzorků a výrazně se liší od čerstvě připravených jogurtů. To vypovídalo o jeho pevnosti a větší odolnosti při smykovém namáhání. Odpovídá to i hodnocení v senzorické analýze (viz kap. 4.4.1), kde byl popsán jako příliš hustý a hutný. Vzorky s přídavkem 8 a 10 % hm. spolu s rekonstituovaným vzorkem 75 % hm. vody mají podobné počáteční chování při smykovém namáhání, po delším namáhání se však jejich chování liší. „Optimální“ čerstvý jogurt (přídavek sušeného mléka 10 % hm.) a „optimální“ rekonstituovaný jogurt (přídavek vody 75 % hm.) mají průběh obou křivek velmi

podobný, lze tedy tvrdit, že se podařilo dosáhnout textury odpovídající vzorku jogurtu čerstvě připravenému.

To ostatně potvrzuje i preference hodnotitelů (viz kap. 4.4.1), kde vzorek s přidavkem 75 % hm. vody přirovnali ke komerčně dostupnému jogurtu.

#### **4.4.4 Stanovení sušiny**

Po provedení senzorycké analýzy rekonstituovaných jogurtů byl vybrán jako optimální jogurt s přidavkem 75 % hm. původní vlhkosti. Obsah sušiny tohoto vzorku byl stanoven na 22,6 % hm., odpovídající obsah tukuprosté sušiny je tedy 20,6–21,6 %. Tento vzorek tedy vyhovuje požadavkům legislativy, kde by měl jogurt obsahovat nejméně 8,2 % hm. tukuprosté sušiny [5]. Pokud zjištěnou hodnotu srovnáme s jogurtem čerstvě připraveným (obsah tukuprosté sušiny 17,5–18,5 %; viz kap. 4.2.3), očekávaný vyšší obsah sušiny mohl být zapříčiněn i špatnou rekonstitucí viz kap. 4.4.1, kde hodnotitelé vyzdvihovali hrudkovitost vzorku. Tato skutečnost může být způsobena lyofilizací, kde dle literatury [66] může při lyofilizaci dojít k narušení proteinů a tím špatné rekonstituci produktu.

### **4.5 Charakterizace vyrobených vzorků**

Na závěr byly charakterizovány a porovnány všechny tři typy jogurtu (čerstvý vs. lyofilizovaný vs. rekonstituovaný) a to z hlediska profilu těkavých látek, mikrobiálního profilu a senzorycké kvality.

#### **4.5.1 Stanovení těkavých látek**

##### **4.5.1.1 Optimalizace metody GC-MS**

Pro lepší stanovení těkavých látek byla nejprve optimalizována metoda GC-MS. Na základě rešerše byly vybrány parametry, které by mohly ovlivňovat stanovení těkavých látek jogurtu. Byly upraveny podmínky analýzy, testováno vhodné množství analyzovaného vzorku či přidavku činidel ke vzorku s cílem dosažení vyšší citlivosti a selektivity analýzy.

Pro optimalizaci metody byl použit vzorek vyrobeného čerstvého jogurtu. Nejdříve byl po vzoru literatury [49] s drobnými úpravami ke vzorku přidán solný roztok, pro lepší disociaci těkavých látek a lepší odezvu a také lepší přechod těkavých látek do plynné fáze. Bylo vyzkoušeno různý poměr vzorku:solnému roztoku, kde jako nejlepší se zdál přidavek 0,5 g vzorku a 1,0 g solného roztoku. Bylo vybráno co nejmenší množství, aby ve vialce zůstal dostatečný prostor nad kapalinou, a tak byla dosažena lepší extrakce těkavých látek. Dále byly upraveny některé parametry HS-SPME-GC-MS metody používané v předchozích pracích. Na Obrázku 16 lze pozorovat chromatogram jogurtu při použití původní metody. Na chromatogramu je zřejmé, že původní nastavení programu nebylo vyhovující z hlediska nerovné základní linie („baseline“), která se na začátku a ke konci analýzy zvedá, což značí, že se těkavé látky pozdě eluují. Píky jsou široké a nerozlišené, některé z nich se na konci rozmývají, a to může indikovat špatný teplotní program.

Jako první byla změněna počáteční teplota analýzy. Po vzoru literatury s drobnějšími změnami [74] byla vyzkoušena nižší teplota 30 °C, což bylo minimum vzhledem k typu přístroje. Účelem snížení teploty bylo dosažení rovnější „baseline“ a maximální zachycení nízkovroucích těkavých látek.

Na počátku chromatogramu se vyskytovaly nekvalitní píky, pravděpodobně v důsledku přítomnosti rychle eluujících nečistot., které zkreslovaly píky sledovaných látek, a ukázalo se jako vhodné posunout počáteční dobu skenování. Vzhledem k tomu, že bylo cílem zachytit co nejvíce těkavých látek, byly vyzkoušeny doby 2,5 min., 6 min. a 7,5 minuty. Při použití 2,5 minuty byly píky nerozlišitelné a rozmyté. „Baseline“ chromatogramu byla vyšší než při použití 6 minut. Proto byla vyzkoušena druhá alternativa, a to počáteční doba skenování 7,5 minuty. Ta se ukázala jako adekvátní k analýze a byla použita při další optimalizaci.

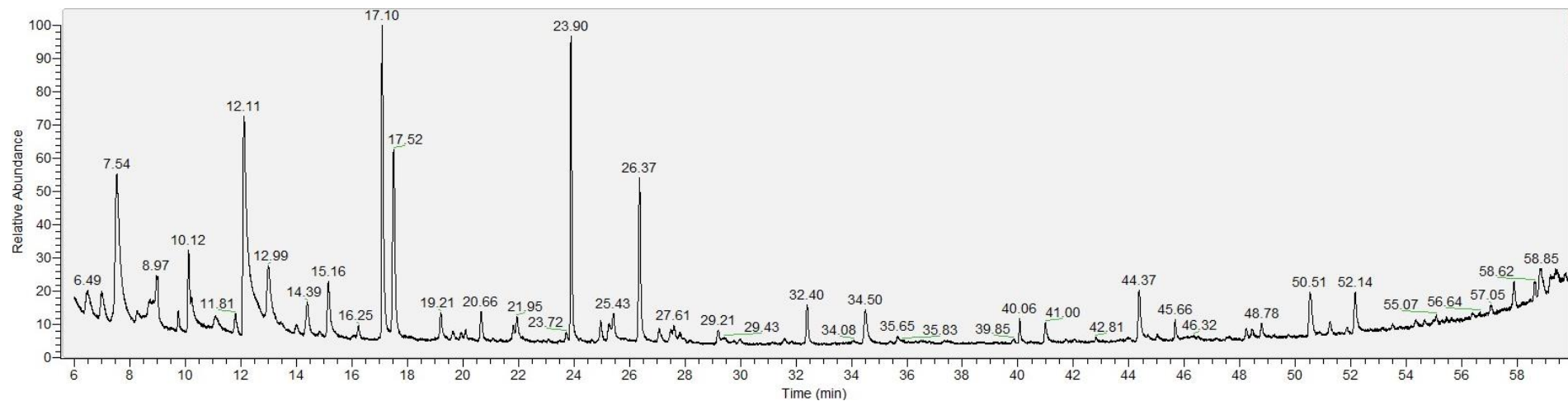
Pro dávkování vzorku na kolonu byla použita technika „splitless“ (tj. dávkování bez děliče toku). Správně nastavené parametry mohou také významně ovlivnit kvalitu chromatogramu. Tato úprava byla provedena ke zlepšení ostrosti píků, které v původní metodě nebyly příliš ostré a také ke zúžení samotných píků. Z původního „split flow“, které bylo nastaveno na  $5,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$  byla hodnota navýšena na  $25 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ . „Splitless time“ (tj. doba uzavření děliče toku) byl z původních 10 min snížen na 5 min.

Co se týče SPME extrakce, pro zamezení ztráty citlivějších látek byla snížena doba inkubace z původních 10 min. na 5 min. Čas byl zkrácen kvůli možné degradaci látek, a tak jejich nezachycení v analýze. Snížení inkubačního času snižuje také celkovou dobu analýzy, což může být do budoucna lepší z hlediska úspory času. Byla ale prodloužena doba extrakce. Tato změna byla provedena kvůli zachycení co nejvíce těkavých látek a jejich absorpci na vlákno, jako jsou méně těkavé kyseliny, které dodávají jogurtu jeho aroma a chuť. Z původních 20 minut byla extrakce prodloužena na 35 minut. Pro zlepšení detekce a zmenšení plochy píků byla naopak zkrácena GC-MS analýza na 35 minut z původních 60 minut. Tento parametr byl změněn také kvůli zrychlení analýzy a zlepšení citlivosti. Na Obrázku 17 je pro srovnání uveden chromatogram získaný s použitím optimalizované metody. Lze pozorovat větší množství píků a jejich lepší rozlišení, takže tímto je potvrzeno, že snížení „split flow“ a „splitless time“ mělo kýžený výsledek ve zlepšení ostrosti píků a jejich zúžení. Další zlepšení oproti původní metodě bylo po úpravě doby extrakce, kde jde na chromatogramu vidět větší množství zachycených látek. Po zkrácení doby analýzy a snížení doby inkubace došlo ke zlepšení citlivosti a nedošlo ke ztrátám analyzovaných látek, které by při snížení doby inkubace mohly být ztraceny. Výsledné optimální parametry metody jsou uvedeny v experimentální části práce (kap. 3.4.4).

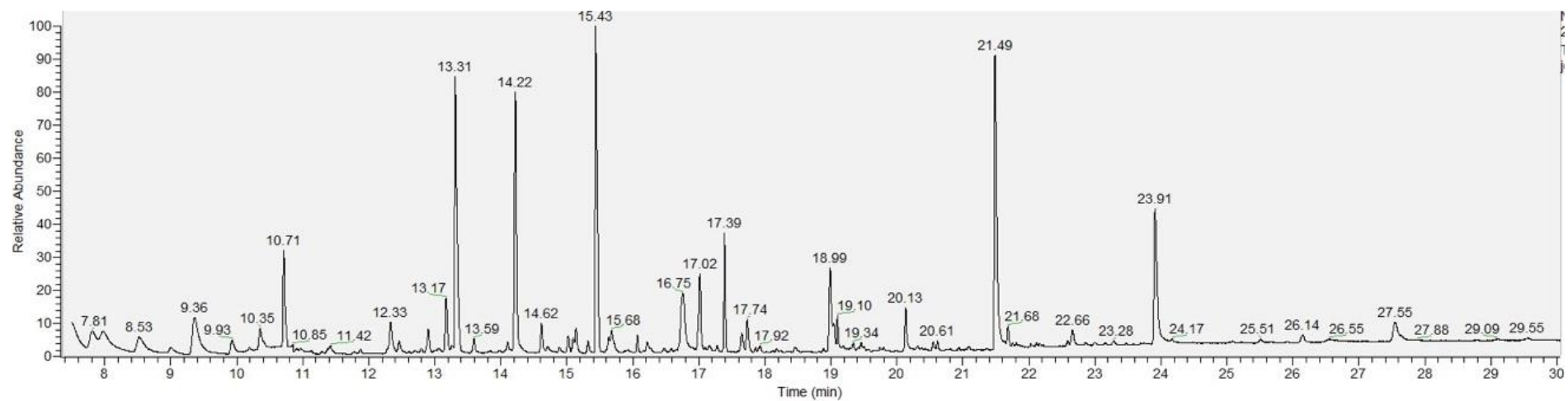
Pro kvantifikaci (resp. semikvantifikaci) identifikovaných těkavých látek byla použita metoda vnitřního standardu. Jako vnitřní standard se používá látka, která není ve vzorku přítomna, má jinou hodnotu retenčního času než sledovaná látka, musí poskytovat dobře vyhodnotitelný pík. Pro tyto účely byly vybrány tři látky – methylisobutylketon, heptan-2-ol a kyselina heptanová. Tyto látky byly vybrány na základě svých retenčních časů a chemické klasifikace, ve vzorcích jogurtu se nevyskytují (chromatogram viz Obrázek 18).

Po optimalizaci podmínek byl po vzoru z literatury [49] s menšími úpravami do vzorku přidán směsný vnitřní standard (připravený kap. 3.4.4.1).

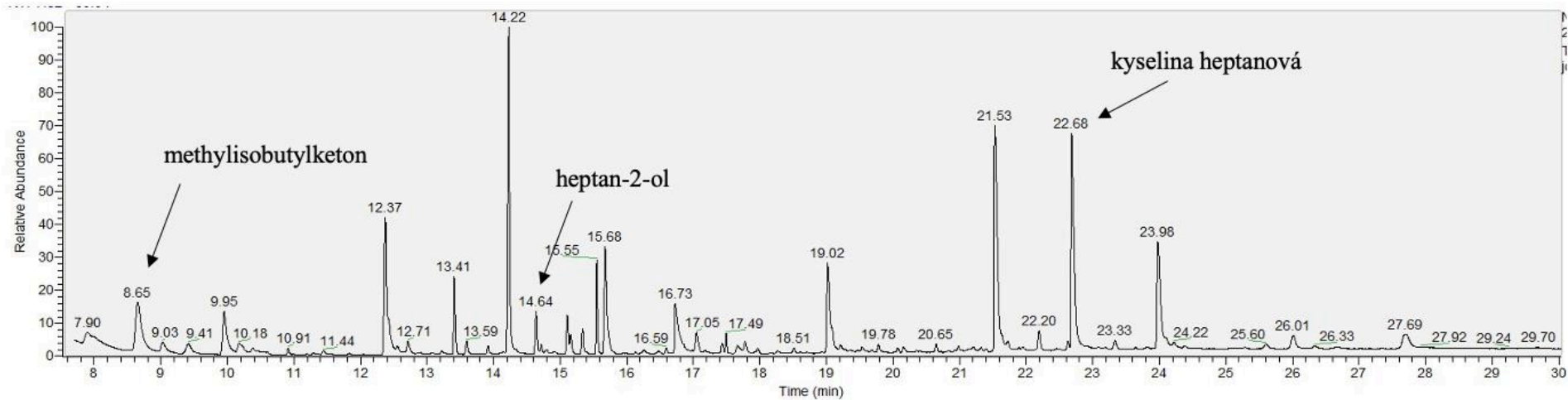
Při optimalizaci jeho přidavku byla vyzkoušena různá koncentrace všech látek. Nejprve byl vyzkoušen přídatek samotných standardů ke vzorku. Po vzoru literatury [49] byl vyzkoušen přídatek 40  $\mu\text{l}$ , který však byl příliš velký, jelikož všechny píky standardů převyšovaly i ostatní analyzované látky. Proto bylo zvoleno menší množství – 15  $\mu\text{l}$ , které bylo vybráno jako adekvátní přídatek.



Obrázek 16: Chromatogram těkavých látek jogurtu při použití původní metody



Obrázek 17: Chromatogram těkavých látek jogurtu při použití optimalizované metody



Obrázek 18: Chromatogram těkavých látek jogurtu s přidávanými standardy (použitá optimalizovaná metoda)

#### 4.5.1.2 Analýza vzorků

Po optimalizaci metody byly analyzovány vzorky čerstvého, lyofilizovaného a rekonstituovaného jogurtu. Celkem bylo ve všech vzorcích identifikováno 44 těkavých sloučenin vyskytujících se běžně ve vzorcích jogurtů, methylisobutylketon, heptan-2-ol a kyselina heptanová, jak již bylo zmíněno, jsou látky použité jako vnitřní standard.

Tabulka 15: Identifikované těkavé látky ve vzorcích čerstvého, lyofilizovaného a rekonstituovaného jogurtu

Název sloučeniny	Chemická klasifikace	T <sub>R</sub> [min]	Koncentrace ve vzorku [ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]		
			ČER	LYO	REK
3-methylbut-3-en-2-ol	alkohol	7,9	8,1	–	–
pentan-2-on	keton	8,0	–	143,2	44,4
methylisobutylketon (IS)	keton	8,7	25,0	25,0	25,0
ethyl butyrát	ester	9,4	62,9	–	–
but-2-enal	aldehyd	9,5	–	316,0	75,8
pentan-2,3-dion	keton	10,0	13,0	46,8	10,0
dimethyldisulfid	sírná sloučenina	10,2	3,5	–	–
hexanal	aldehyd	10,4	1,3	24,2	13,9
2,4-dimethylpentan-3-on	keton	11,3	–	–	5,0
hexan-2,3-dion	keton	11,4	–	16,1	2,8
ethyl valerát	ester	11,5	0,9	–	39,4
heptan-2-on	keton	12,4	31,6	134,4	78,5
3-methylbut-2-enal	aldehyd	12,7	2,1	49,6	9,0
ethyl hexanoát	ester	13,2	8,0	28,7	44,3
3-methylbut-3-en-1-ol	alkohol	13,7	10,2	3,1	1,1
oktanal	aldehyd	14,1	–	–	2,0
hexan-1-ol	alkohol	14,2	1,1	1,5	0,7
acetoin	keton	14,3	25,3	664,8	47,2
heptan-2-ol (IS)	alkohol	14,6	0,6	0,6	0,6
3-methylbutan-1-ol	alkohol	14,7	–	1,5	–
3-methylbuten-1-ol	alkohol	14,9	1,4	–	–
2-methylpentan-3-ol	alkohol	15,1	–	11,2	3,5
hexadekan-2-ol	alkohol	15,2	0,1	–	0,7
3-hydroxypentan-2-on	keton	15,3	3,7	67,9	–
nonan-2-on	keton	15,6	24,8	35,5	37,2

*TR* – retenční čas; *IS* – vnitřní standard; *ČER* – čerstvý jogurt; *LYO* – lyofilizovaný jogurt; *REK* – rekonstituovaný jogurt

Tabulka 15 pokračování: Identifikované těkavé látky ve vzorcích čerstvého, lyofilizovaného a rekonstituovaného jogurtu

Název sloučeniny	Chemická klasifikace	Tr [min]	Koncentrace ve vzorku [ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ]		
			ČER	LYO	REK
nonanal	aldehyd	15,7	–	41,0	16,2
kyselina octová	kyselina	16,7	13,5	4252,0	759,6
(E,E)-hexa-2,4-dienal	aldehyd	15,9	–	20,7	6,0
2-propylpentan-1-ol	alkohol	17,0	1,4	–	–
3-methylbut-2-en-1-ol	alkohol	14,7	–	–	1,1
ethyl kaprylát	ester	16,3	–	27,9	–
2-ethylhexan-1-ol	alkohol	17,1	1,6	–	5,2
benzaldehyd	aldehyd	17,7	–	17,3	5,1
Oktan-1-ol	alkohol	18,0	0,3	–	–
undekan-2-on	keton	18,5	0,9	–	1,2
okt-1-en-3-ol	alkohol	16,5	–	–	0,5
nonan-2-ol	alkohol	17,4	–	–	1,1
butyl heptanoát	ester	19,8	0,5	–	–
dekanal	aldehyd	17,2	–	–	2,6
kyselina butanová	kyselina	19,0	302,5	2670,0	1271,3
kyselina pentanová	kyselina	20,3	–	60,4	–
kyselina hexanová	kyselina	21,5	700,5	3226,9	2868,0
dimethylsulfon	siřná sloučenina	22,2	3,5	26,0	1,6
kyselina heptanová (IS)	kyselina	22,7	600,0	600,0	600,0
kyselina oktanová	kyselina	24,0	348,2	790,8	1149,6
methyl palmitát	ester	26,0	–	90,2	–
kyselina dekanová	kyselina	27,7	39,0	123,6	180,8

*TR – retenční čas; IS – vnitřní standard; ČER – čerstvý jogurt; LYO – lyofilizovaný jogurt; REK – rekonstituovaný jogurt*

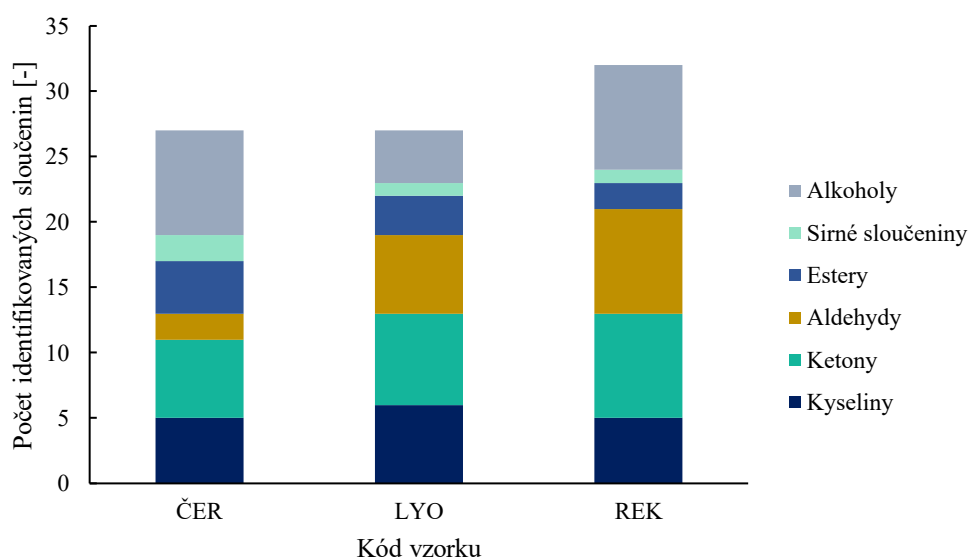
V Tabulce 15 lze vidět, že se ve všech vzorcích nachází acetoin, který v nízkých koncentracích dodává produktu příjemnou máslovou příchut'. I přesto, že čerstvý jogurt obsahuje vysoké množství kyselin – octová a butanová, nebyl dle senzoričké analýzy (viz kap. 4.5.3) shledán příliš kyselým. Naopak byl hodnocen velmi kladně, za jeho příjemnou, jemnou a svěží chuť mohla nejspíš koncentrace ethyl butyrátu, který dodává svěží a ovocnou chuť [75]. Dalším možným příspěvkem k chuti může být přítomnost hexanal, který v nízkých koncentracích dodává jogurtu svěží a „zelenou“ příchut'.

V případě lyofilizovaného jogurtu, který byl v kap. 4.3.1 popsán jako „příliš kyselý“ a „nevhodný k samotné konzumaci“, byly vysoce zastoupeny látky ze skupiny ketonů, aldehydů a kyselin. S největší pravděpodobností jeho kyselost měla na svědomí kyselina octová, která se dle literatury [19] v jogurtu nachází v koncentraci 0.5–18.8  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Její vysoká koncentrace proto přispěla octovou a kyselou chutí, která je jí dle literatury [75] připisována. Dalším důvodem mohla být vysoká koncentrace kyseliny butanové, hexanové

a oktanové, které ve vysokých koncentracích dodávají jogurtu nepříjemnou vůni a chuť. V případě acetoinu, který je považován za jednu z nejdůležitějších těkavých látek jogurtu, byla naměřena vysoká koncentrace, která mohla také hrát velkou roli v kyselosti a přijatelnosti vzorku. Obvyklá hodnota acetoinu v jogurtech je dle literatury [75] v rozmezí 1,2–28,2 mg · kg<sup>-1</sup>. Těmto hodnotám odpovídá lyofilizovaný jogurt, ten však i přes svůj průměrný obsah acetoinu nebyl hodnotiteli přijat kvůli kyselosti.

Po rekonstituci jogurtu se z hlediska těkavých látek změnila koncentrace většiny kyselin, která se oproti lyofilizovanému jogurtu snížila. I když byl rekonstituovaný jogurt v senzoričké analýze (viz kap. 4.5.3) v porovnání s čerstvým hodnocen jako více kyselý, byl přijat lépe než samotný prášek. Tuto „kyselost“ mohla mít na svědomí stále vysoká koncentrace kyselin – octové, dekanové, oktanové, butanové a hexanové. Kyselina oktanová v nízkých koncentracích přispívá k chuti jogurtu svým ovocným a karamelovým aroma. To mohlo dodat svěžest a sladkou chuť čerstvému jogurtu, kde její koncentrace byla nízká. Naopak při vyšších koncentracích může mít množství kyselin velký vliv na přijatelnost vzorku, protože přispívají k nežádoucí pachuti vzorku, který se, při konzumaci či samotnému přičichnutí, může jevit jako příliš kyselý, zapáchající nebo žluklý [4]. Při vysoké koncentraci kyseliny oktanové může dojít i k výskytu mýdlové chuti [75].

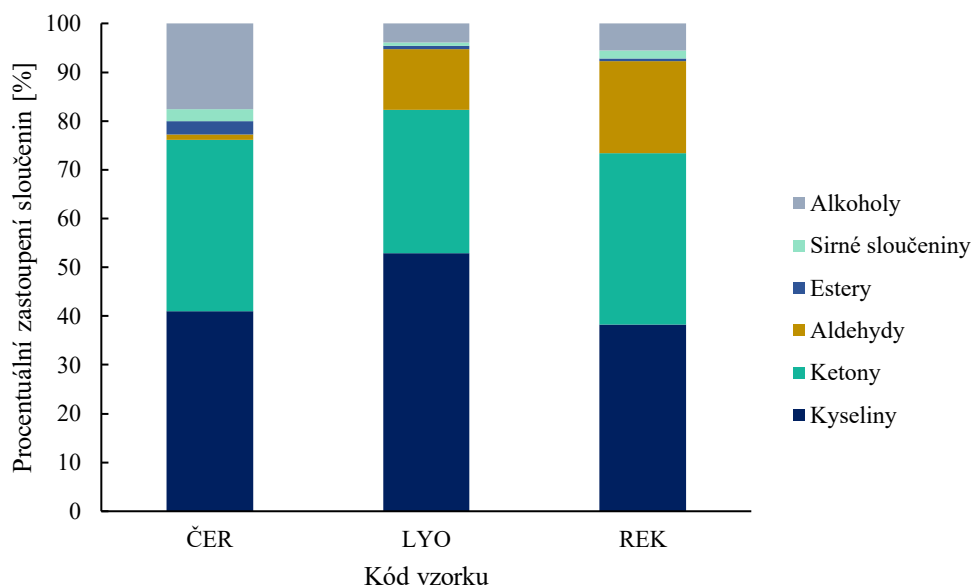
Při analýze těkavých látek byly identifikovány i sírné sloučeniny, které při vyšší koncentraci významně přispívají k nežádoucí pachuti jogurtu [19]. Ve vzorcích čerstvého jogurtu byly identifikovány dvě sírné sloučeniny, a to dimethyldisulfid a dimethylsulfon. Obě tyto sloučeniny byly přítomny v malém množství, a proto jejich přítomnost pravděpodobně neovlivnila chuť výrobku.



Obrázek 19: Počet identifikovaných sloučenin ve vzorcích jogurtů; ČER – čerstvý jogurt; LYO – lyofilizovaný jogurt; REK – rekonstituovaný jogurt

Na Obrázku 19 je vyobrazen počet identifikovaných sloučenin ve vzorcích jogurtu. Nejvíce těkavých sloučenin bylo identifikováno v rekonstituovaném vzorku, celkem 32. Velké zastoupení měly látky skupin alkoholů, ketonů a aldehydů. Nejvíce rozmanité složení má čerstvý jogurt (ČER), který i podle senzoričké analýzy (viz kap. 4.5.3) byl shledán

jako jemný a chutný. U lyofilizovaného vzorku převládají ketony a kyseliny, to dodává vzorku jeho kyselou chuť popsanou v kap. 4.3.1. U rekonstituovaného jogurtu bylo identifikováno podobně velké množství ketonů a aldehydů, které mohly zlepšit sensorické vlastnosti jogurtu oproti lyofilizovanému. Rekonstituovaný jogurt měl také vysoké zastoupení alkoholů a oproti lyofilizovanému obsahoval méně kyselin. To mohlo přispět k jeho lepší sensorické přijatelnosti.



Obrázek 20: Procentuální zastoupení sloučenin ve vzorcích jogurtů, ČER – čerstvý jogurt; LYO – lyofilizovaný jogurt; REK – rekonstituovaný jogurt

Obrázek 20 vyobrazuje procentuální zastoupení sloučenin v jogurtech, kde u čerstvého jogurtu převládají kyseliny (41 %), ale jsou doplněny velkým zastoupením ketonů (35 %) a 17,6 % alkoholu. To dodává jogurtu plnou a tradiční jogurtovou chuť a vůni. U lyofilizovaného jogurtu bylo analyzováno, že 52,8 % zastoupení sloučenin zabírají kyseliny. To má také vliv na jeho chuť a sensorickou kvalitu (viz kap. 4.3.1), kde byl hodnocen jako příliš kyselý. U rekonstituovaného jogurtu je zastoupení kyselin 38 %, tudíž méně než u lyofilizovaného a méně než u čerstvého jogurtu, ale u rekonstituovaného jogurtu je zvýšené množství aldehydů a to 18,8 % z celkového zastoupení.

## 4.5.2 Mikrobiální profil

### 4.5.2.1 Odhad počtu mikroorganismů

Pro orientační stanovení počtu mikroorganismů v čerstvém a rekonstituovaném jogurtu byla použita McFarlandova metoda, díky které lze stanovit průměrnou bakteriální koncentraci na základě měření zákalu.

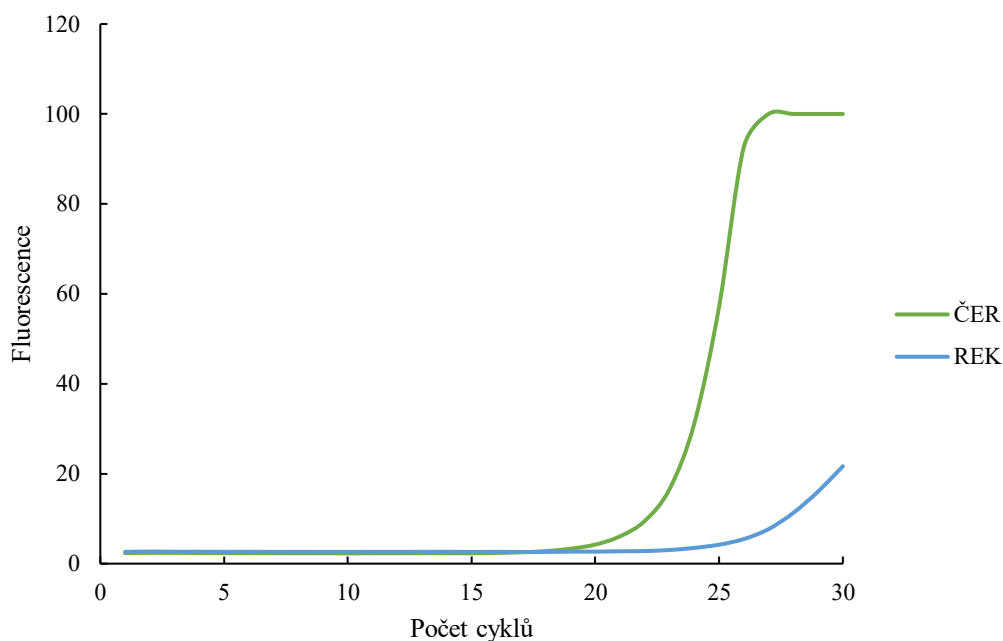
Při proměření čerstvého jogurtu byla průměrná bakteriální koncentrace, ve srovnání s McFarlandovým standardem, stanovena na hodnotu 4,0, což odpovídá  $12,0 \cdot 10^8$  (buňky/ml).

Při měření rekonstituovaného jogurtu byla hodnota McFarlandovy metody 2,7 což dle Tabulky 4 odpovídá průměrné bakteriální koncentraci  $8,1 \cdot 10^8$  buňky/ml.

Tato skutečnost naznačuje, že v rekonstituovaném jogurtu je podle očekávání méně životaschopných bakterií než ve vzorku čerstvého jogurtu.

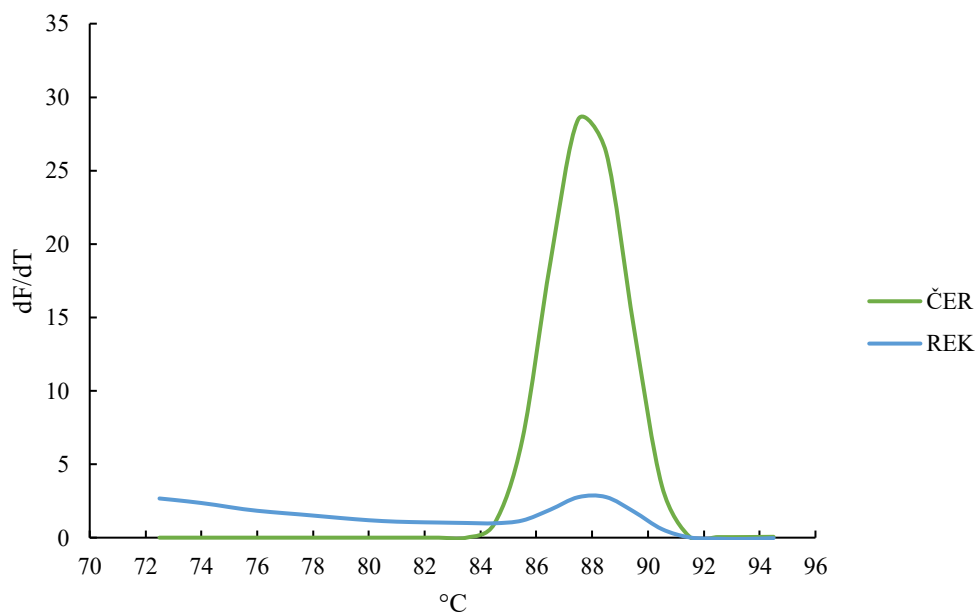
#### 4.5.2.2 Průkaz mikrobiální DNA

Pro porovnání čerstvého a lyofilizovaného jogurtu byly vzorky podrobeny PCR analýze. Nejprve byly vzorky analyzovány pro přítomnost domény *Bacteria*.



Obrázek 21: Amplifikační křivka pro doménu *Bacteria*

Z Obrázku 21 je patrné, že u čerstvého jogurtu (ČER) je dřívější nárůst fluorescence, to značí větší množství cílové DNA. U rekonstituovaného jogurtu (REK) je pozorovatelný pozdější a nízký nárůst fluorescence, což může být způsobeno lyofilizačním procesem, kterému byl jogurt podroben. Tato skutečnost může poukazovat i na množství přítomné DNA ve vzorku.

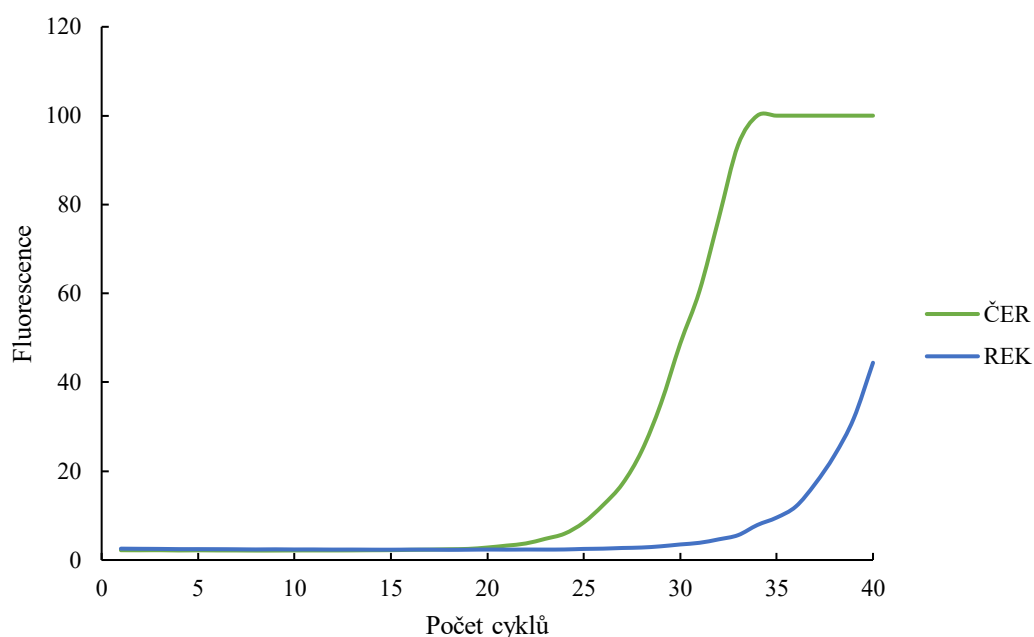


Obrázek 22: Derivovaná křivka tání pro doménu *Bacteria*

Při porovnání vzorků a jejich teplot tání je patrné, že oba vzorky mají podobnou teplotu tání – 87–88 °C. U čerstvého jogurtu je výrazný rozdíl ve výšce vrcholu, to dokazuje větší množství cílové DNA než ve vzorku rekonstituovaného jogurtu. Ten opět prokázal nízkou koncentraci DNA po lyofilizaci a následné rekonstituci.

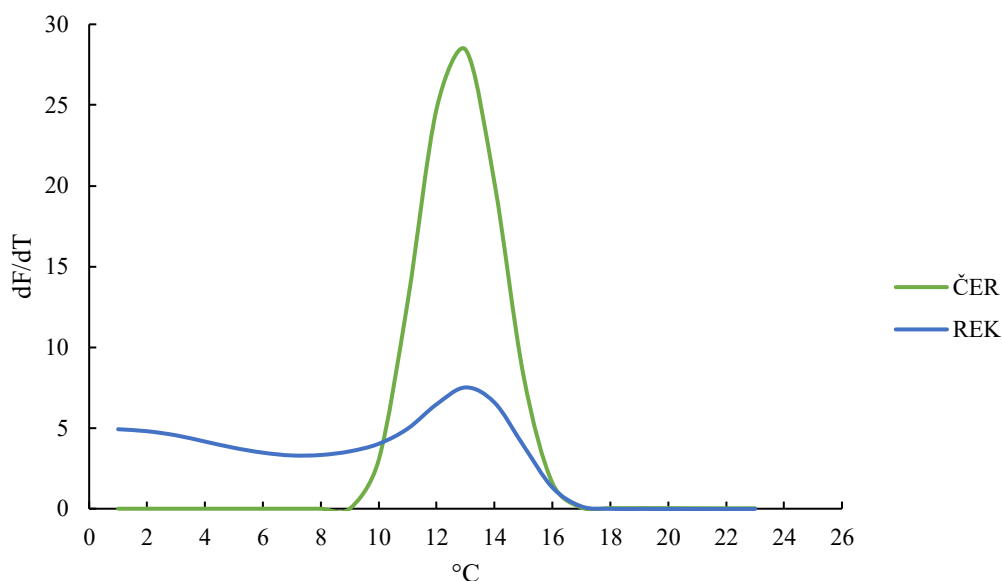
#### 4.5.2.3 Průkaz jogurtové kultury

Pro upřesnění vlivu lyofilizace na jogurtovou kulturu, kde je přítomen *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*, byly vzorky podrobeny qPCR. Vzorky byly podrobeny qPCR analýze (viz kap. 3.5.6) pro přítomnost druhu *Lactobacillus delbrueckii* a druhu *Streptococcus salivarius*, který spolu se *Streptococcus thermophilus* a *Streptococcus vestibularis* patří do skupiny viridujících streptokoků [76].



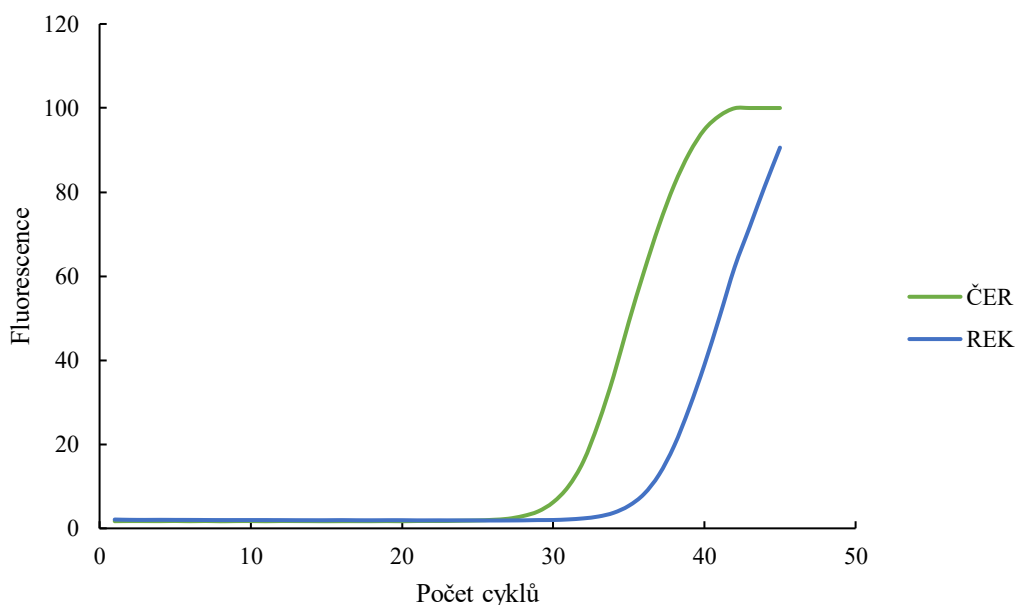
Obrázek 23: Amplifikační křivka pro druh *Lactobacillus delbrueckii*

Při analýze druhu *Lactobacillus delbrueckii* lze na Obrázku 23 pozorovat rychlý nárůst při analýze čerstvého (ČER) jogurtu. To značí vysokou koncentraci cílové DNA. Z dřívějšího začátku amplifikace lze říct, že ve vzorku čerstvého jogurtu je velké množství bakterií *Lactobacillus delbrueckii*. Naopak vzorek rekonstituovaného jogurtu má nižší koncentraci cílové DNA, tudíž je v něm přítomno nižší množství bakterií. To můžeme pozorovat jak na pozdějším nárůstu fluorescence, tak i nízké hodnotě samotné fluorescence.



Obrázek 24: Derivovaná křivka tání pro druh *Lactobacillus delbrueckii*

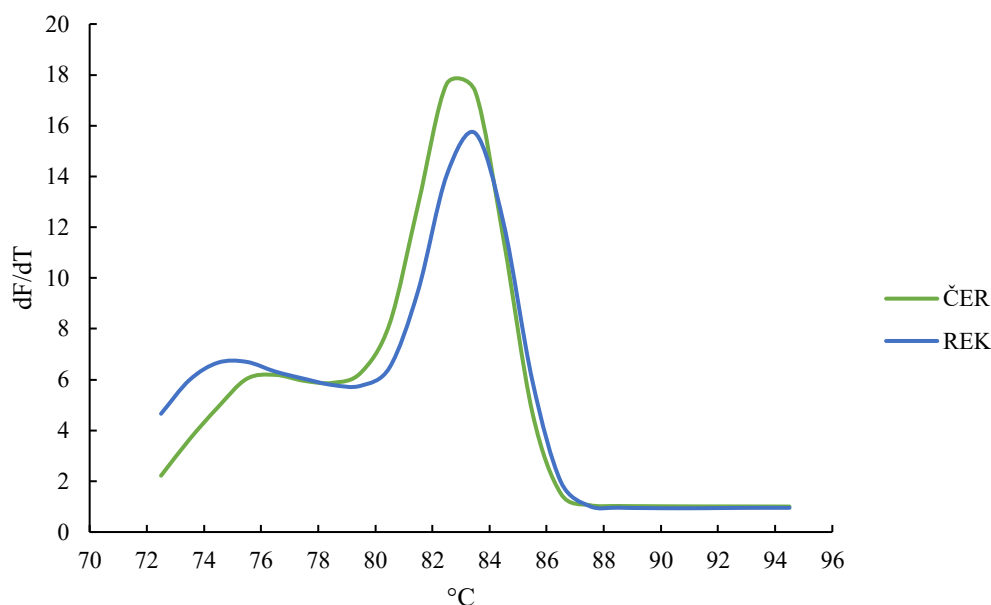
Z derivované křivky tání pro *Lactobacillus delbrueckii* můžeme říct, že v obou vzorcích je přítomná cílová bakterie. Při porovnání vrcholů můžeme pozorovat jiný tvar, a to může znamenat nižší množství cílové DNA, tedy přítomnosti *Lactobacillus delbrueckii*. Při srovnání teplot tání, která se pohybuje v rozmezí 12–14 °C, lze v obou vzorcích lze potvrdit přítomnost bakterie *Lactobacillus delbrueckii*. Z grafu vyplývá, že *Lactobacillus delbrueckii* je poměrně citlivý na lyofilizaci. V porovnání výsledků s literaturou [77] lze říct, že laktobacily jsou citlivější, co se týče tepelných změn vzorku, v tomto případě na lyofilizaci.



Obrázek 25: Amplifikační křivka pro *Streptococcus salivarius*

Na Obrázku 25 je znázorněna amplifikační křivka pro *Streptococcus salivarius*, kde fluorescenční signál ukazuje amplifikaci DNA u obou vzorků. Pro vzorek čerstvého jogurtu

může být pozorována dřívější amplifikace, což naznačuje vyšší koncentraci cílové DNA. U rekonstituovaného vzorku je pozorovatelný pozdější nárůst, který byl očekávaný kvůli procesu lyofilizace, která mohla způsobit snížení počtu bakterií a tím snížit koncentraci DNA.



Obrázek 26: Derivovaná křivka tání pro *Streptococcus salivarius*

Obrázek 26 znázorňuje derivovanou křivku tání. Oba vzorky vykazují bod tání mezi 82–84 °C, kde výška píku u čerstvého jogurtu je nepatrně vyšší. Vzhledem k podobnému tvaru a výšce píku můžeme potvrdit přítomnost *Streptococcus salivarius* nebo jeho příbuznému streptokoka.

Při porovnání výsledků PCR pro *Lactobacillus delbrueckii* a *Streptococcus salivarius* bylo zjištěno, že u rekonstituovaného jogurtu došlo k poklesu životaschopných bakterií *L. delbrueckii*. U *S. salivarius* byl pokles také zaznamenán, ale o poznání menší než u laktobacilů.

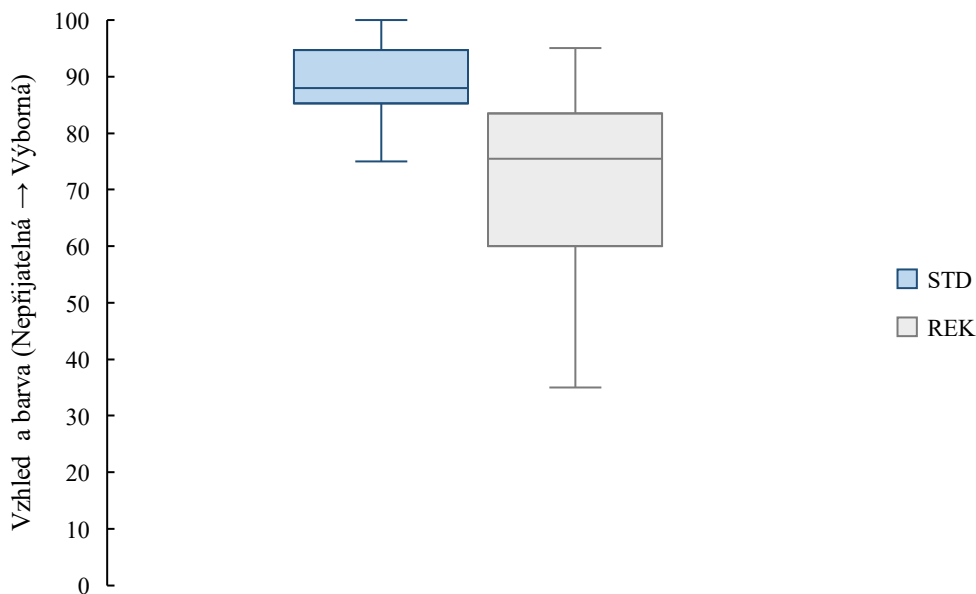
### 4.5.3 Senzorická analýza

Na závěr byly čerstvý a rekonstituovaný jogurt porovnány pomocí sensorické analýzy.

Hodnotitelé hodnotili z hlediska vzhledu a barvy, textury, kde hodnotili celkovou přijatelnost a hustotu, vůně a chuti. Hodnocení probíhalo dle formuláře v Příloze 3.

#### 4.5.3.1 Hodnocení vzhledu a barvy

Vzhled a barva vzorků byly hodnoceny z hlediska přijatelnosti od „nepřijatelná“ po „výborná“. Dle Obrázku 27 byl čerstvý jogurt označený STD hodnocen výborně, kdežto rekonstituovaný jogurt s kódem REK byl hodnocen spíše jako dobrý. Hodnocení vykazovalo normální rozložení a mezi vzorky byl statisticky významný rozdíl, lze tedy tvrdit, že čerstvý jogurt je lepší z hlediska vzhledu. Několik hodnotitelů do připomínek potvrdilo toto tvrzení, i když barva obou vzorků se jevila stejná, čerstvý jogurt hodnotili jako hladký, lesklý s čistou stejnorodou strukturou, zatímco rekonstituovaný jako nehomogenní s malými hrudkami.

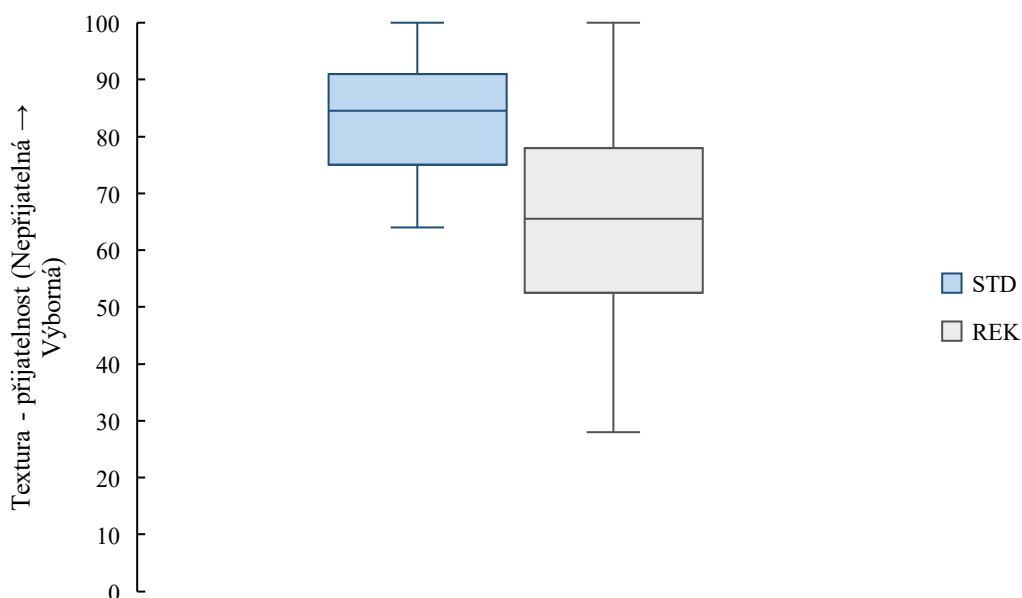


Obrázek 27: Hodnocení jogurtů z hlediska vzhledu a barvy

#### 4.5.3.2 Hodnocení textury

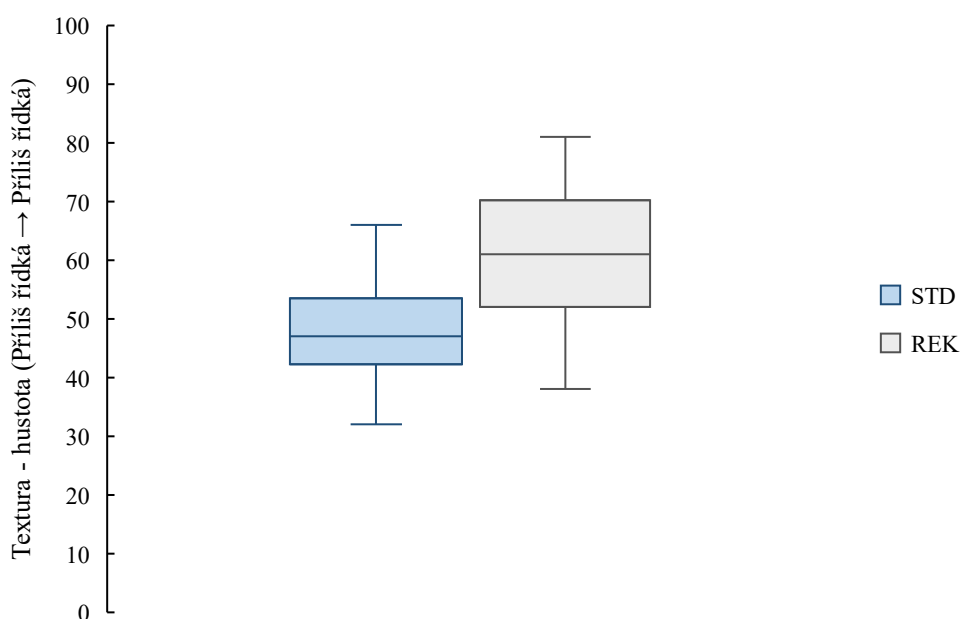
Hodnocení textury proběhlo jak z hlediska celkové přijatelnosti (Obrázek 28), tak se i zaměřilo na hustotu (Obrázek 29). Naměřená data byla v obou případech normálního rozložení.

Z hlediska celkové přijatelnosti byl nalezen statisticky významný rozdíl, hodnotitelé opět označili čerstvý jogurt za lepší. Na druhou stranu rekonstituovaný jogurt byl popsán jako příliš hustý, hrudkovitý a nehomogenní, jeho hodnocení lze popsat jako středně dobrý. Dle studií [78] je přijatelnost textury klíčovým aspektem k přijatelnosti jogurtu, kde spotřebitelé preferují stejnorodou konzistenci vzorku. Proto bylo horší hodnocení rekonstituovaného jogurtu z hlediska celkové přijatelnosti textury očekávané.



Obrázek 28: Hodnocení textury jogurtu z hlediska celkové přijatelnosti

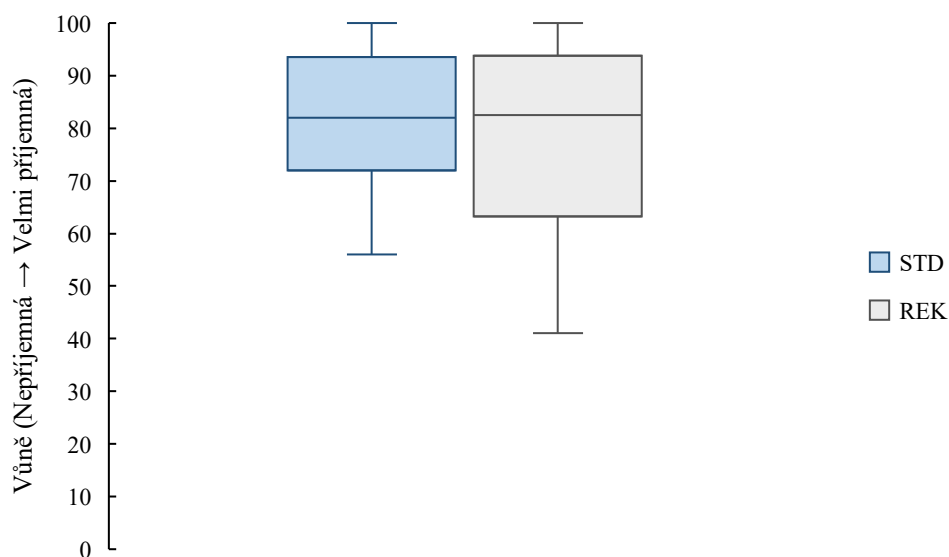
Hustota je jeden z faktorů, který konzumenti při výběru a nákupu jogurtu vyhledávají. Z grafu na Obrázku 29 je patrné, že rekonstituovaný jogurt byl hodnotiteli shledán hustším než čerstvý vzorek. Čerstvý jogurt byl shledán jako lépe tekoucí, zatímco rekonstituovaný jogurt byl shledán hutným, ale příjemným z hlediska hustoty. Je zajímavé, že hustší rekonstituovaný jogurt byl hodnocen hůře, k tomu ale pravděpodobně přispěla hrudkovitá a nehomogenní struktura. Ze studií [79] sensorické kvality jogurtu je patrné, že spotřebitelé preferují dostatečně hustý jogurt s hladkou konzistencí. Je preferována spíše střední hustota než příliš velká hustota s hrudkami, což se potvrdilo i při sensorické analýze, kde i přes to, že někteří hodnotitelé popisovali rekonstituovaný jogurt jako „hustší“, vybrali jako lepší čerstvý, který nebyl tak hutný a hustý.



Obrázek 29: Hodnocení textury jogurtu z hlediska hustoty

#### 4.5.3.3 Hodnocení vůně

Vzorky byly hodnoceny také z hlediska vůně. Po statistickém zpracování u vzorků nebyly shledány rozdíly, co se vůně týče. Většina hodnotitelů oba vzorky popisovala jako kyselější nebo jemně kyselá, ale s příjemnou jogurtovou vůní. V porovnání s literaturou [78] je u jogurtů pozitivně vnímána jejich jemná nakyslá vůně a svěžest, kterou byl popsán i vzorek čerstvého jogurtu. Velkou roli při hodnocení hraje kyselost, která při velké intenzitě potlačuje jogurtovou vůni.

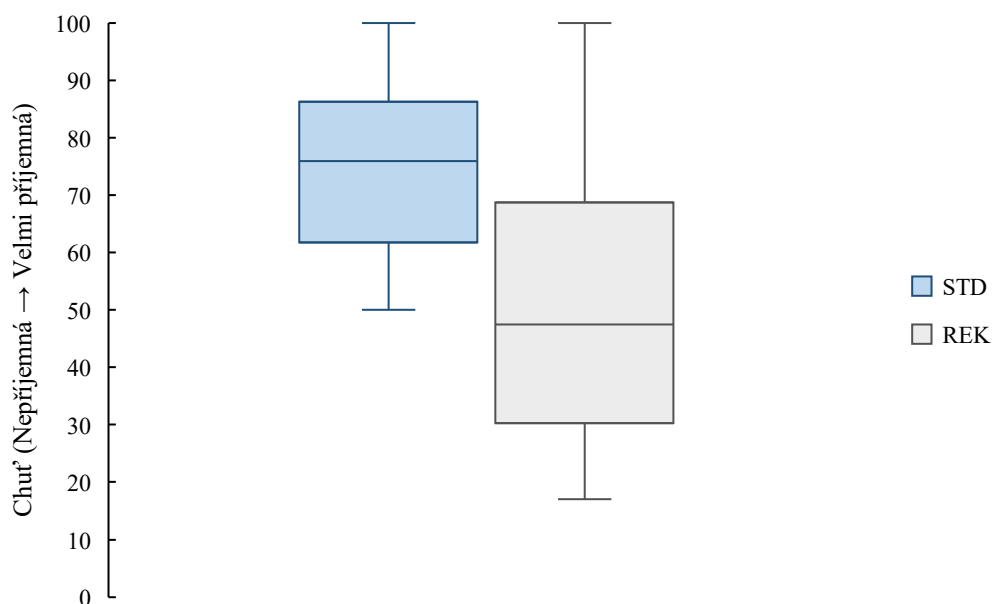


Obrázek 30: Hodnocení jogurtu z hlediska vůně

#### 4.5.3.4 Hodnocení chutě

Při hodnocení chutě bylo prokázáno normální rozložení dat a byl nalezeny statisticky významné rozptyly a také byly nalezeny velmi významné rozdíly v hodnocení. To také odpovídá odpovědím hodnotitelů, kteří čerstvý jogurt popsali jako příjemně kyselý, výborný, sladší s jemnější a svěží chutí. Naproti tomu byla ve všech odpovědích rekonstituovaného vzorku zmíněna silná kyselost. Byl popsán jako příliš kyselý, nakyslý, ne příliš příjemný. Hodnotitelé také uvedli, že při prvním ochutnání se dostaví pouze kyselá chuť a až po chvíli dojde k rozvinutí jogurtové chuti.

Tato naměřená data odpovídají i výsledkům sensorické studie [78], která se sice z velké části zabývala jogurtem řeckého typu, avšak nadměrná kyselost byla také vnímána jako nežádoucí. Je důležité, aby kyselost jogurtů nebyla příliš výrazná a nemaskovala tradiční chuť a vůni jogurtu. Dle studie spotřebitelé preferují jogurty s jemnou kyselostí, a to můžeme tvrdit o vzorcích čerstvého jogurtu, který byl popsán jako chutný a jemně nakyslý.



Obrázek 31: Hodnocení jogurtu z hlediska chutě

#### 4.5.3.5 Párová porovnávací zkouška

Celková přijatelnost vzorků byla hodnocena pomocí párové porovnávací zkoušky, kde 17 z 20 hodnotitelů vybralo čerstvý jogurt jako lepší (viz Tabulka 17). Podle tabulky spolehlivosti párové metody je tento výsledek statisticky významný, a to na hladině významnosti 99 %. Obvyklé odpovědi hodnotitelů popisovaly čerstvý jogurt jako méně kyselý, sladší, příjemnější a jemnější z hlediska chuti i konzistence

Tabulka 16: Párová porovnávací zkouška

Kód vzorku	STD	REK
Počet hodnotitelů	17	3

Výsledky sensorické analýzy byly podrobeny korelační analýze za účelem nalezení možných souvislostí různých kritérií. Z výsledků byla zjištěna významná korelace mezi chutí a texturou rekonstituovaného jogurtu ( $r=0,705$ ). Tato skutečnost byla očekávána již z jednotlivých odpovědí hodnotitelů, kteří při hodnocení chuti vyzdvihovali hrudkovitost vzorku a nehomogenní strukturu vzorku. To také potvrzuje výběr vzorků při párové porovnávací zkoušce při celkovém hodnocení. Při porovnání s literaturou [79] je celková textura velmi důležitým atributem v hodnocení jogurtu, kde samotná přítomnost hrudek či nehomogenní struktura může ovlivnit celé hodnocení.

## 5 ZÁVĚR

Tato práce se zabývala lyofilizovaným jogurtem, respektive jeho výrobou, chemickou, mikrobiologickou a senzorickou charakterizací.

První část práce zahrnovala samotnou výrobu čerstvého jogurtu, byl použit tradiční postup zaočkováním mléka pomocí jogurtové kultury. Pro dosažení optimální hustoty jogurtu byl, na základě senzorické a reologické analýzy, zvýšen obsah sušiny pomocí přídatku 10 % hm. sušeného odtučněného mléka. Tento jogurt byl hodnocen jako hladký a příjemně nasládlý, hodnotiteli byl vybrán jako nejlepší a byl následně použit pro další analýzy.

Vybraný vzorek byl poté lyofilizován na Univerzitě obrany v Brně, jogurtový prášek byl podroben senzorické analýze za účelem zjištění jeho přijatelnosti. Byl však hodnotiteli shledán jako příliš kyselý, a ne adekvátní ke konzumaci, byl navržen spíše jako doplněk stravy nebo k výrobě jogurtového mléka.

Při zpětné rekonstrukci byl na základě senzorické a reologické analýzy vybrán jako optimální přídatek vody 75 % hm. Tento vzorek byl přirovnán z hlediska konzistence k běžně komerčně dostupným jogurtům, nicméně při konečném senzorickém hodnocení většina hodnotitelů preferovala čerstvý jogurt s jeho hladkou strukturou oproti rekonstituovanému, který měl strukturu hrudkovitou a nehomogenní. Provedená korelační analýza potvrzuje, že hodnotitelé se nesoustředí při konzumaci jogurtu pouze na chuť, ale i na jeho strukturu, a proto zvolili čerstvý jogurt, který byl popisován jako hladký a chutný, za lepší.

U čerstvého, lyofilizovaného a rekonstituovaného jogurtu byl posouzen profil těkavých látek. S využitím předem optimalizované metody HS-SPME GC-MS bylo ve vzorcích identifikováno celkem 44 těkavých sloučenin. V lyofilizovaném a rekonstituovaném jogurtu došlo k nárůstu kyselin – octová, butanová, hexanová a oktanová. Z hlediska procentuálního zastoupení u lyofilizovaného jogurtu převažují kyseliny a ketony. Čerstvý jogurt měl nejvíce různorodé zastoupení těkavých sloučenin, které mu dodaly klasickou jogurtovou vůni a chuť. U rekonstituovaného jogurtu převažovaly alkoholy, ketony a aldehydy, díky kterým nebyl tak kyselý jako lyofilizovaný jogurt, ale ztratil svoji charakteristickou jogurtovou vůni.

Při mikrobiologickém vyšetření jogurtu bylo, na základě McFarlandovy metody a qPCR analýzy, zjištěno, že čerstvý jogurt měl podle očekávání větší množství životaschopných bakterií než jogurt rekonstituovaný. Výsledky qPCR ukázaly vyšší citlivost laktobacilů na změnu teploty při lyofilizaci, kde po rekonstrukci jogurt vykazoval výrazný pokles množství amplifikované DNA a nižší intenzitu fluorescence. Naopak streptokoky i po rekonstrukci vykazují větší odolnost vůči teplotě lyofilizace, protože nebyl pozorován výrazný pokles amplifikované DNA a snížená intenzita fluorescence.

Ze zjištěných výsledků lze říci, že lyofilizace, i přes její nespornou šetrnost, ovlivňuje mikrobiální profil jogurtu a životaschopnost přítomných buněk, má vliv na profil těkavých látek, a především na senzorickou kvalitu jogurtu nejen z hlediska struktury, ale i z hlediska chuti, kde se vzorek stává kyselejším.

Další experimenty se mohou zaměřovat na standardizaci procesu lyofilizace a příp. možnosti zmírnění jeho dopadu na uvedené parametry

## 6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] SFAKIANAKIS, Panagiotis a Constatnina TZIA, 2014. Conventional and Innovative Processing of Milk for Yogurt Manufacture; Development of Texture and Flavor: A Review. *Foods* [online]. **3**(1), 176-193 [cit. 2025-02-11]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods3010176
- [2] HADJIMBEI, Elena, George BOTSARIS a Stavrie CHRYSOSTOMOU, 2022. Beneficial Effects of Yoghurts and Probiotic Fermented Milks and Their Functional Food Potential. *Foods* [online]. **11**(17) [cit. 2024-11-04]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods11172691
- [3] TRIMIGNO, Alessia, Christian BØGE LYNDGAARD, Guðrún Anna ATLADÓTTIR, Violetta ARU, Søren BALLING ENGELSEN a Line Katrine HARDER CLEMMENSEN, 2020. An NMR Metabolomics Approach to Investigate Factors Affecting the Yoghurt Fermentation Process and Quality. *Metabolites* [online]. **10**(7) [cit. 2025-01-29]. ISSN 2218-1989. Dostupné z: doi:10.3390/metabo10070293
- [4] DAN, Tong, Haimin HU, Jiale TIAN, Binbin HE, Jiahui TAI a Yanyan HE, 2023. Influence of Different Ratios of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on Fermentation Characteristics of Yogurt. *Molecules* [online]. **28**(5) [cit. 2024-11-30]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules28052123
- [5] Vyhláška 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje
- [6] CASTELLONE, Vincenzo, Elena BANCALARI, Josep RUBERT, Monica GATTI, Erasmo NEVIANI a Benedetta BOTTARI, 2021. Eating Fermented: Health Benefits of LAB-Fermented Foods. *Foods* [online]. **10**(11) [cit. 2024-12-03]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods10112639
- [7] SHWETNISHA AND NONGMAITHEM MANGALLEIMA, Rajvir Singh, Malreddy Nikitha, 2021. The Product and the Manufacturing of Yoghurt. *International Journal for Modern Trends in Science and Technology* [online]. 2021-10-31, **7**(10), 48-51 [cit. 2024-11-23]. ISSN 2455-3778. Dostupné z: doi:10.46501/IJMTST0710007
- [8] ARYANA, Kayanush J. a Douglas W. OLSON, 2017. A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. *Journal of Dairy Science* [online]. **100**(12), 9987-10013 [cit. 2024-11-22]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2017-12981
- [9] KOK, Car Reen a Robert HUTKINS, 2018. Yogurt and other fermented foods as sources of health-promoting bacteria. *Nutrition Reviews* [online]. 2018-12-01, **76**(Supplement\_1), 4-15 [cit. 2024-11-22]. ISSN 0029-6643. Dostupné z: doi:10.1093/nutrit/nuy056
- [10] DAS, Kunal, Ruplal CHOUDHARY a Katherine A. THOMPSON-WITRICK, 2019. Effects of new technology on the current manufacturing process of yogurt-to increase the overall marketability of yogurt. *LWT* [online]. **108**, 69-80 [cit. 2025-02-11]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2019.03.058
- [11] MUNTEANU-ICHIM, Roxana-Andreea, Cristina-Maria CANJA, Mirabela LUPU, Carmen-Liliana BĂDĂRĂU a Florentina MATEI, 2024. Tradition and Innovation in

- Yoghurt from a Functional Perspective—A Review. *Fermentation* [online]. **10**(7) [cit. 2024-12-04]. ISSN 2311-5637. Dostupné z: doi:10.3390/fermentation10070357
- [12] ROUTRAY, Winny a Hari N. MISHRA, 2011. Scientific and Technical Aspects of Yogurt Aroma and Taste: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. **10**(4), 208-220 [cit. 2024-11-06]. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/j.1541-4337.2011.00151.x
- [13] MARETTE, André a Eliane PICARD-DELAND, 2014. Yogurt consumption and impact on health: focus on children and cardiometabolic risk. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. **99**(5), 1243S-1247S [cit. 2024-12-28]. ISSN 00029165. Dostupné z: doi:10.3945/ajcn.113.073379
- [14] YANNI, Amalia E., Kleio KARTSIOTI a Vaios T. KARATHANOS, 2020. The role of yoghurt consumption in the management of type II diabetes. *Food & Function* [online]. 2020-12-17, **11**(12), 10306-10316 [cit. 2025-01-29]. ISSN 2042-6496. Dostupné z: doi:10.1039/D0FO02297G
- [15] ZAPAŚNIK, Agnieszka, Barbara SOKOŁOWSKA a Marcin BRYŁA, 2022. Role of Lactic Acid Bacteria in Food Preservation and Safety. *Foods* [online]. **11**(9) [cit. 2025-02-11]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods11091283
- [16] AYIVI, Raphael D. a Salam A. IBRAHIM, 2022. Lactic acid bacteria: an essential probiotic and starter culture for the production of yoghurt. *International Journal of Food Science & Technology* [online]. **57**(11), 7008-7025 [cit. 2024-11-30]. ISSN 0950-5423. Dostupné z: doi:10.1111/ijfs.16076
- [17] TESHOME, Gemechu, 2015. Review on lactic acid bacteria function in milk fermentation and preservation. *African Journal of Food Science* [online]. 2015-04-30, **9**(4), 170-175 [cit. 2024-12-30]. ISSN 1996-0794. Dostupné z: doi:10.5897/AJFS2015.1276
- [18] MATIN, Abdul, Tuli BANIK, Md. Radim BADSHA, Altaf HOSSAIN a Mohammad MOZIBU HAQUE, 2018. Microbiological quality analysis of yoghurt in some selected areas of Bangladesh. *International Journal of Natural and Social Sciences*. **5**(4), 82-86. ISSN 2313-4461.
- [19] KRASTANOV, Albert, Philip J. YEBOAH, Namesha DULARI WIJEMANNA, Abdulhakim S. EDDIN, Raphael D. AYIVI a Salam A. IBRAHIM, 2023. Volatile Aromatic Flavor Compounds in Yogurt: A Review. In: A. IBRAHIM, Salam, ed. *Current Issues and Advances in the Dairy Industry* [online]. IntechOpen [cit. 2025-02-13]. Food Science and Nutrition. ISBN 978-1-83768-092-4. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.109034
- [20] KUMAR, P. a H.N. MISHRA, 2004. Yoghurt Powder—A Review of Process Technology, Storage and Utilization. *Food and Bioproducts Processing* [online]. **82**(2), 133-142 [cit. 2024-10-17]. ISSN 09603085. Dostupné z: doi:10.1205/0960308041614918
- [21] SUH, Soo Hwan a Mina K. KIM, 2021. Microbial communities related to sensory characteristics of commercial drinkable yogurt products in Korea. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* [online]. **67** [cit. 2024-12-20]. ISSN 14668564. Dostupné z: doi:10.1016/j.ifset.2020.102565

- [22] CHEN, Chen, Shanshan ZHAO, Guangfei HAO, Haiyan YU, Huaixiang TIAN a Guozhong ZHAO, 2017. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. *International Journal of Food Properties* [online]. 2017-12-18, **20**(sup1), S316-S330 [cit. 2024-12-03]. ISSN 1094-2912. Dostupné z: doi:10.1080/10942912.2017.1295988
- [23] FETOUH, Mai, Ekbal IBRAHIM, Hend ELBARBARY a Ahmed MAAROUF, 2022. Isolation and Genotypic Identification of Some Spoilage and Pathogenic Microbes from Yogurt. *Benha Veterinary Medical Journal* [online]. 2022-10-09, **43**(1), 123-128 [cit. 2024-12-05]. ISSN 1110-6581. Dostupné z: doi:10.21608/bvmj.2022.147816.1539
- [24] WANG, Xiaojun, Linlin WANG, Xinyao WEI, Changmou XU, George CAVENDER, Walker LIN a Shengqian SUN, 2024. INVITED REVIEW: Advances in Yogurt Development: Microbiological Safety, Quality, Functionality, Sensory Evaluation, and Consumer Perceptions across Different Dairy and Plant-based Alternative Sources. *Journal of Dairy Science* [online]. [cit. 2024-12-02]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2024-25322
- [25] AGRIMONTI, Caterina, Benedetta BOTTARI, Maria Luisa Savo SARDARO a Nelson MARMIROLI, 2019. Application of real-time PCR (qPCR) for characterization of microbial populations and type of milk in dairy food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2019-02-04, **59**(3), 423-442 [cit. 2025-01-29]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2017.1375893
- [26] EL-SAYED, Alaa S., Hany IBRAHIM a Mohamed A. FARAG, 2022. Detection of Potential Microbial Contaminants and Their Toxins in Fermented Dairy Products: a Comprehensive Review. *Food Analytical Methods* [online]. **15**(7), 1880-1898 [cit. 2024-12-05]. ISSN 1936-9751. Dostupné z: doi:10.1007/s12161-022-02253-y
- [27] BIÇER, Yusuf a Gonca SÖNMEZ, 2022. Detecting cow milk in sheep yoghurt by Taq Man real-time PCR. *International Journal of Dairy Technology* [online]. **75**(4), 803-808 [cit. 2024-12-28]. ISSN 1364-727X. Dostupné z: doi:10.1111/1471-0307.12892
- [28] ELANSARY, Maria, 2014. Assessment of Microbiological Quality of Yoghurt Sold in El-Behera Governorate. *Alexandria Journal of Veterinary Sciences* [online]. **43**(1) [cit. 2024-12-06]. ISSN 1110-2047. Dostupné z: doi:10.5455/ajvs.168635
- [29] HOSSAIN, Mohammad Afzal, Md. Mozammel HOQUE, Monzur Morshed AHMED a Tanvir AHMED, 2024. Probiotic yoghurt-like fermented milk product enriched with *Lactobacillus desidiosus* and *Lactobacillus fermentum*: proximate composition, physicochemical, microbiological, and sensory evaluation during refrigerated storage. *Discover Food* [online]. **4**(1) [cit. 2024-12-02]. ISSN 2731-4286. Dostupné z: doi:10.1007/s44187-024-00093-9
- [30] TAYE, Yeshambel, Tadesse DEGU, Haben FESSEHA, Mesfin MATHEWOS a Argyro BEKATOROU, 2021. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Cow Milk and Milk Products. *The Scientific World Journal* [online]. 2021-8-10, **2021**, 1-6 [cit. 2024-12-02]. ISSN 1537-744X. Dostupné z: doi:10.1155/2021/4697445
- [31] MILLER, D.M., E.G. DUDLEY a R.F. ROBERTS, 2012. Technical note: Development of a quantitative PCR method for monitoring strain dynamics during yogurt

- manufacture. *Journal of Dairy Science* [online]. **95**(9), 4868-4872 [cit. 2024-12-06]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2012-5445
- [32] KANDASAMY, Sujatha, Won-Seo PARK, In-Seon BAE, Jayeon YOO, Jeonghee YUN, Van-Ba HOA a Jun-Sang HAM, 2024. HRMAS-NMR-Based Metabolomics Approach to Discover Key Differences in Cow and Goat Milk Yoghurt Metabolomes. *Foods* [online]. **13**(21) [cit. 2025-01-29]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods13213483
- [33] KARUNANATHIE, Harsheni, Ping Siu KEE, Shioh Fern NG, Martin A. KENNEDY a Eng Wee CHUA, 2022. PCR enhancers: Types, mechanisms, and applications in long-range PCR. *Biochimie* [online]. **197**, 130-143 [cit. 2025-03-15]. ISSN 03009084. Dostupné z: doi:10.1016/j.biochi.2022.02.009
- [34] MAFRA, Isabel, Isabel M. P. L. V. O. FERREIRA a M. Beatriz P. P. OLIVEIRA, 2008. Food authentication by PCR-based methods. *European Food Research and Technology* [online]. **227**(3), 649-665 [cit. 2025-03-12]. ISSN 1438-2377. Dostupné z: doi:10.1007/s00217-007-0782-x
- [35] KHALIL, Mohammad Ibrahim, 2021. Different types of PCR. *Global Scientific Journal*. **9**(2), 758-768. ISSN 2320-9186.
- [36] KADRI, Karim, 2020. Polymerase Chain Reaction (PCR): Principle and Applications. In: L. NAGPAL, Madan, Oana-Maria BOLDURA, Cornel BALȚĂ a Shymaa ENANY, ed. *Synthetic Biology - New Interdisciplinary Science* [online]. IntechOpen [cit. 2025-03-16]. ISBN 978-1-78984-089-6. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.86491
- [37] AKTAR, Tugba, 2022. Physicochemical and sensory characterisation of different yoghurt production methods. *International Dairy Journal* [online]. **125** [cit. 2024-12-20]. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/j.idairyj.2021.105245
- [38] CHENG, Zeng, Maurice G O'SULLIVAN, Song MIAO, Joseph P KERRY a Kieran N KILCAWLEY, 2022. Sensorial, cultural and volatile properties of milk, dairy powders, yoghurt and butter: A review. *International Journal of Dairy Technology* [online]. **75**(4), 761-790 [cit. 2024-11-11]. ISSN 1364-727X. Dostupné z: doi:10.1111/1471-0307.12898
- [39] MOGA, Valentina Mădălina, 2021. COMPARISON OF THE QUALITY OF THREE TYPES OF YOGURT. THE IMPACT OF TAPIOCA POWDER ON THE CHARACTERISTICS OF YOGURT. *Management of Sustainable Development* [online]. 2021-06-01, **13**(1), 14-20 [cit. 2024-12-23]. ISSN 20669380. Dostupné z: doi:10.54989/msd-2021-0003
- [40] SILVA, Emerson Gabriel dos Santos Oliveira, Katya ANAYA, Maria de Fátima BEZERRA, et al., 2022. Physicochemical and sensory evaluation of greek style yoghurt with bovine colostrum. *Food Science and Technology* [online]. **42** [cit. 2024-12-02]. ISSN 1678-457X. Dostupné z: doi:10.1590/fst.22121
- [41] SKARLATOS, Lazaros, Anna MARINOPOULOU, Dimitris PETRIDIS a Stylianos N. RAPHAELIDES, 2020. Texture assessment of set yoghurt using sensory and instrumental methods. *International Dairy Journal* [online]. **104** [cit. 2024-12-02]. ISSN 09586946. Dostupné z: doi:10.1016/j.idairyj.2020.104644

- [42] HEKMAT, Sharareh a Gregor REID, 2006. Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. *Nutrition Research*[online]. **26**(4), 163-166 [cit. 2024-12-23]. ISSN 02715317. Dostupné z: doi:10.1016/j.nutres.2006.04.004
- [43] DE SANTIS, Diana, Giuseppina GIACINTI, Giulia CHEMELLO a Maria Teresa FRANGIPANE, 2019. Improvement of the Sensory Characteristics of Goat Milk Yogurt. *Journal of Food Science* [online]. **84**(8), 2289-2296 [cit. 2024-12-20]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/1750-3841.14692
- [44] SÖZERI ATIK, Didem, Hale İnci ÖZTÜRK a Nihat AKIN, 2024. Perspectives on the yogurt rheology. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. **263** [cit. 2025-01-27]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2024.130428
- [45] M. PRAJAPATI, Divyang, Nehul M. SHRIGOD, Ravi J. PRAJAPATI a Parth D. PANDIT, 2016. Textural and Rheological Properties of Yoghurt: A Review. *Advances in Life Sciences*. **5**(13), 5238-5254. ISSN 2278-3849.
- [46] MUDGIL, Deepak, Sheweta BARAK a B. S. KHATKAR, 2017. Texture profile analysis of yogurt as influenced by partially hydrolyzed guar gum and process variables. *Journal of Food Science and Technology* [online]. **54**(12), 3810-3817 [cit. 2025-01-28]. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-017-2779-1
- [47] CLARK, Stephanie, Minto MICHAEL a Karen A. SCHMIDT, 2019. Rheological Properties of Yogurt: Effects of Ingredients, Processing and Handling. In: JOYNER, Helen S., ed. *Rheology of Semisolid Foods* [online]. Cham: Springer International Publishing, s. 203-229 [cit. 2025-01-28]. Food Engineering Series. ISBN 978-3-030-27133-6. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-030-27134-3\_7
- [48] LUSSIER, Noémie, Audrey GILBERT, Daniel ST-GELAIS a Sylvie L. TURGEON, 2023. Effect of the Heat Exchanger Type on Stirred Yogurt Properties Formulated at Different Total Solids and Fat Contents. *Dairy* [online]. **4**(1), 108-123 [cit. 2025-01-28]. ISSN 2624-862X. Dostupné z: doi:10.3390/dairy4010008
- [49] WANG, Xinlu, Xiangzhen KONG, Caimeng ZHANG, Yufei HUA, Yeming CHEN a Xingfei LI, 2023. Comparison of physicochemical properties and volatile flavor compounds of plant-based yoghurt and dairy yoghurt. *Food Research International* [online]. **164** [cit. 2025-03-17]. ISSN 09639969. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodres.2022.112375
- [50] DAN, Tong, Weiyi REN, Yang LIU, Jiale TIAN, Haiyan CHEN, Ting LI a Wenjun LIU, 2019. Volatile Flavor Compounds Profile and Fermentation Characteristics of Milk Fermented by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2019-9-18, **10** [cit. 2025-03-16]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2019.02183
- [51] TANELLO, Ana Cristina, Cristine Durante de SOUZA SILVEIRA, Eduardo CARASEK, Silvani VERRUCK, Elane Schwinden PRUDENCIO a Renata D. M. Castanho AMBONI, 2019. Analysis of Volatile Compounds in Probiotic Yogurt during Storage through Solid-phase Microextraction Gas Chromatography. *Asian Journal of Advances in Agricultural Research* [online]. 2019-03-15, 1-11 [cit. 2024-11-11]. ISSN 2456-8864. Dostupné z: doi:10.9734/ajaar/2019/v9i229995

- [52] TUNICK, Michael H, 2014. Analyzing volatile compounds in dairy products. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. **94**(9), 1701-1705 [cit. 2024-12-30]. ISSN 00225142. Dostupné z: doi:10.1002/jsfa.6586
- [53] ZENG, Hong, Haoying HAN, Yidi HUANG a Bei WANG, 2023. Rapid prediction of the aroma type of plain yogurts via electronic nose combined with machine learning approaches. *Food Bioscience* [online]. **56** [cit. 2025-04-01]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2023.103269
- [54] FARAG, Mohamed A., Haidy A. SALEH, Sherwet EL AHMADY a Moamen M. ELMASSRY, 2022. Dissecting Yogurt: the Impact of Milk Types, Probiotics, and Selected Additives on Yogurt Quality. *Food Reviews International* [online]. 2022-11-01, **38**(sup1), 634-650 [cit. 2024-12-31]. ISSN 8755-9129. Dostupné z: doi:10.1080/87559129.2021.1877301
- [55] SETTACHAIMONGKON, Sarn, M.J. Robert NOUT, Elsa C. ANTUNES FERNANDES, et al., 2014. Influence of different proteolytic strains of *Streptococcus thermophilus* in co-culture with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on the metabolite profile of set-yoghurt. *International Journal of Food Microbiology* [online]. **177**, 29-36 [cit. 2025-04-01]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.008
- [56] JUDE, J., E. A. ADU, O. S. KAMALDEEN a I. E. MAIYANGA, 2023. FREEZE DRYING – Application in Food Processing and Storage (Review) *BADEGGI JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH AND ENVIRONMENT* [online]. 2023-08-21, **5**(2), 21-35 [cit. 2024-09-05]. ISSN 2695-2114. Dostupné z: doi:10.35849/BJARE202302/97/003
- [57] WAGHMARE, Roji Balaji, Anand Babu PERUMAL, J.A. MOSES a C. ANANDHARAMAKRISHNAN, 2021. Recent Developments in Freeze Drying of Foods. In: *Innovative Food Processing Technologies* [online]. Elsevier, s. 82-99 [cit. 2024-09-05]. ISBN 9780128157824. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-815781-7.00017-2
- [58] NOWAK, Dorota a Ewa JAKUBCZYK, 2020. The Freeze-Drying of Foods—The Characteristic of the Process Course and the Effect of Its Parameters on the Physical Properties of Food Materials. *Foods* [online]. **9**(10) [cit. 2024-12-31]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9101488
- [59] LIU, Yang, Zhengyu ZHANG a Liandong HU, 2022. High efficient freeze-drying technology in food industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2022-04-21, **62**(12), 3370-3388 [cit. 2024-12-31]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2020.1865261
- [60] OYINLOYE, Timilehin Martins a Won Byong YOON, 2020. Effect of Freeze-Drying on Quality and Grinding Process of Food Produce: A Review. *Processes* [online]. **8**(3) [cit. 2024-12-31]. ISSN 2227-9717. Dostupné z: doi:10.3390/pr8030354
- [61] NOWAK, Dorota a Ewa JAKUBCZYK, 2020. The Freeze-Drying of Foods—The Characteristic of the Process Course and the Effect of Its Parameters on the Physical Properties of Food Materials. *Foods* [online]. **9**(10) [cit. 2024-12-31]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9101488

- [62] SEMENOV, Gennadiy V., Min ZHANG, Irina S. KRASNOVA a Vera I. GANINA, 2024. Rational primary drying temperature for freeze-drying of fermented dairy products. *Drying Technology* [online]. 2024-07-15, **42**(9), 1456-1465 [cit. 2024-11-19]. ISSN 0737-3937. Dostupné z: doi:10.1080/07373937.2024.2359529
- [63] PAUL, T., B.A. ADEJUMO, I. OKOSA a C.E. CHIDINMA-EDEH, 2020. Microbiological Properties of Stored Freeze Dried Cow Milk Cheese and Soy Cheese. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* [online]. 2020-04-23, **24**(3), 537-542 [cit. 2024-12-30]. ISSN 2659-1502. Dostupné z: doi:10.4314/jasem.v24i3.23
- [64] KONUK TAKMA, Dilara, Utku ÖKAY a Ümmü GÜNEŞ, 2024. Characteristics of freeze-dried white cheese powder and utilisation in bread formulation. *International Journal of Food Science and Technology* [online]. 2024-07-14, **59**(7), 4958-4969 [cit. 2025-04-01]. ISSN 0950-5423. Dostupné z: doi:10.1111/ijfs.17229
- [65] SAKIN-YILMAZER, Melike, Banu KOÇ, Pinar BALKIR a Figen KAYMAK-ERTEKIN, 2014. Rheological behavior of reconstituted yoghurt powder—An optimization study. *Powder Technology* [online]. **266**, 433-439 [cit. 2024-10-17]. ISSN 00325910. Dostupné z: doi:10.1016/j.powtec.2014.06.060
- [66] ISMAIL, Elsayed A., Ahmed A. ALY a Atallah A. ATALLAH, 2020. Quality and microstructure of freeze-dried yoghurt fortified with additives as protective agents. *Heliyon* [online]. **6**(10) [cit. 2025-02-06]. ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05196
- [67] SANTOS, G., T. P. NUNES, M. A. A. P. SILVA, A. ROSENTHAL a A. A. C. PAGANI, 2018. Development and acceptance of freeze-dried yogurt "powder yogurt." *International Food Research Journal*. **25**(3), 1159-1165. ISSN 1985-4668.
- [68] ČSN 56 9601 *Pravidla správné hygienické a výrobní praxe: mléko a mléčné výrobky = Guides to good hygiene and manufacturing practice - Milk and milk products*, [2006]. Praha: Český normalizační institut. Dostupné také z: <https://csnonline.agentura-cas.cz/Detailnormy.aspx?k=76470>
- [69] HAARMAN, Monique a Jan KNOL, 2006. Quantitative Real-Time PCR Analysis of Fecal Lactobacillus Species in Infants Receiving a Prebiotic Infant Formula. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **72**(4), 2359-2365 [cit. 2025-04-26]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.72.4.2359-2365.2006
- [70] KIM, Eiseul, Seung-Min YANG, Bora LIM, Si Hong PARK, Bryna RACKERBY a Hae-Yeong KIM, 2020. Design of PCR assays to specifically detect and identify 37 Lactobacillus species in a single 96 well plate. *BMC Microbiology* [online]. **20**(1) [cit. 2025-04-26]. ISSN 1471-2180. Dostupné z: doi:10.1186/s12866-020-01781-z
- [71] KIM, Hye-Ji a Hyun-Jun YOO, 2023. Inhibitory effects of Streptococcus salivarius K12 on formation of cariogenic biofilm. *Journal of Dental Sciences* [online]. **18**(1), 65-72 [cit. 2025-04-26]. ISSN 19917902. Dostupné z: doi:10.1016/j.jds.2022.07.011
- [72] HRSTKA, Miroslav, Lenka SOMROVÁ a Pavel DIVIŠ, 2019. *Praktikum z analytické chemie potravin*. Vysoké učení technické v Brně Fakulta chemická. Brno.
- [73] OMELKOVÁ, Viktorie. Lyofilizované fermentované mléčné výrobky [online]. Brno, 2024 (cit. 2025-04-23). 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.
- [74] DAN, T., D. WANG, R.L. JIN, H.P. ZHANG, T.T. ZHOU a T.S. SUN, 2017. Characterization of volatile compounds in fermented milk using solid-phase microextraction methods coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Dairy Science* [online]. **100**(4), 2488-2500 [cit. 2025-04-18]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2016-11528
- [75] CHENG, Hefa, 2010. Volatile Flavor Compounds in Yogurt: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2010-11-22, **50**(10), 938-950 [cit. 2023-03-27]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408390903044081
- [76] ROUX, Emeline, Aurélie NICOLAS, Florence VALENCE, Grégoire SIEKANIEC, Victoria CHUAT, Jacques NICOLAS, Yves LE LOIR a Eric GUÉDON, 2022. The genomic basis of the *Streptococcus thermophilus* health-promoting properties. *BMC Genomics* [online]. **23**(1) [cit. 2025-04-18]. ISSN 1471-2164. Dostupné z: doi:10.1186/s12864-022-08459-y
- [77] KRAMER, Mateja, Nataša OBERMAJER, Bojana BOGOVIČ MATIJAŠIĆ, Irena ROGELJ a Vojko KMETEC, 2009. Quantification of live and dead probiotic bacteria in lyophilised product by real-time PCR and by flow cytometry. *Applied Microbiology and Biotechnology*[online]. **84**(6), 1137-1147 [cit. 2025-04-25]. ISSN 0175-7598. Dostupné z: doi:10.1007/s00253-009-2068-7
- [78] BROWN, Marissa D. a Delores H. CHAMBERS, 2015. Sensory Characteristics and Comparison of Commercial Plain Yogurts and 2 New Production Sample Options. *Journal of Food Science* [online]. **80**(12) [cit. 2025-04-25]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/1750-3841.13128
- [79] DESAI, N.T., L. SHEPARD a M.A. DRAKE, 2013. Sensory properties and drivers of liking for Greek yogurts. *Journal of Dairy Science*[online]. **96**(12), 7454-7466 [cit. 2025-04-25]. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2013-6973

## 7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

Subsp.	subspecies – poddruh
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
BMK	bakterie mléčného kvašení
GRAS	všeobecně považovány za bezpečné
<i>S. thermophilus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>Lactobacillus delbreueckii</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
Spp.	druh
FMV	fermentované mléčné výrobky
PCR	polymerázová řetězová reakce
DNA	deoxyribonukleová kyselina
NMR	nukleární magnetická rezonance
GMO	geneticky modifikované organismy
RNA	ribonukleová kyselina
cDNA	komplementární DNA
QC-PCR	kvantitativní kompetitivní PCR
PCR-RFLP	polymorfismus délky restrikčních fragmentů PCR
PCR-SSCP	polymorfismus konformace jednoduchých řetězců PCR
RAPD	náhodná amplifikace polymorfní DNA
SSR	jednoduché repetitivní sekvence
SPME	mikroextrakce pevnou fází
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
GC	plynová chromatografie
MS	hmotnostní chromatografie
HS-SPME	headspace mikroextrakce s pevnou fází
<i>S. salivarius</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>

## **8 PŘÍLOHY**

- Příloha 1      Dotazník pro sensorické hodnocení– Textura
- Příloha 2      Spotřebitelský dotazník
- Příloha 3      Dotazník pro sensorické hodnocení



*Příloha 2: Spotřebitelský dotazník*

Hodnotitel:           Věk:  
                          Pohlaví:     Muž       Žena  
                          Kuřák:       Ano       Ne

**1) Znáte lyofilizované výrobky?**

- ano, pravidelně konzumuji

Jaké? .....

- ano, občas konzumuji

Jaké? .....

- ano, ale nekonzumuji
- ne

**2) Setkal/a jste se s lyofilizovaným jogurtem nebo jinými fermentovanými mléčnými výrobky?**

- ano

S jakými? .....

- ne

**3) Ochutnejte před Vámi předložený vzorek lyofilizovaného jogurtu a ohodnoťte jej na základě chutnosti.**

- výborný
- velmi dobrý
- dobrý
- ne zcela vyhovující
- nechutná mi

Připomínky: .....

**4) Byl/a byste ochotný/á si výrobek koupit?**

- ano
- ne

**5) K jakému využití byste výrobek doporučil/a?**

- pochutina ke konzumaci
- přídavek do jiných potravin, k přípravě nápojů či zvýšení nutriční hodnoty potravin
- jiné

Jaké? .....

Děkujeme za spolupráci 😊





### Chuť

Pomocí uvedené grafické stupnice ohodnot'te chuť vzorků (do stupnice zapište kódy vzorků).



#### *Popis krajních bodů:*

Velmi příjemná – čistá, jemně mléčně nakyslá, jogurtová

Nepřijemná – málo nebo naopak příliš kyselá, nepřijemná, cizí pachuti a jiné vady

#### *Připomínky*

### Párová porovnávací zkouška

Vážení hodnotitelé,

Porovnejte prosím následující pár vzorků jogurtů a zakroužkujte ten, který považujete za lepší, přijatelnější, a kterému byste dali přednost a proč?

Kódy vzorků	Odůvodnění