



**Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně**  
**Fakulta technologická**

Ing. Markéta Šípalová

**ZMĚNY JAKOSTNÍCH PARAMETRŮ MLÉKA  
A MLÉČNÝCH VÝROBKŮ**

**QUALITY CHANGES OF MILK AND DAIRY PRODUCTS**

DISERTAČNÍ PRÁCE

Program: P2901 Chemie a technologie potravin  
Obor: 2901V013 Technologie potravin

Školitel: prof. Ing. Stanislav Kráčmar, DrSc.

Zlín, 2011

Pro lidi pevného předsevzetí a vytrvalosti není nemožností.

*Milan Rastislav Štefánik*

*Poděkování:*

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala mému školiteli prof. Ing. Stanislavu Kráčmarovi, DrSc. za cenné rady, připomínky, odborné vedení, trpělivost a čas, který mi věnoval nejen při psaní této práce, ale po celou dobu mého studia. Dále chci poděkovat svým kolegům, kteří se podíleli na některých analýzách, nebo mi poskytli významné poznatky a zkušenosti ze svých výzkumů. Děkuji také Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D. za cenné rady, čas a pomoc při chromatografických stanoveních. Děkuji za spolupráci pracovníkům Výzkumnému ústavu pro chov skotu, s. r. o., jmenovitě doc. Dr. Ing. Oto Hanušovi a Ing. Janu Pozdíškovi, CSc. Mé díky patří i svým rodičům, blízkým a přátelům, kteří mi důvěřovali a po celou dobu studia vyjadřovali svoji morální podporu.

Tato práce byla finančně podpořena Výzkumným záměrem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky „Multifunkční kompozitní soustavy na bázi přírodních a syntetických polymerů“ (MSM 7088352101), Interními granty UTB ve Zlíně č. IGA/15/FT/10/D, č. IGA/17/FT/11/D a Grantem Nadace Tomáše Bati (Grant z výnosů NIF pro program „Výzkum a věda pro život 2008“).

## ABSTRAKT

Disertační práce řeší problematiku nutriční charakteristiky mléka, v rámci které byly realizovány tři experimenty. První experiment řešil záměnu jaderné složky (kukuřice, pšenice, tritikale) krmné dávky dojníc s důrazem na zastoupení a obsah aminokyselin a mastných kyselin mléka. Druhý experiment se zabýval přidavkem zelené natě Bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) do krmné dávky koz s důrazem na obsah sensoricky aktivních látek mléka. Třetí experiment zkoumal ovlivnění kvality vybraného mléčného výrobku (jogurtu) přidavkem sušiny, či hydrokoloidu ( $\iota$ -karagenanu). Změny ve složení mléka, resp. mléčných výrobků (jogurtů) byly sledovány pomocí chemických, chromatografických, spektroskopických, texturních a sensorických metod. Zařazením obilnin (kukuřice, pšenice, tritikale) do krmné dávky dojníc nebyl ovlivněn obsah tuku mléka, vliv na obsah bílkoviny mléka mělo tritikale. Skladba aminokyselin i mastných kyselin neprokázala pšenici či tritikale jako plnohodnotnou náhradu za kukuřici. Avšak v obsahu mastných kyselin mléka byly prokázány statisticky významné rozdíly v obsahu kyseliny pentadekanové a palmitoolejové ( $P \leq 0,05$ ). Přídavek 0,1 kg zelené natě bazalky do krmné dávky koz neměl statisticky významný vliv na obsah celkové sušiny ani dusíkatých látek mléka, mléko však obsahovalo významně vyšší množství sensoricky aktivních látek 1-oktanolu, 1-undekanolu a 2-nonanonu ( $P \leq 0,01$ ,  $P \leq 0,05$ ). Všechny šarže jogurtů vykazovaly během skladování pokles hodnot pH a to do 20. dne. Bylo stanoveno pět volných mastných kyselin (C5:0, C13:0, C14:0, C16:0 a C18:1), jejichž obsah v průběhu skladování rostl. U sledovaných jakostních ukazatelů (pH, obsah volných mastných kyselin, analýza textury) nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly mezi výrobky s přidavkem  $\iota$ -karagenanu a bez jeho přidavku s výjimkou volné kyseliny olejové, jejíž obsah byl ve vzorcích jogurtů s přidavkem  $\iota$ -karagenanu významně vyšší ( $P \leq 0,05$ ). Sensorické hodnocení preferuje přídavek  $\iota$ -karagenanu u jogurtů s vyšším obsahem sušiny (14 a 16 %).

**Klíčová slova:** kravské mléko; kozí mléko; jogurt; sušina; aminokyseliny; mastné kyseliny; sensoricky aktivní látky; GC; LC; analýza textury; pH; sensorické hodnocení

## ABSTRACT

This doctoral thesis resolves the nutritional characteristics of milk, within the framework of which three experiments were realized. The first experiment studied the substitution of hard fodder (e.g. maize, wheat, triticale) in dairy cow feed with an emphasis on amino acid and fatty acid content of the cow milk. The second experiment dealt with the addition of green basil leaves (*Ocimum basilicum*) to goat feed with an emphasis on the content of the sensory active compounds of goat milk. The third experiment investigated how the quality of a selected dairy product (i.e. yoghurt) was influenced by the addition of dried milk solids or hydrocolloids (i.e.  $\iota$ -carrageenan). Changes in the composition of the milk, or respectively, dairy product (yoghurt), were tracked using chemical, chromatographic, spectroscopic, textural and sensory methods. The inclusion of grain (maize, wheat, triticale) into the dairy cows' feed did not influence the fat content of the milk; however, triticale did affect the milk's protein content. The composition of amino acid and fatty acid did not show that wheat or triticale were able to fully replace maize. Nevertheless, statistically significant differences were observed in the pentadecanoic and palmitooleic acid content in the milk ( $P \leq 0.05$ ). The addition of 0.1 kg of green basil tops into the goat feed had no statistically significant effect on the total solid and nitrogen content of this milk, but it did however contain significantly higher amounts of the sensory active compounds 1-octanol, 1-undecanol and 2-nonanone ( $P \leq 0.01$ ,  $P \leq 0.05$ ). The pH values of all batches of yoghurt samples declined throughout the storage period including up to the 20th day. It was established that five free fatty acids (C5:0, C13:0, C14:0, C16:0 and C18:1), whose content grew during the storage period. No statistically significant differences in the observed quality parameters (i.e. pH, free fatty acid content, texture analysis) were discovered between samples with, and without  $\iota$ -carrageenan addition, with the exception of free oleic acid, whose content was significantly higher in yoghurts with added  $\iota$ -carrageenan than in samples without  $\iota$ -carrageenan addition ( $P \leq 0.05$ ). The sensory evaluation preferred  $\iota$ -carrageenan addition to yoghurts with higher solid content (14, 16 %).

**Keywords:** cow milk; goat milk, yogurt; solid;  $\iota$ -carrageenan; hydrocolloid; amino acids; fatty acids; sensory active compounds; GC; LC; texture analysis; pH; sensory evaluation

# OBSAH

<b>ABSTRAKT .....</b>	<b>3</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>4</b>
<b>OBSAH .....</b>	<b>5</b>
<b>SEZNAM ILUSTRACÍ.....</b>	<b>7</b>
<b>SEZNAM TABULEK .....</b>	<b>9</b>
<b>1 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY .....</b>	<b>11</b>
1.1. MLÉKO .....	11
1.1.1. Biosyntéza složek mléka.....	12
1.1.2. Senzoricky aktivní látky mléka.....	14
1.2. MLÉKO A MLÉČNÉ VÝROBKY .....	17
1.3. JOGURTY .....	18
1.1.3. Výroba jogurtů.....	18
Biochemie výroby fermentovaných mléčných výrobků.....	25
<b>2 CÍL PRÁCE.....</b>	<b>30</b>
<b>3 ZVOLENÉ METODY ZPRACOVÁNÍ.....</b>	<b>32</b>
3.1. POPIS EXPERIMENTŮ.....	32
3.2. EXPERIMENT 1 .....	33
3.2.1. Popis krmného pokusu.....	33
3.2.2. Odběry vzorků mléka .....	33
3.2.3. Příprava vzorků .....	33
3.2.4. Analýzy vzorků.....	34
3.3. EXPERIMENT 2 .....	35
3.3.1. Popis krmného pokusu.....	35
3.3.2. Odběry vzorků mléka .....	36
3.3.3. Příprava vzorků .....	36
3.3.4. Analýza vzorků.....	36
3.4. EXPERIMENT 3 .....	37
3.4.1. Výroba vzorků jogurtu .....	37
3.4.2. Analýzy vzorků.....	38
3.5. STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ.....	41
<b>4 VÝSLEDKY PRÁCE A DISKUZE .....</b>	<b>42</b>
4.1. VÝSLEDKY A DISKUZE EXPERIMENTU 1.....	42
4.2. VÝSLEDKY A DISKUZE EXPERIMENTU 2.....	51
4.3. VÝSLEDKY A DISKUZE EXPERIMENTU 3.....	60
<b>5 PŘÍNOS PRÁCE PRO VĚDU A PRAXI.....</b>	<b>78</b>
<b>6 ZÁVĚR.....</b>	<b>79</b>

<b>7</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>82</b>
<b>8</b>	<b>SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORA.....</b>	<b>97</b>
<b>9</b>	<b>CV AUTORA.....</b>	<b>99</b>
<b>10</b>	<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>100</b>

## SEZNAM ILUSTRACÍ

<i>Obr. 1.1</i> Schéma vzniku vonných látek působením mikroorganismů .....	15
<i>Obr. 1.2:</i> Kvalitativní porovnání textury jednotlivých gelů produkovaných různými hydrokoloidy .....	23
<i>Obr. 1.3:</i> Struktura $\kappa$ -karagenanu .....	24
<i>Obr. 1.4:</i> Struktura $\iota$ -karagenanu .....	24
<i>Obr. 1.5:</i> Struktura $\lambda$ -karagenanu .....	24
<i>Obr. 1.6:</i> Metabolizmy laktózy .....	25
<i>Obr. 1.7:</i> Obecné znázornění metabolismů, které probíhají během skladování jogurtů: (a) proteolýza a reakce volných aminokyselin, (b) lipolýza a reakce volných mastných kyselin (c) metabolismus laktózy, laktátu a citrátu .....	28
<i>Obr. 1.8:</i> Souhrn biochemických dějů vedoucích k vytváření sensoricky aktivních látek prostřednictvím metabolismu volných aminokyselin .....	29
<i>Obr. 3.1</i> Experimenty disertační práce .....	32
<i>Obr. 3.2</i> Kolonka (Amino Box, SampliQ, Agilent Technologies, USA) .....	39
<i>Obr. 3.3</i> SPE mangold (Chromservis, Praha, Česká republika) .....	39
<i>Obr. 4.1</i> Obsah esenciálních a semiesenciálních aminokyselin v krmivu a mléku .....	45
<i>Obr. 4.2</i> Obsah neesenciálních aminokyselin v krmivu a mléku .....	46
<i>Obr. 4.3</i> Procentuální nárůst 1-oktanolu v mléce experimentální skupiny (kontrolní skupina=horizontální čára na hodnotě 100 %) .....	53
<i>Obr. 4.4</i> Procentuální nárůst 1-undekanolu v mléce experimentální skupiny (kontrolní skupina=horizontální čára na hodnotě 100 %) .....	54
<i>Obr. 4.5</i> Procentuální nárůst 2-nonanonu v mléce experimentální skupiny (kontrolní skupina=horizontální čára na hodnotě 100 %) .....	54
<i>Obr. 4.6</i> Dynamika změn obsahu $\alpha$ -laktózy a $\beta$ -laktózy ve vzorcích jogurtů K12 a K16 v průběhu skladovacího pokusu .....	63
<i>Obr. 4.7</i> Dynamika změn textury vzorků jogurtů v průběhu skladovacího pokusu .....	75

<b>Obr. 10.1</b> Dynamika změn obsahu volné kyseliny valerové v průběhu skladovacího pokusu .....	105
<b>Obr. 10.2</b> Dynamika změn obsahu volné kyseliny tridecylové v průběhu skladovacího pokusu .....	106
<b>Obr. 10.3</b> Dynamika změn obsahu volné kyseliny myristové v průběhu skladovacího pokusu .....	107
<b>Obr. 10.4</b> Dynamika změn obsahu volné kyseliny palmitové v průběhu skladovacího pokusu .....	108
<b>Obr. 10.5</b> Dynamika změn obsahu volné kyseliny olejové v průběhu skladovacího pokusu .....	109



## SEZNAM TABULEK

<b>Tab. 1.</b> Složení mléka samic některých živočišných druhů (hmotnostní %).	11
<b>Tab. 2</b> Látky podílející se na chuti a vůni mléka .....	15
<b>Tab. 3</b> Složky a analýza krmné dávky jednotlivých skupin dojnic v krmném pokusu .....	34
<b>Tab. 4</b> Vypočtená charakteristika vyrobených vzorků jogurtů (%) .....	37
<b>Tab. 5</b> Aminokyselinové složení a NL u testovaných obilnin (kukuřice, pšenice, tritikale) (g/kg); průměr ± SE .....	43
<b>Tab. 6</b> Aminokyselinové složení a NL mléka jednotlivých skupin dojnic (g/kg); průměr ± SE .....	44
<b>Tab. 7</b> Obsah tuku v krmivu a mléku (g/100g); průměr ± SE .....	47
<b>Tab. 8</b> Obsah mastných kyselin krmiva u jednotlivých skupin dojnic vyjádřeno v % k celkovému množství mastných kyselin); průměr ± SE .....	48
<b>Tab. 9</b> Obsah mastných kyselin mléka jednotlivých skupin dojnic (vyjádřeno v % k celkovému množství mastných kyselin); průměr ± SE .....	49
<b>Tab. 10</b> Senzoricky aktivní látky stanovené v zelené nati bazalky pravé ( <i>Ocimum basilicum</i> ) (%) .....	55
<b>Tab. 11</b> Nádoj a celková sušina mléka kontrolní a experimentální skupiny v průběhu experimentu; průměr ± SE .....	56
<b>Tab. 12</b> Tuk a bílkoviny mléka kontrolní a experimentální skupiny v průběhu experiment (g/100g); průměr ± SE .....	57
<b>Tab. 13</b> Koncentrace mikroelementů (vápník, fosfor a draslík) mléka kontrolní a experimentální skupiny v průběhu experiment (g/l); průměr ± SE .....	58
<b>Tab. 14</b> Dynamika změn obsahu senzoricky aktivních látek mléka kontrolní a experimentální skupiny v průběhu experimentu (μl/100 ml mléka); průměr ± SE .....	59
<b>Tab. 15</b> Označení vzorků jogurtů pro jednotlivé analýzy .....	60
<b>Tab. 16</b> Aktivní kyselost vzorků jogurtů v průběhu skladovacího pokusu; pH ± SE .....	60

<b>Tab. 17</b> Dynamika změn obsahu $\alpha$ -anomeru a $\beta$ -anomeru laktózy ve vzorcích jogurtů K12 a K16 v průběhu skladovacího pokusu (g/100 g jogurtu); průměr $\pm$ SE .....	62
<b>Tab. 18</b> Dynamika změn obsahu kyseliny valerové ve vzorcích jogurtů v průběhu skladovacího pokusu (mg/100 g); průměr $\pm$ SE .....	65
<b>Tab. 19</b> Dynamika změn obsahu kyseliny tridecylové ve vzorcích jogurtů v průběhu skladovacího pokusu (mg/100 g); průměr $\pm$ SE .....	66
<b>Tab. 20</b> Dynamika změn obsahu kyseliny myristové ve vzorcích jogurtů v průběhu skladovacího pokusu (mg/100 g); průměr $\pm$ SE .....	67
<b>Tab. 21</b> Dynamika změn obsahu kyseliny palmitové ve vzorcích jogurtů v průběhu skladovacího pokusu (mg/100 g); průměr $\pm$ SE .....	68
<b>Tab. 22</b> Dynamika změn obsahu kyseliny olejové ve vzorcích jogurtů v průběhu skladovacího pokusu (mg/100 g); průměr $\pm$ SE .....	69
<b>Tab. 23</b> Zastoupení volných aminokyselin ve vzorku jogurtu K10 v 1. a 30. den skladování (mg/kg); průměr $\pm$ SE .....	70
<b>Tab. 24</b> Zastoupení volných aminokyselin ve vzorku jogurtu K16 v 1. a 30. den skladování (mg/kg); průměr $\pm$ SE .....	71
<b>Tab. 25</b> Změny tvrdosti (N) vzorků jogurtů v průběhu skladovacího pokusu; průměr $\pm$ SE .....	74
<b>Tab. 26</b> Označení vzorků jogurtů pro senzorické hodnocení panelem hodnotitelů a rozdělení vzorků mezi dva panely hodnotitelů .....	76

# 1 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

## 1.1. MLÉKO

Mléko je tekutina vylučovaná samicemi všech druhů savců jako primární zdroj zabezpečující kompletní nutriční požadavky novorozence daného druhu. Kromě výživy zabezpečuje mléko pro novorozence řadu funkcí fyziologických. Většinu těchto funkcí mléka vykonávají imunoglobuliny, enzymy a enzymové inhibitory, vázané nebo nosné bílkoviny, růstové faktory a antibakteriální látky. Protože nutriční a fyziologické potřeby jednotlivých druhů jsou více či méně unikátní, složení mléka vykazuje velmi výrazné mezidruhové rozdíly (Tab. 1) [1].

Vedle druhových rozdílů je možno zaznamenat typické rozdíly ve složení a vlastnostech mléka v průběhu laktace. Podle těchto rozdílů rozlišujeme mléka nezralá, k nimž řadíme především mlezivo, a mléka zralá, k nimž počítáme mléka v dalším období po porodu, kdy se již mlezivo netvoří [2].

Dle [3,4] jsou základními složkami mléka voda, lipidy, sacharidy, bílkoviny, minerální látky a minoritní složky, mezi které patří vitaminy, enzymy, pigmenty a hormony. Z fyzikálně chemického hlediska je mléko velmi komplexní tekutina. Složky mléka se vyskytují ve třech fázích. Koloidní fáze je tvořena kaseinovými molekulami a globulárními bílkovinami syrovátky, ale také fosforečnanem vápenatým. Tuk přítomný ve formě tukových kapek tvoří emulzi, částice lipoproteinů koloidní suspenzi, nízkomolekulární látky (laktóza aj. sacharidy, volné aminokyseliny, většina minerálních látek, ve vodě rozpustné vitaminy) tvoří pravý roztok [4-6].

**Tab. 1.** Složení mléka samic některých živočišných druhů (hmotnostní %) [1]

Samice živočišného druhu	sušina	tuk	bílkoviny	laktóza	popel
Člověk ( <i>Homo sapiens</i> )	12,2	3,8	1,0	7,0	0,2
Tur domácí ( <i>Bos primigenius</i> f. <i>taurus</i> )	12,7	3,7	3,4	4,8	0,7
Koza ( <i>Capra</i> )	12,3	4,5	2,9	4,1	0,8
Ovce ( <i>Ovis</i> )	19,3	7,4	4,5	4,8	1,0
Prase ( <i>Sus</i> )	18,8	6,8	4,8	5,5	-
Kůň ( <i>Equus caballus</i> f. <i>caballus</i> )	11,2	1,9	2,5	6,2	0,5
Opice ( <i>Simiiformes</i> )	11,7	1,4	2,0	7,4	0,5
Sob ( <i>Rangifer</i> )	33,1	16,9	11,5	2,8	-
Králík domácí ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> f. <i>domestici</i> )	32,8	18,3	11,9	2,1	1,8
Bizon ( <i>Bison</i> )	14,6	3,5	4,5	5,1	0,8
Slon indický ( <i>Elephas maximus</i> )	31,9	11,6	4,9	4,7	0,7
Polární medvěd ( <i>Ursus maritimus</i> )	47,6	33,1	10,9	0,3	1,4
Tuleň obecný ( <i>Phoca vitulina</i> )	67,7	53,1	11,2	0,7	-

Nejčastěji je mléko rozdělováno dle jeho chemického složení, především podle vzájemného poměru hlavních bílkovin mléka na [2,7]:

- **mléka albuminová**, která jsou produkována býložravci s jednoduchým žaludkem, všežravci a masožravci – vyznačuje se vysokým obsahem albuminu (patří sem mléko lidské, kobyli, oslí, prasečí, kočičí, králičí aj.),
- **mléka kaseinová**, která jsou tvořena nejméně 75 % kaseinu a nejvýše 25 % ostatních bílkovin, náleží k nim mléko kravské, ovčí, kozí, buvolí, aj.

Přestože albuminová mléka jsou v přírodě více rozšířena, mají kaseinová mléka daleko větší praktický význam [2].

### 1.1.1. Biosyntéza složek mléka

Složky mléka mohou být rozděleny do čtyř hlavních tříd podle místa jejich zdroje [1]:

- 1) orgánově (mléčná žláza) a druhově specifická – většina bílkovin a lipidů,
- 2) orgánově nikoliv druhově specifická – laktóza,
- 3) druhově specifická nikoliv orgánově specifická – některé proteiny,
- 4) ani orgánově, ani druhově specifická – voda, minerální látky, vitaminy.

Hlavní složky mléka (laktóza, tuky a většina proteinů) jsou syntetizovány v mléčné žláze ze složek absorbovaných z krve. Nicméně ke značným změnám složek dochází v mléčné žláze. Tyto složky jsou absorbovány z krve přes bazální membránu, modifikovány (je-li to nutné) a syntetizovány do konečné molekuly (laktóza, triglyceridy, bílkoviny) [1]. Řada transportů a sekrečních procesů nutných pro vznik těchto molekul je regulována hormony, vývojovými a fyziologickými faktory [8].

Přímé nebo nepřímé prekurzory základních složek mléka, jsou zabezpečovány živinami z krmiva zvířat. Vztahy mezi složením krmiva a složením mléka nejsou však přímé ani jednoduché, nelze tedy říci, že se zvýšením obsahu jedné složky (živiny) krmiva je možné dosáhnout i relativního zvýšení tvorby stejného komponentu mléka [9]. Dojnice má, jako přežvýkavé zvíře, schopnost trávit krmiva s vysokým obsahem vlákniny jako např. celulózy, krmiva, které obecně nejsou příliš vhodná pro zvířata nepřežvýkavá. Toto trávení se odehrává v *rumenu* (bachoru), kde je za tento proces zodpovědné velké množství různých bakterií a dalších mikroorganismů. V průběhu fermentačního procesu jsou sacharidy stráveny na volné mastné kyseliny jako acetát, propionát a butyrát, které jsou většinou absorbovány skrz sliznici. V *rumenu* dochází k mikrobiologickému trávení 20–80 % proteinů, zatímco zbytek (80–20 %) je tráven v *abomasu* (slezu) nebo ve střevě společně s mikrobiálně natrávenými proteiny. Tuk je

hydrolyzován tráven na glycerol a mastné kyseliny. Produkty mikrobiologického metabolismu procházejí ostatními předžaludky a *abomasem* (slezem) a absorpce různých složek se odehrává na různých místech střeva. *Rumen* (bachor), *reticulum* (čepec) a *omasum* (kniha) lze přirovnat k druhu přední fermentační komory. Při krmení krávy, nejprve krmíme mikroorganismy, které postupně krmí dojnici [10].

V celkovém pohledu je však složení mléka, které je podle [11] důležité i pro jeho následné technologické zpracování, ovlivněno mnohými faktory a podmínkami jako jsou:

1. dědičnost [12-17],
2. fyziologie,
  - a) stadium laktace [18-20],
  - b) gravidita,
  - c) věk,
  - d) výživa [20-29],
  - e) roční období,
  - f) infekce vemene,
3. proces dojení.

Byla publikována řada studií zabývajících se vlivem mnoha faktorů na dojivost a složení mléka [19, 20, 30]. Produkce mléka a jeho složení jsou ovlivněny dietou zvířete [31-33], pořadím laktace [19] a genotypem [12-17]. Složení mléka a zejména složení mléčných bílkovin je důležité pro jeho následné zpracování [32].

Podle Palmquist *et al.* [23] výměna zkvasitelných sacharidů za tuky v dietě dojnic s vysokou dojivostí může omezit syntézu mikrobiální bílkoviny v bachoru a snížit tak tok mikrobiálního proteinu do tenkého střeva. V některých případech může tuková suplementace omezit transport aminokyselin do mléčné žlázy a redukovat tak obsah mléčné bílkoviny v mléce [22]. Dvě nezávislé studie autorů Wu & Huber [24] a Dhiman *et al.* [25] potvrzují, že zvýšení tuku v potravě může snížit obsah mléčných bílkovin. V jiné studii [28] byl zkoumán vliv různého množství neutrální detergentní vlákniny (NDF) v krmné dávce na mléčnou dojivost. Tato studie prokázala, že nižší obsah vlákniny NDF (12 %) s přísadkou sójové slupky zvýšil dojivost z 32,2 až na 34,6 kg a stimuloval produkci mléčné bílkoviny. Studie zkoumající jetelové siláže a studie zabývajících se chovem dojnic na ekofarmách ukázaly, že zvýšení obsahu jaderné složky v krmivu způsobilo následně vyšší obsah mléčné bílkoviny [26, 27, 34].

Zkoumáním vlivu výživy dojnic na obsah tuků, mastných kyselin a složení mléka se zabývalo již několik studií [35-40]. Krmné dávky laktujících dojnic se vyznačují nízkým obsahem tuku, většinou obsahují jen asi 4–5 % tuků. Převládajícími polynenasycenými mastnými kyselinami v dietě přežvýkavců jsou kyselina linolenová a linolová, které pochází především z píce, ale

zároveň jsou hlavní složkou olejnatých semen a koncentrátů, které jsou přidávány do krmných dávek dojníc [41].

S poklesem obsahu mléčného tuku dochází ke změnám ve složení mastných kyselin. Podle Palmquist *et al.* [42] ve většině případů dochází k poklesu mastných kyselin s krátkým řetězcem a naopak obsah *cis* nenasycených mastných kyselin roste, záleží však na druhu jadrného krmiva a na obsahu tuku v tomto jadrném krmivu. Na produkci mastných kyselin v bachoru může mít podle Khorasani *et al.* [43] vliv obsah sacharidů v koncentrátu krmné dávky. Mnoho studií [44-47] ukázalo, že krmné dávky bohaté na vlákninu s vysokým obsahem škrobu nemají žádný signifikantní vliv na obsah tuku v mléce. Na druhou stranu, v některých pokusech byl prokázán vyšší obsah tuku v mléce po zkrmování dávek s vysokým obsahem vlákniny [48, 49]. Zpracování obilovin je dle Crocker *et al.* [50] jedním ze způsobů zvýšení dojivosti.

Bachorové trávení škrobu ovlivňuje zásobu energie, která je potřebná pro zisk složek nutných pro syntézu mléka [51]. Dle několika studií [52-54] je zpracování obilovin, které zpřístupňuje sacharidy pro metabolismus v bachoru, zlepšuje produkci mléka. Zvýšení dojivosti a obsahu mléčných bílkovin bylo pozorováno při zkrmování obilovin ve formě vloček upravených párou [52, 53, 55]. Avšak extensivní zpracování obilovin vede k poklesu mléčného tuku, v souvislosti s negativním vlivem tohoto procesu na obsah volných mastných kyselin v bachoru [53, 55].

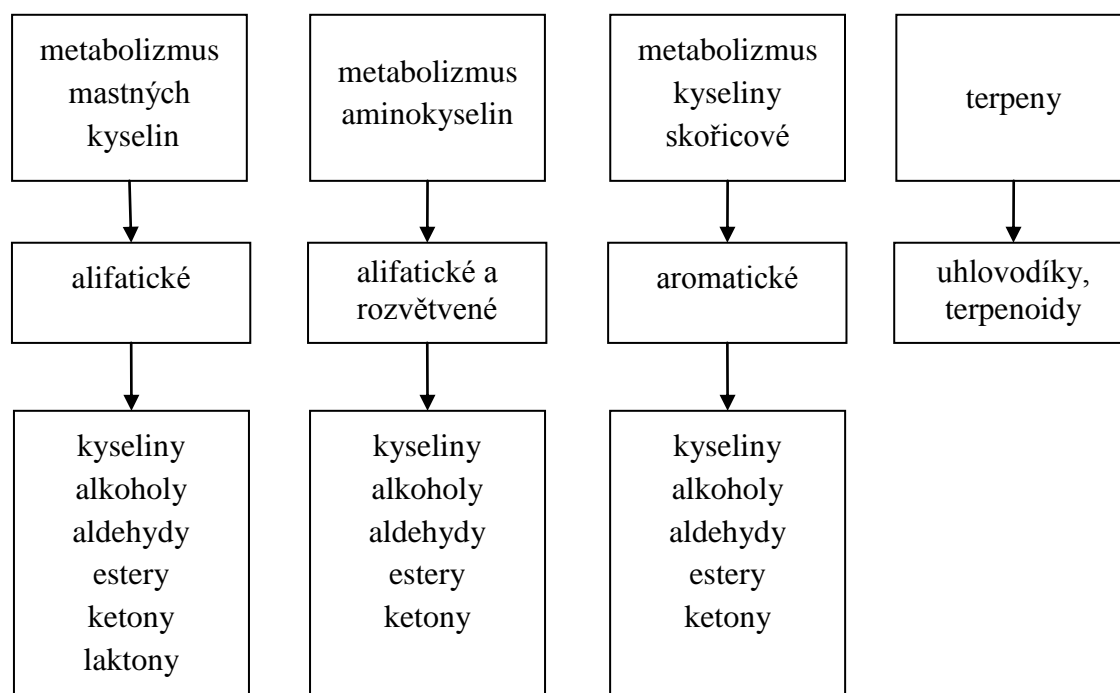
### 1.1.2. Senzoricky aktivní látky mléka

Mezi přirozeně se vyskytující látky podílející se na chuti a vůni patří terpeny. Další látky podílející se na chuti a vůni vznikají pouze v přítomnosti enzymů, mikrobiální aktivitou, nebo tepelným záhřevem, kdy látky nevykazující žádné aroma jsou přeměněny v látky aromatické [56]. Senzorická aktivita jednotlivých látek závisí na chiralitě dané molekuly, tedy na konfiguraci *cis/trans* (v anglické literatuře označováno *E/Z*) [57]. Např. aldehyd 2–nonenal má v konfiguraci *cis* (*E*) chuť lojovitou, okurkovitou, zatímco konfigurace *trans* (*Z*) tukovou, listovou [58].

Na obrázku Obr. 1.1 je znázorněno schéma vzniku jednotlivých sensoricky aktivních látek působením mikroorganismů. Tyto přeměny probíhají v *rumenu*, ale také v mléčných výrobcích, při jejichž výrobě byly použity mikrobiální kultury.

V čerstvém mléce se přirozeně vyskytují alkoholy, karbonylové sloučeniny kyseliny a estery (Tab. 2). Právě tyto látky se převážně podílejí na chuti a vůni mléka.

Použité techniky pro jejich detekci byly různé a zahrnovaly např. derivatizaci pomocí 2,4–dinitrophenylhydrazinu a různé druhy extrakcí a chromatografie [5].



**Obr. 1.1** Schéma vzniku vonných látek působením mikroorganismů [59]

**Tab. 2** Látky podílející se na chuti a vůni mléka [5]

Složka	mg/l	stopové množství	mg/l
ethanol	3,0	k. oktanová	12,5-38,0
formaldehyd	0,0-0,003	k. dekanová	stopové množství
acetaldehyd	0,0-0,016	k. mléčná	34,0-104,0
hexanal	stopové množství	k. $\beta$ -hydroxymáselná	stopové množství
benzaldehyd	stopové množství	$\sigma$ -dekalakton	stopové množství
aceton	0,0-1,1	$\sigma$ -dodekalakton	stopové množství
butanol	0,8	k. glyoxalová	stopové množství
diacetyl	stopové množství	k. pyruová	0,0-25,0
2-pentanon	0,007-0,030	k. acetocetová	stopové množství
2-hexanon	0,007-0,010	k. $\alpha$ -ketoglutarová	0,1-15,0
2-heptanon	stopové množství	k. oxalátová	3,0-7,0
2-nonanon	stopové množství	k. oxaloctová	stopové množství
k. mravenčí	10,0-85,0	k. oxaljantarová	stopové množství
k. octová	3,0-50,0	k. citronová	1750,0
k. propionová	0,0-3,0	k. benzoová	2,3-4,0
k. máselná	0,0-9,5	ethylester k. octové	stopové množství
k. valerová	0,0-3,8	methylester k. palmitové	stopové množství
k. hexanová	4,0-10,0		

Jako vhodné metody extrakce a koncentrace před samotným stanovením jednotlivých komponent jsou dle [60] destilace vodní parou, přímá extrakce (kapalina/kapalina, nebo kapalina/pevná látka), superkritická fluidní extrakce (SFE), simultánní destilace extrakce (SDE), dialýza, solid-phase extrakce (SPE), solid-phase mikroextrakce (SPME).

Výživa zvířete ovlivňuje základní složky mléka, stejným způsobem se projevuje i koncentrace sensoricky aktivních látek [61]. Např. sladká chuť  $\gamma$ -dodekanolaktону a  $\gamma$ -dodeka-Z-6-enolaktону se vykytuje mnohem více v mléce krav krmených jadrným krmivem než v mléce krav chovaných na pastvě [62]. Dle [63-66] aroma mléka může být ovlivněno zařazením bylin do krmné dávky zvířat. Dle prací Tipu *et al.* [67] a Rochfort *et al.* [68] může mít dokonce zařazení léčivých bylin do krmné dávky zvířete pozitivní účinek v boji proti různým onemocněním, navíc bez residuálního efektu. Z pohledu druhových rozdílů se výskyt aromatických látek v ovčím, kozím a kravském mléce z kvalitativního hlediska neliší, ovšem z pohledu kvantitativního je obsah těchto složek v ovčím a kozím mléce vyšší oproti kravskému mléku [69-71].

Řada autorů tedy potvrzuje, že chuť a vůně mléka je přímo ovlivněna výživou zvířete [63, 66, 72, 73]. Příklad přidání bylin do krmné dávky má podle Collomb *et al.* [65] pozitivní vliv na složení mastných kyselin v mléce a navíc pozitivně ovlivňuje bachorovou fermentaci a stravitelnost [64]. Některé sensoricky aktivní látky mohou mít navíc přínosný vliv pro konzumenty mléka. Např. ve studii Bushara *et al.* [74] je zmíněn pozitivní efekt 1-oktanolu proti esenciálnímu tremoru. Řada alkoholů podílejících se na chuti a vůni mléka jsou následně redukovány na jejich aldehydické analogy [75]. Mimo již zmíněné alkoholy jsou to právě ketony, které se podílejí na chuti a vůni mléka [5, 58, 76].

Kromě výše zmíněných vlivů na obsah sensoricky aktivních látek v mléce může být dalším faktorem dle Scehovic [72 a 73] nadmořská výška. Ve svých studiích [72, 73] Scehovic uvádí, že spásáním louk a pastvin bohatých na dvouděložné rostliny, které se vyskytují zejména ve vyšších horských oblastech, dochází k ovlivnění chuti sýru jinak než spásáním pastvin v nížinách.

Na množství sensoricky aktivních látek v mléce má vliv jeho následná tepelná úprava. Pokud je syrové kravské mléko pasterováno při nízkých teplotách (72 °C po dobu 15 sekund) je jeho aroma minimálně ovlivněno [77]. Naopak při vysokoteplotní úpravě (UHT) ošetření se množství sensoricky aktivních látek snižuje a navíc vznikají látky jiné, které vytvářejí typickou „vařivou“ chuť UHT mléka [77,78].



Senzoricky aktivních látky v mléce jsou velmi komplexní a zahrnují celou řadu látek, které přispívají k celkové chuti a vůni. V mléčném tuku bylo identifikováno přibližně 200 těkavých látek [79]. Avšak, většina těkavých látek je přítomna ve stopových množstvích a jsou tedy na hranici podprahového vnímání. Vnímání vůně mléka může být změněno koncentrací jednotlivých těkavých složek. Základním faktorem, který může přispět ke změně koncentrace jednotlivých těkavých látek je krmná dávka zvířete [80].

Hlavní třídy těkavých látek, které jsou považovány za složky odpovědné za signifikantní změnu chuti a vůně jsou laktony, mastné kyseliny, aldehydy a metyl ketony. Zároveň se může jednat o malé množství hydroxy kyselin esterifikovaných na triacylglyceroly v mléčném tuku. Tyto kyseliny slouží jako prekurzory  $\gamma$ -laktonů a  $\delta$ -laktonů. V publikacích Schieberle *et al.* [79] a Widder *et al.* [81] byly publikovány tři laktony,  $\delta$ -octalakton,  $\delta$ -dekalakton a  $\gamma$ -dodekalakton, které jsou důležitými složkami podílejícími se na aromatu mléčného tuku. Jiná studie Siek *et al.* [82], publikovaná v 70. letech, považuje za klíčové složky aromatu mléka mastné kyseliny s krátkým řetězcem (butanovou a hexanovou). Nicméně zatímco tyto složky přispívají k celkové chuti a vůni mléka již při velmi nízkých koncentracích, jejich vyšší koncentrace v důsledku lipolýzy budou nevyhnutelně vést ke žluklé chuti mléka. Potenciálně největším zdrojem žádoucích i nežádoucích senzoricky aktivních látek mléka jsou alifatické aldehydy. Mimo výše jmenované složky existuje řada dalších těkavých látek, které přispívají ke vzniku chuti a vůně mléka (např. diacetyl) [83].

## 1.2. MLÉKO A MLÉČNÉ VÝROBKY

Mléko a mléčné výrobky jsou nutriční potraviny obsahující řadu esenciálních živin. Tyto živiny, mezi které převážně patří kyselina olejová, konjugovaná kyselina linolová, omega-3 mastné kyseliny, mastné kyseliny s krátkým a středním řetězcem, vitaminy, minerální látky a bioaktivní látky, mají pozitivní účinky na zdraví člověka [84]. Mezi pozitivní účinky mléka a mléčných výrobků lze zařadit antihypertenzní efekt mléčných proteinů [84, 85], antioxidantní vlastnosti mléčných peptidů [86, 87] a mléčné proteiny snižující účinky osteoporózy [88].

Mléko a mléčné výrobky jsou dle Vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb., ve znění pozdějších předpisů, kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje, členěny na druhy:

- a) mléko,
- b) smetana,

- c) kysaný mléčný výrobek,
- d) mléčný výrobek tepelně ošetřený po kysacím procesu,
- e) mléčný výrobek obohacený přídavkem mlékařské kultury,
- f) máslo mlékárenské a koncentráty mléčného tuku,
- g) složený mléčný výrobek,
- h) tvaroh,
- i) sýr,
- j) bílkovinný mléčný výrobek.

Tyto výrobky jsou následně členěny převážně dle technologického zpracování do skupin poté ještě do podskupin, kdy a) – c) je členěno dle tučnosti, h) dle následného tepelného ošetření, i) dle způsobu zrání, tvrdosti, či tučnosti.

Tato práce se dále blíže zabývá kysanými mléčnými výrobky, přesněji jogurty.

### 1.3. JOGURTY

Podle legendy vznikl jogurt zázrakem přírody v pohoří Kavkaz. Zde se na jižní straně hory Elbrus rozvíjely mikroorganismy preferující vyšší teploty (40–45 °C) a umožnily tak vhodné prokysání nadojeného mléka v kožených vacích a hliněných nádobách, které používali tamní turečtí nomádi [89].

Jogurt je dle Vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb., ve znění pozdějších předpisů kysaný mléčný výrobek získaný kysáním mléka, smetany, podmáslí, nebo jejich směsí pomocí mikroorganismů, které tvoří protosymbiotickou směs *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Dále Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb., ve znění pozdějších předpisů stanovuje výskyt mléčné mikroflóry výrobku jako  $10^7$  v 1 g.

U jogurtových výrobků mohou být kromě základní jogurtové kultury přidávány kmeny produkující kyselinu mléčnou a pomáhající dotvářet specifickou chuťovou nebo texturovou charakteristiku výrobku. Musí však být zachován poměr obou základních kmenů jogurtové kultury [90].

#### 1.1.3. Výroba jogurtů

##### Výběr mléka

Pro výrobu jogurtů je důležitý výběr kvalitní počáteční suroviny, tedy mléka. Mléko by mělo mít odpovídající vlastnosti jako nízký celkový počet mikroorganismů, nízký počet psychrofilních mikroorganismů (z důvodu

možné produkce inhibičních látek), mělo by mít dostatek živin a enzymů a v žádném případě nesmí obsahovat inhibiční látky [91, 92].

#### Standardizace tuku a tukuprosté sušiny

Standardizace obsahu tuku zahrnuje úpravu obsahu tuku ve výrobku přidavkem smetany nebo odtučněného mléka tak, aby byl získán produkt o požadovaném obsahu tuku. Zvyšování tučnosti zajišťuje hladkost a jemnost textury sraženiny [92, 93]. Množství celkové sušiny v syrovém mléce určuje fyzikální vlastnosti výsledného jogurtu. Zvýšení obsahu tukuprosté sušiny, zvláště podílu kaseinu a bílkovin syrovátky, vede ke zvýšení pevnosti koagulátu a ke snížení oddělování syrovátky na povrchu [92]. Oddělování syrovátky zabraňuje přidavek stabilizátorů, které zlepšují konzistenci výrobků, slouží také k náhradě části mléčné sušiny a tím ke snížení nákladů na výrobu [94].

#### Deaerace směsi

Obsah vzduchu v mléce používaném pro výrobu fermentovaných výrobků musí být co nejnižší. Deaerace zlepšuje průběh homogenizace, zvyšuje viskozitu a odstraňuje nežádoucí těkavé látky [92].

#### Homogenizace směsi

Hlavním cílem homogenizace je zabránit vyvstávání mléčného tuku v průběhu inkubace v obalu a zajistit rovnoměrné rozdělení mléčného tuku ve výrobku. Homogenizace rovněž zlepšuje stabilitu a konzistenci výrobků. Mléko se homogenizuje obvykle při tlaku 20–25 MPa a teplotě 65–70 °C [92]. Při homogenizaci za vysokého tlaku dochází i k roztříštění kaseinových micel. Vzniklé útvary mají schopnost vázat na rozhraní micela – mléčné sérum tukové kuličky a dochází k výraznému zjemnění struktury kysaného výrobku [93, 94]. Velké tukové kuličky nehomogenizovaného mléka mohou snižovat pevnost gelu [91].

#### Tepelné ošetření mléka před zaočkováním zákysovou kulturou

Cílem tepelného ošetření mléka je nejen zničit nežádoucí mikroflóru a inaktivovat enzymy, ale zlepšit vlastnosti mléka pro výrobu kysaných mléčných výrobků. Vysokým tepelným záhřevem dochází k denaturaci sérových bílkovin. V molekulách se mění prostorové uspořádání jednotlivých článků, přemísťují se vnitřní molekulové vazby a trhají se vodíkové můstky. Funkční skupiny v bílkovinných částicích se aktivně účastní chemických reakcí. To umožňuje vzájemnou interakci mezi molekulami v denaturovaných bílkovinách a schopnost těchto molekul k agregaci a k vytváření komplexů s jinými bílkovinami, např. dochází ke vzniku vazby  $\beta$ -laktoglobulinu na  $\kappa$ -kasein prostřednictvím disulfidického můstku. Díky vazbě denaturovaných sérových bílkovin na kaseinové micely dochází

ke zvýšení vazby vody a snížení vylučování syrovátky fermentovaných výrobků. V konečném důsledku se zvyšuje viskozita vytvořeného gelu [93, 94]. Doba záhřevu je závislá na fyzikálních vlastnostech vyráběných jogurtových výrobků [91]. Optimálních výsledků je dosaženo při tepelném záhřevu při 90–95 °C a době výdrže až 5 minut [93].

#### Chlazení na teplotu zakysání

Mléko po pasteraci je zchlazeno na teplotu inokulace, která je závislá na typu mikroflóry použité pro fermentaci [92].

#### Zakysání, fermentace a chlazení

Zakysání se provádí podle typu použité kyselkové kultury. Požadované množství bakteriální kultury se zaočkuje do kultivačního media [92]. Naočkované mléko se musí důkladně promíchat, aby se kultura dobře rozptýlila do celého obsahu mléka. Požadovaný průběh kysání zajišťují kultury (ČMK), které pozvolna zkvašují laktózu na kyselinu mléčnou. Při pomalém prokysávání se tvoří největší množství aromatických látek a příznivě jsou ovlivněny i reologické vlastnosti koagulátu [93].

Podle [92] dělíme výrobky dle způsobu výroby na:

a) s **nerozmíchaným koagulátem** (v anglické literatuře označovány jako Set type yoghurts) – mléko zaočkované kyselkovou kulturou se plní do spotřebitelských obalů, následuje fermentace při požadované teplotě a chlazení; přísady (ovocný podíl) se dávkuje na dno spotřebitelského obalu ještě před plněním,

b) s **rozmíchaným koagulátem** (v anglické literatuře označovány jako Stirred type yoghurts) – koagulát vzniká ve fermentačním tanku a struktura vzniklého gelu je rozrušena před nebo během procesu chlazení (ve fermentačním tanku) a balení.

Dalším může být výrobek **typu nápoj** (v anglické literatuře označován jako Drink type), což je výrobek s nízkou viskozitou. Fermentace výrobků probíhá ve fermentačním tanku a homogenizací výrobku je zcela rozrušena struktura vzniklého koagulátu [92].

Při výrobě kysaných mléčných výrobků je důležité vystihnout správný okamžik chlazení. Tento okamžik je třeba stanovit nikoli jednoduše podle kultivační doby, ale podle kyselosti koagulátu. Výchozí stupeň kyselosti pro volbu začátku chlazení závisí na různých činitelích, jako je např. druh vyráběných kysaných mléčných výrobků, požadovaný stupeň kyselosti finálního výrobku, požadované reologické vlastnosti apod. [93].

## Čisté mlékařské kultury (ČMK)

Pro zahájení fermentace, která má zlepšit vzhled, chuť, vůni a trvanlivost produktu se používají jako inokulum směsi vybraných definovaných a živých mikroorganismů. Pojem „čisté mlékařské kultury“ je však nutno si vykládat pouze technicky. Nejde totiž o čisté kultury v pravém slova smyslu tohoto pojmu, ani o absolutní druhovou čistotu kultur, ale o jejich pojmové odlišení od dříve používaných přírodních kyšek neznámého mikrobiologického složení [95].

Hlavními funkcemi těchto mikroorganismů obsažených v zákysových kulturách jsou [94]:

- zajištění technologické zpracovatelnosti surovin na výrobky požadovaných parametrů,
- ochranná funkce – zajištění inhibice nežádoucích mikroorganismů,
- probiotická funkce – prospěšné působení na stav organismu příjemce včetně člověka,
- sensoricky významná funkce – tvorba kyseliny mléčné, vznik sensoricky významných složek (diacetyl, acetaldehyd, volné těkavé mastné kyseliny, atd.).

Podle obsažených skupin mikroorganismů se zákysové kultury dělí na [92]:

- Bakteriální (mezofilní – např. *Lactococcus*, *Leuconostoc*, termofilní např. *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Bifidobacterium*)
- Kvasinkové (např. *Candida*, *Kluyveromyces*)
- Plísňové (např. *Penicillium* – spíše pro výrobu sýrů)
- Smíšené (obsahují obecně více předešlých skupin)

Pro výrobu jogurtů je používána bakteriální zákysová kultura v podobě bakterií mléčného kvašení (BMK). Tyto jsou klasifikovány společně podle tvorby stejného produktu metabolismu – kyseliny mléčné. BMK tolerují kyselost mléka kolem pH 4 po několik týdnů, jsou grampozitivní a anaerobní, mikroaerofilní, resp. fakultativně anaerobní [94].

Podle konečných produktů metabolismu jsou děleny na homofermentativní, které produkují kyselinu mléčnou z laktózy ze 70–90 % a heterofermentativní, jež produkují kyselinu mléčnou z laktózy minimálně z 50 %, kromě toho vytváří další produkty, jako kyselina octová, oxid uhličitý a etanol [94].

BMK může dále dělit dle jejich optimální teploty růstu na mezofilní (optimální teplota růstu mezi 25 a 30 °C) a termofilní (preferují teploty 40 až 44 °C, rostou větší rychlostí než mezofilní bakterie) [94].

Jako jogurtové kultury se hlavně využívá směs *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (dříve *Lactobacillus bulgaricus*) společně se *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (dříve *Streptococcus thermophilus*) [92].

Použité kultury se při zrání symbioticky ovlivňují. *L. bulgaricus* částečně odbourává kasein, čímž uvolňuje zejména valin, histidin, metionin, kyselinu glutamovou a leucin. Z těchto štěpů pak zejména valin působí stimulačně na rozvoj *S. thermophilus*. Streptokoky pak produkují kyselinu mléčnou, která snižuje pH media na optimum pro růst *L. bulgaricus*. Zvyšováním kyselosti se pak omezuje rozvoj streptokoků. Produkce kyseliny mléčné začíná asi po 30 minutách inkubace, tj. po prvním dělení použité mikroflóry. Aromatické látky, zejména acetaldehyd, vznikají později [96]. Streptokoky také vytváří kyselinu mravenčí a její soli stimulující růst laktobacilů [97].

### **Stabilizátory**

Přídavek stabilizátorů může ovlivnit reologické vlastnosti jogurtu. Tyto složky stabilizují proteinové molekuly ve formě sítě, což brzdí volný pohyb ostatních složek jogurtu. Struktura jogurtu v přítomnosti různých stabilizačních látek je odlišná. Podle Kaláb *et al.* [98] přídavkem karagenanu dochází k vytvoření vláknité struktury, která je spojena s velkými klastry kaseinových micel a tato vlákna neobsahují volné konce, jsou tenká a dlouhá. V případě přídavku škrobu do jogurtového mléka vznikají vlákna krátká, často mají volné konce, na které jsou navázány malé klastry kaseinových micel. Mezi nejčastěji aplikované stabilizátory patří hydrokoloidy [99]. Hydrokoloidy jsou z chemického pohledu polysacharidy a proteiny, které dokážou v průmyslu plnit několik funkcí, zahrnujících např. zahušťování a želírování vodných roztoků, stabilizace pěn, emulzí a disperzí, inhibují tvorbu krystalů ledu a cukrů apod. [100]. Porovnání textury gelů získaných pomocí jednotlivých hydrokoloidů je patrné z obr. Obr. 1.2.

Křehkost gelu je většinou doprovázena zvýšením tendence podléhat synerezi a je jí přičítáno zvyšování stupně agregace molekulární řetězce [100].

V následujícím textu bude věnována pozornost karagenanům a to převážně  $\iota$ -karagenanu, který byl použit v rámci třetího experimentu této disertační práce.

### **Karagenany**

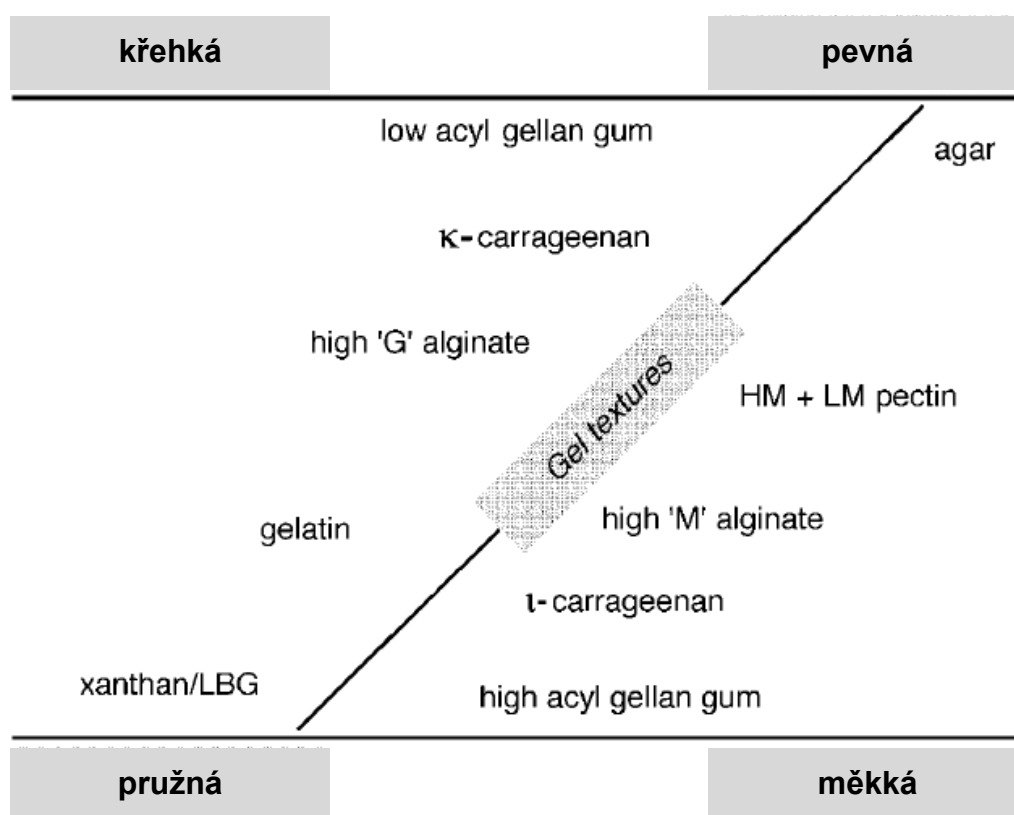
Karagenany jsou extrakty z červených mořských řas (*Rhodophyceae*), zejména rodů *Euchema*, *Chondrus* a *Gigantina*. Karagenany jsou lineární polysacharidy s vysokou molekulární hmotností. Vyskytují se v několika typech, které přinášejí rozličné vlastnosti v želírování, zahušťování, což je způsobeno počtem a uspořádáním sulfátových skupin na opakujících se galaktózových jednotkách [100, 101].

- **Struktura**

Základní strukturální jednotkou karagenanů je opakující se sekvence  $\beta$ -D-galaktopyranózy a 3,6-anhydro- $\alpha$ -D-galaktopyranózy, tedy disacharid, který se nazývá karabióza. Je známo minimálně 8 druhů sekvencí karagenanů, které se označují malými písmeny řecké abecedy. V potravinářství převládá použití následujících druhů: kappa, ióta a lamda ( $\kappa$ -,  $\iota$ - a  $\lambda$ -) viz. Obr. 1.3 – Obr. 1.5. Molekuly  $\kappa$ -karagenanu a  $\iota$ -karagenanu tvoří dvojité šroubovice, molekuly  $\lambda$ -karagenanu se vyskytují v cik-cak konformaci, což je dáno polohou a počtem sulfátových skupin. Rozdělení karagenanů je odůvodněné polohou na stavební jednotce 3,6-anhydrogalaktózy a v počtu a postavení sulfátových skupin. Sulfátové skupiny mají největší vliv na vlastnosti těchto hydrokoloidů [100, 101].

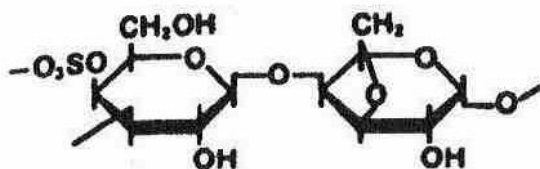
- **Vlastnosti**

Karagenany jsou hydrofilní anionaktivní koloidy [101]. Rozpustnost ve vodě závisí na druhu karagenanu, přítomných iontech, teplotě a pH prostředí. Karagenany jsou stabilní v prostředí o pH 5–10. V kyselějším prostředí (pH < 4,3) viskozita disperzí klesá. Je to následkem autohydrolyzy, která nastane při nízkém pH a dojde k rozštěpení vazby 3,6-anhydrogalaktózy v molekule karagenanu [100].



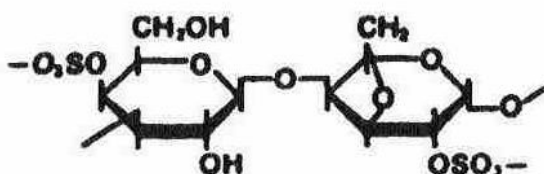
**Obr. 1.2:** Kvalitativní porovnání textury jednotlivých gelů produkovaných různými hydrokoloidy [100]

**Kappa karagenan** obsahuje v molekule karabiózy jednu sulfátovou skupinu (Obr. 1.3). Je rozpustný v horké vodě, nerozpustný v mnoha organických rozpouštědlech. V přítomnosti draselných iontů tvoří odolný a křehký gel. Obvykle se používá koncentrace v rozmezí 0,02 – 2,0 % [100, 101].



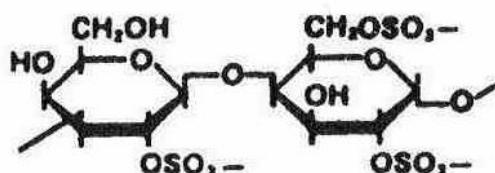
*Obr. 1.3: Struktura  $\kappa$ -karagenanu [100]*

**Iota karagenan** obsahuje ve své molekule dvě sulfátové skupiny (Obr. 1.4). Je rozpustný v horké vodě, v přítomnosti sodných iontů je rozpustný i ve studené vodě. Přídavkem vápenatých iontů vzniká odolný a elastický gel, zvyšuje se teplota gelace a tání. Obvyklá koncentrace použití je v rozmezí 0,2 – 2,0 % [100, 101].



*Obr. 1.4: Struktura  $\iota$ -karagenanu [100]*

**Lambda karagenan** obsahuje ve své molekule celkem tři sulfátové skupiny (Obr. 1.5). V základní struktuře je 3,6-anhydro- $\alpha$ -D-galaktopyranóza nahrazena  $\alpha$ -D-galaktopyranózou. Vytváří volně tekoucí negelující pseudoplastický roztok. Je částečně rozpustný ve studené vodě, zcela rozpustný v horké vodě, nerozpustný v mnoha organických rozpouštědlech a rozpustný v 5% roztoku NaCl. Obvyklá koncentrace použití je v rozmezí 0,1 – 1,0 % [100, 101].



*Obr. 1.5: Struktura  $\lambda$ -karagenanu [100]*

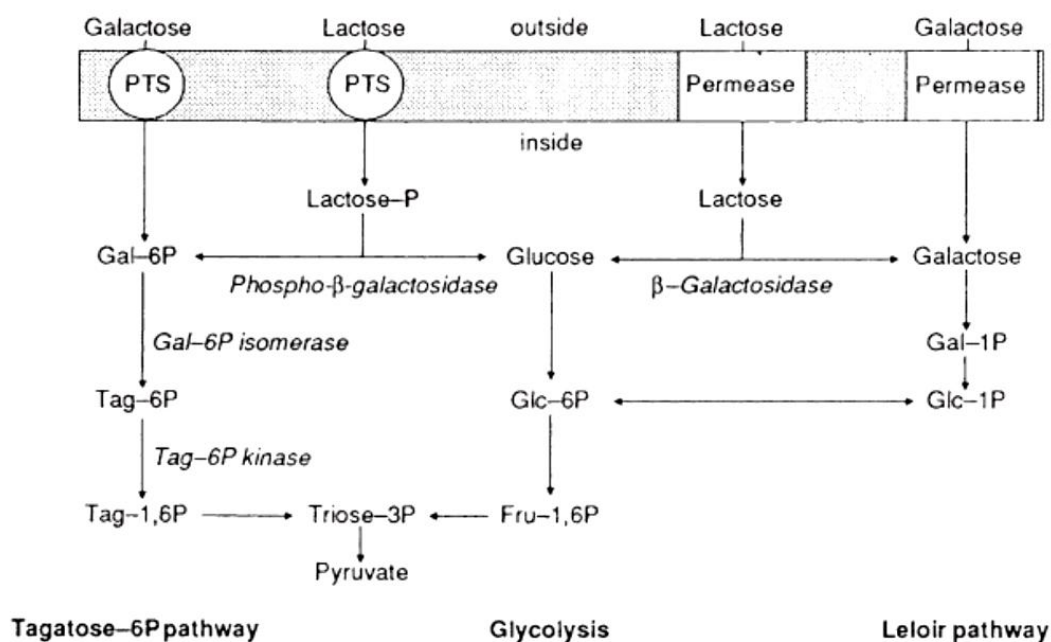


## Biochemie výroby fermentovaných mléčných výrobků

### Produkce kyseliny mléčné

Základním biochemickým pochodem zajišťovaným čistými mlékařskými kulturami při výrobě kysaných mléčných výrobků je proces přeměny sacharidů na kyselinu mléčnou [93, 102, 116].

Produkce kyseliny mléčné je zajištěna dvěma metabolizmy laktózy. Metabolismus laktobacilů a bakterie *S. thermophilus* využívá k přenosu laktózy specifický enzym permeázu, následně je laktóza hydrolyzována intracelulárně pomocí  $\beta$ -galaktosidázy. Vznikající glukóza je fermentována Embden–Meyerhofovou–Parnasovou dráhou (EMP), do které také vstupuje galaktóza po její konverzi Leloirovou dráhou na glukózu–6–fosfát. Většina laktokoků a některých laktobacilů jako *L. casei* metabolizují laktózu pomocí fosfoenolpyruvátu (PEP) – závisí na systému fosfotransferázy (PTS), který fosforyluje laktózu a umožňuje tak její transport do buňky. Laktóza-fosfát je následně hydrolyzována fosfo- $\beta$ -galaktosidázy na glukózu, která opět vstupuje do EMP dráhy. Galaktóza–6–fosfát je eventuálně přeměněna na pyruvát dráhou tagatóza–6–fosfát [5, 93, 102, 108].



Obr. 1.6: Metabolizmy laktózy [108]

Vyprodukovaná mléčná kyselina snižuje pH výrobku, destabilizuje kaseinové micely, což poté vede k tvorbě mléčného koagulátu. Okamžik, příp. interval, při němž dochází ke srážení mléka, se nazývá izoelektrický bod kaseinů a leží pod pH 5,0 (4,6–4,8) [93, 102].

*S. thermophilus* produkuje kyselinu mléčnou v podobě jejího levotočivého izomeru, který je lépe stravitelný než pravotočivý izomer produkovaný

*L. bulgaricus*. Jogurt obsahuje oba tyto izomery, kdy levotočivá forma kyseliny mléčné převažuje (50–70 % celkového obsahu kyseliny mléčné) [4].

### **Proteolýza**

Proteolytický systém bakterií mléčného kvašení je významný enzymatickým štěpením bílkovin, jejíž produkty jsou důležité pro růst mikroorganismů, konzervaci a proces fermentace, který uděluje potravinám charakteristické reologické a organoleptické vlastnosti [103]. Proteolytické enzymy (proteinázy, peptidázy) katalyzující hydrolýzu peptidových vazeb v proteinech významně ovlivňují nutriční, sensorické, texturní a jiné vlastnosti. Množství a typ peptidových vazeb, které může peptidáza štěpit jsou závislé na aminokyselinovém složení proteinů [104].

Některé bakterie mléčného kvašení nemohou syntetizovat řadu esenciálních aminokyselin, proto proteolýza proteinů a peptidů ze substrátu je potřebná k jejich růstu [105]. BMK mají proteolytické enzymy, které se nacházejí v buněčné stěně, buněčné membráně a cytoplazmě [94]. *L. bulgaricus* produkuje proteinázu, která hydrolyzuje kasein na polypeptidy a ty jsou dále degradovány pomocí peptidázy *S. thermophilus* [106]. *L. bulgaricus* kromě produkce některých esenciálních aminokyselin [107] vykazuje vyšší proteolytickou aktivitu než *S. thermophilus* [105].

### **Lipolýza**

Již i nízká enzymatická aktivita lipáz způsobuje uvolnění volných mastných kyselin, zejména kyseliny stearové a olejové. Jednotlivé esterázy a lipázy jogurtových kultur se zdají být více aktivní v případě glyceridů s krátkým řetězcem mastných kyselin než u substrátů s dlouhým řetězcem mastných kyselin [4].

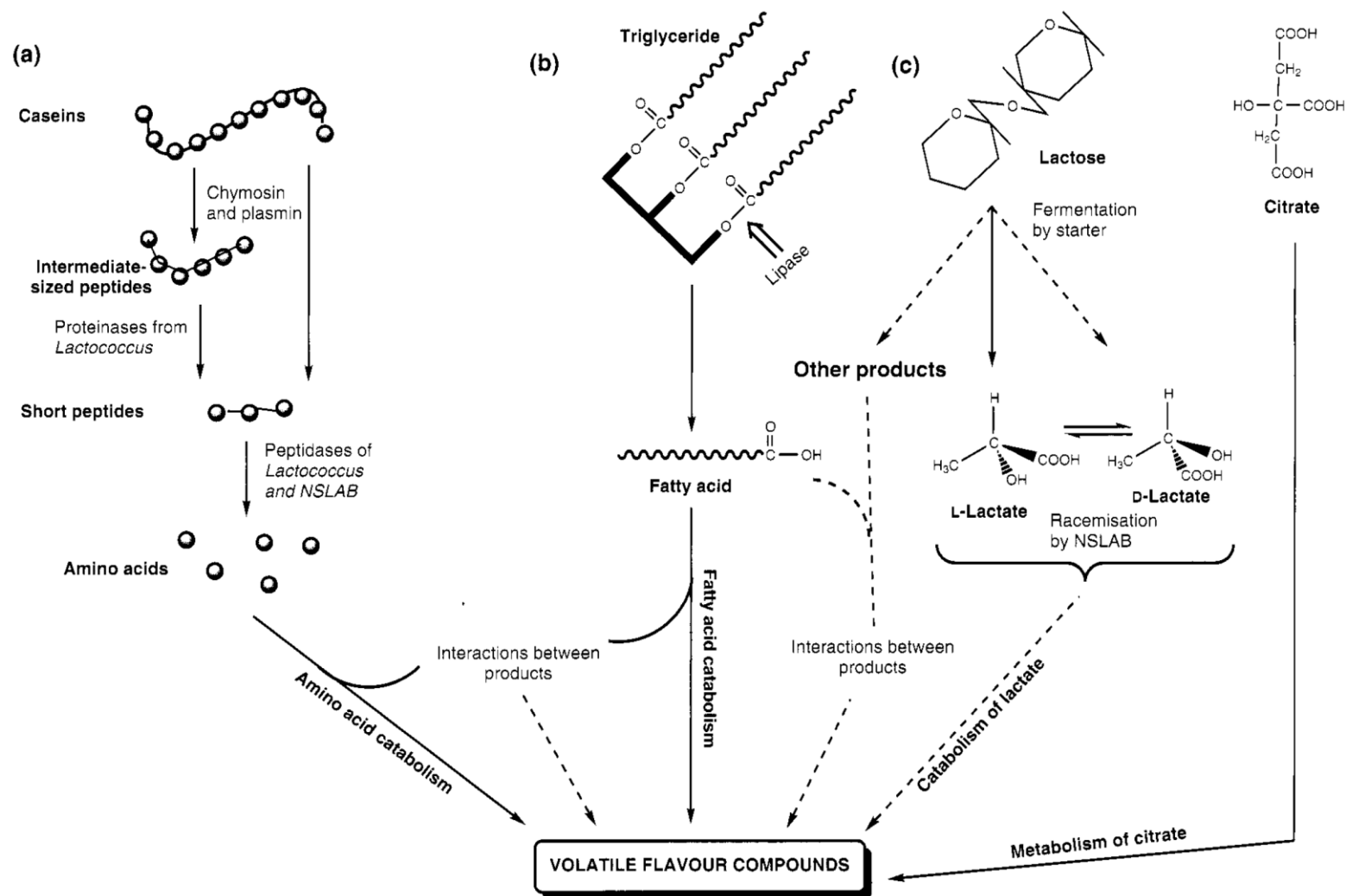
Výše popsané biochemické děje (proteolýza, lipolýza a stejně tak metabolismus laktózy) jsou shrnuty ve schématu znázorněném na Obr. 1.7. Produkty těchto metabolismů jsou popsány v následujícím odstavci.

### **Senzoricky aktivní látky v jogurtech**

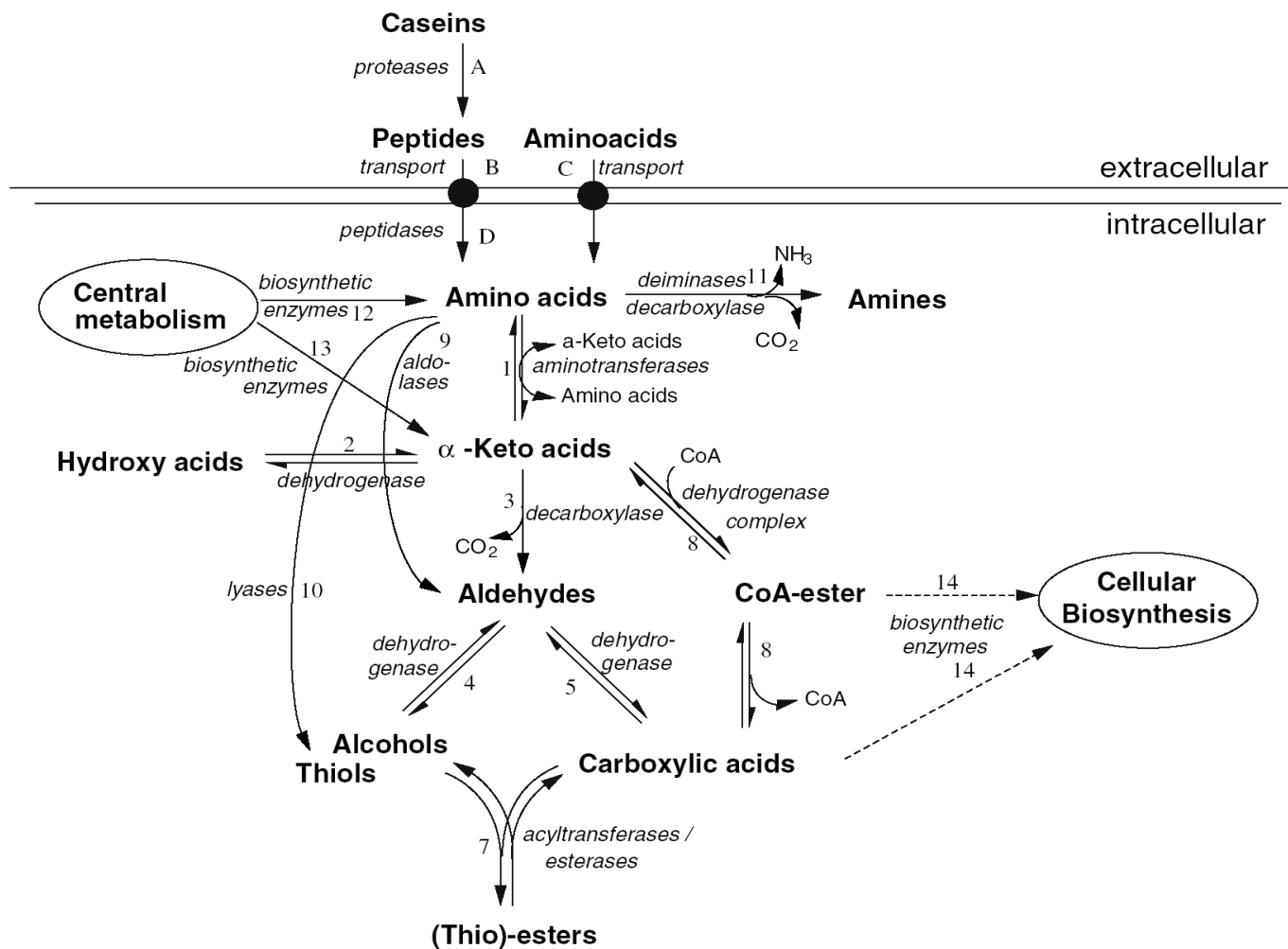
Hlavními složkami podílejícími se na aromatu jogurtu je kyselina mléčná, acetaldehyd, acetone, diacetyl [4, 109]. Tyto hlavní složky jsou produkovány jogurtovými kulturami. Aminokyseliny treonin a metionin jsou známy jako prekurzory acetaldehydu. Dle [110] však většina acetaldehydu v jogurtech vyrobených z kravského mléka vzniká fermentací glukózy jogurtovými kulturami (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *S. thermophilus*). Dalšími možnými látkami, z nichž vzniká acetaldehyd jsou acetyl-CoA, nebo nukleové kyseliny. Diacetyl a acetoin jsou metabolické produkty metabolismu sacharidů bakterie *S. thermophilus* [4].

Mezi další látky vykazující senzoricou aktivitu v jogurtu lze zařadit estery, aldehydy, alkoholy, ketony a kyseliny. Biosyntéza esterů probíhá v mléčných výrobcích pomocí dvou enzymatických mechanismů, pomocí esterifikace a alkoholýzy. Při esterifikaci vznikají estery z alkoholů a karboxylových kyselin, zatímco při alkoholýze jsou estery produkovány z alkoholů a acylglycerolů, nebo z alkoholů a acetyl-CoA (ten je používán při metabolismu mastných kyselin), aminokyselin nebo sacharidů [111].

Karboxylových sloučenin bylo v jogurtech dle [112] detekováno celkem 91 (např. 2-propanon, 2-butanon, butanal, 2-butanol, hexanal, 2-undekanon, 3-methyl-2-butenol), z nich však pouze 21 bylo olfaktometricky zhodnoceno jako podílejících se na aromatu jogurtu. Některé tyto látky byly analyzovány již v mléce, jiné vznikly působením kultur v průběhu fermentace. Dle [113 a 116] mohou jogurtové kultury využívat k tvorbě aldehydů, alkoholů a kyselin také  $\alpha$ -keto kyseliny. Konkrétně *L. delbrueckii* subsp. *lactis* přeměňuje  $\alpha$ -keto kyseliny na aldehydy, alkoholy a kyseliny, zatímco *S. thermophilus* produkuje z  $\alpha$ -keto kyselin hydroxykyselin a kyseliny. Souhrn uvedených chemických dějů je shrnut ve schématu na Obr. 1.8.



**Obr. 1.7:** Obecné znázornění metabolismů, které probíhají během skladování jogurtů: (a) proteolýza a reakce volných aminokyselin, (b) lipolýza a reakce volných mastných kyselin (c) metabolismus laktózy, laktátu a citrátu [114]



Obr. 1.8: Souhrn biochemických dějů vedoucích k vytváření sensoricky aktivních látek prostřednictvím metabolismu volných aminokyselin [115]

## 2 CÍL PRÁCE

Hlavním cílem prováděných experimentů, shrnutých v disertační práci, bylo získání základních a prvotních poznatků o vlivu:

- 1) záměny jaderné složky krmné dávky dojnic na změny nutričních ukazatelů mléka s důrazem na zastoupení a obsah aminokyselin a mastných kyselin mléka,
- 2) přidavku zelené natě rostliny Bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) do krmné dávky koz na změny nutričních ukazatelů mléka s důrazem na obsah sensoricky aktivních látek,
- 3) přidavku hydrokoloidu či různého obsahu sušiny na změny jakosti mléčného výrobku (jogurtu).

Vzhledem k širší studované problematice byly stanoveny následující dílčí cíle:

ad 1)

- a) zpracovat literární rešerši zabývající se vlivem rozdílné struktury krmných dávek dojnic (záměna jaderné složky krmné dávky) na nutriční ukazatele mléka
- b) realizovat krmný pokus se záměnou jaderné složky krmné dávky dojnic a v rámci tohoto pokusu provádět odběry mléka,
- c) analyzovat a vyhodnotit získané vzorky mléka.

ad 2)

- a) zpracovat literární rešerši zabývající se vlivem rozdílné struktury krmných dávek u koz (přídavek bylin do krmné dávky) na nutriční ukazatele mléka
- b) realizovat krmný pokus s přídavkem zelené natě rostliny Bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) do krmné dávky koz a v rámci tohoto pokusu provádět odběry mléka,
- c) analyzovat a vyhodnotit získané vzorky mléka.

ad 3)

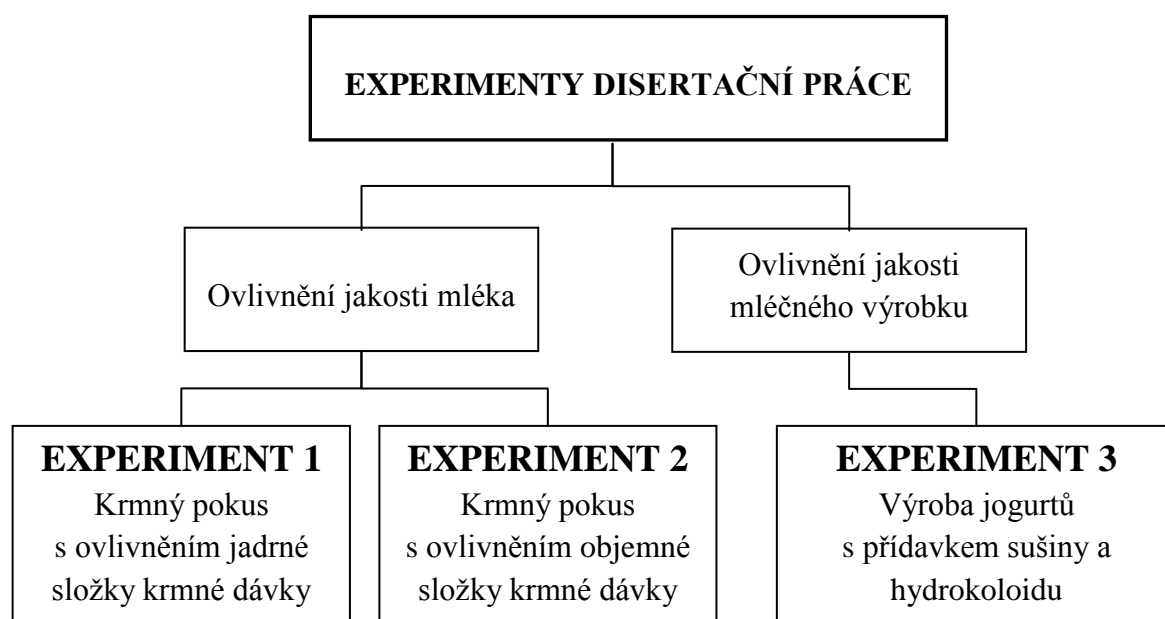
- a) zpracovat literární rešerši zabývající se jakostními ukazateli mléčného výrobku (jogurtu) po aplikaci přísad hydrokoloidů a zvýšením sušiny těchto výrobků.
- b) realizovat výrobu jogurtů s přísadou hydrokoloidu, s různým obsahem sušiny,
- c) ukutečnit skladovací pokus s různě technologicky upravenými jogurty a průběžně analyzovat a vyhodnocovat takto skladované vzorky.

## 3 ZVOLENÉ METODY ZPRACOVÁNÍ

### 3.1. POPIS EXPERIMENTŮ

Disertační práce shrnuje realizaci tří experimentů (Obr. 3.1). První dva experimenty se zabývají problematikou možného ovlivnění jakosti mléka, prvotní suroviny mléčného průmyslu, při jeho vzniku. Třetí experiment pojednává o možném ovlivnění jakosti mléčného výrobku při jeho výrobě.

V prvním experimentu byl proveden krmný pokus se záměnou jaderné složky krmné dávky u krav a byl sledován vliv této záměny na nutriční ukazatele mléka s důrazem na analýzu aminokyselin a mastných kyselin (viz kapitola 3.2). Ve druhém experimentu byla do krmné dávky koz přidána složka objemná – definované množství zelené natě rostliny Bazalky pravé (*Ocimum basilicum*), a byly sledovány nutriční ukazatele mléka, tentokrát s důrazem na sensoricky aktivní látky (viz kapitola 3.3). Ve třetím experimentu byla zkoumána změna jakosti mléčného výrobku (jogurtu) po přidavku hydrokoloidu či sušiny (viz kapitola 3.4).



*Obr. 3.1 Experimenty disertační práce*



## **3.2. EXPERIMENT 1**

Cílem prvního experimentu disertační práce, ve kterém byl proveden krmný pokus se záměnou jaderné složky krmné dávky u dojnic, bylo zhodnocení účinku náhrady kukuřice za pšenici, či tritikale v krmné dávce na celkový obsah aminokyselin a mastných kyselin a jejich zastoupení v kravském mléce.

### **3.2.1. Popis krmného pokusu**

Krávy plemene České strakaté byly chovány v nadmořské výšce 500 m a byly do pokusu vybrány podle užitkovosti a pořadí laktace tak, aby skupiny byly pokud možno vyrovnané podle mléčné užitkovosti, pořadí laktace, stadia laktace a základních složek mléka. Krmný pokus trval šest týdnů a zahrnoval 26 dojnic, které byly rozděleny do tří skupin ( $n_1=8$ ;  $n_2=9$ ;  $n_3=9$ ). Na počátku byly dojnice bez klinických a závažnějších subklinických projevů mastitid. Jedna dojnice byla pro klinickou mastitidu a léčbu z pokusu vyřazena (skupina  $n_1$  – krmena kukuřicí). Pokus proběhl v období od poloviny dubna do konce května 2007. Krávy byly chovány ve vazné stlané stáji s potrubním dojícím zařízením na stání a dojením dvakrát denně. Krmné dávky skupin dojnic a jejich parametry jsou uvedeny v Tab. 3 a jsou jak je patrné identické ve skladbě pro všechny skupiny vyjma jaderné složky, zde se mezi skupinami liší a jako kontrola, resp. reference (skupina 1), byla zvolena běžná kukuřice (skupina 1) [117].

### **3.2.2. Odběry vzorků mléka**

V návaznosti na aplikaci modifikovaných krmných dávek byly pravidelně odebírány individuální vzorky mléka vždy při ranním dojení. Pravidelně bylo odebráno 26 vzorků v přibližně týdenních intervalech. Celkem bylo v sedmi odběrových termínech odebráno 182 vzorků pomocí průtočných mlékoměrů (Tru-Test Ltd., Auckland, Nový Zéland). Individuální vzorky byly uvnitř každé skupiny spojeny pravidelně do bazénového vzorku mléka váženým způsobem podle hodnoty aktuálního nádoje ( $n = 21 = 3 \text{ skupiny} \times 7 \text{ vzorkovacích termínů}$ ).

### **3.2.3. Příprava vzorků**

Před analýzou byly vzorky obilnin pomlety pomocí zařízení Bosh (Bosh MUM 4 MUZ 4 GM 2, Robert Bosch GmbH, Stuttgart, SRN) tak, aby prošly 1 mm sítím. Odebrané vzorky byly přepraveny do laboratoře v chladovém stavu ( $<10^\circ\text{C}$ ).

Poté byly vzorky mléka přes noc vymrazeny při teplotě  $-80^\circ\text{C}$ . Následně byly vzorky lyofilizovány dva dny při  $-40^\circ\text{C}$  v zařízení Chris Alpha 1-4 (Christ, Osterode, Německo).

**Tab. 3** Složky a analýza krmné dávky jednotlivých skupin dojníc v krmném pokusu [29]

Složky krmné dávky	1	2	3
	kukuřice	pšenice	tritíkale
siláž jetelová	21,3	21,3	21,3
siláž kukuřičná	13,1	13,1	13,1
seno luční	1,0	1,0	1,0
siláž kukuřičná – zrno	3,0	3,0	3,0
mačkané obilí	3,0	3,0	3,0
krmná směs	5,8	5,8	5,8
kukuřice	<b>1,5</b>	-	-
pšenice	-	<b>2,0</b>	-
tritíkale	-	-	<b>2,0</b>
<b>Analýza krmné dávky</b>			
NEL/kg sušiny	6,52	6,51	6,49
NL % v sušině	17,9	18,2	17,9
vláknina % v sušině	16,0	15,7	15,7
PDIN/PDIE	1,19	1,19	1,19

### 3.2.4. Analýzy vzorků

Vzorky krmiv a stejně tak i mléka byly před analýzami homogenizovány.

#### Stanovení obsahu aminokyselin a celkového dusíku

Pro samotnou analýzu byly vzorky upraveny pomocí kyselé a oxidativně-kyselé hydrolyzy dle [18, [118]. Analýza aminokyselin v hydrolyzátech byla provedena pomocí kapalinové chromatografie (AAA 400, fy INGOS, s.r.o., Praha, Česká republika) za použití sodno-citrátových pufrů a ninhydrinové detekce [18, 118, 119]. Celkové množství dusíku bylo stanoveno dle Kjehldahla vynásobením koeficientem pro mléko 6,38, resp. pro krmivo 6,25. Výsledky byly vyjádřeny v g/16 g N [122].

#### Stanovení obsahu mastných kyselin a obsahu tuku

Na analytických vahách bylo naváženo 0,5 g homogenního vzorku mléka (1 g vzorku krmiva) s přesností na čtyři desetinná místa. Stanovení mastných kyselin bylo provedeno podle Sutura *et al.* [123]. V případě stanovení mastných kyselin v obilninách byla před transesterifikací nutná předúprava vzorku, kdy k navážce vzorků krmiva bylo napipetováno 2,5 ml DMF (dimethylformamidu) a takto připravený roztok byl za stálého míchání refluxován po dobu 15 minut. Poté byly vzorky zchlazeny na teplotu okolí. Ke vzorku bylo přidáno 5 ml dioxanu a následně bylo přidáno 5 ml 5%

metoxidu v metanolu. Vytvořená směs byla protřepána a ponechána 60-90 sekund v klidu. Směs byla převedena do dělicí nálevky, kam bylo přidáno 25 ml pentanu. Směs byla opět protřepána a bylo přidáno 10 ml hydrogencitrátu disodného. Spodní fáze (vodná) byla vypuštěna a horní (pentanová fáze) byla převedena do 50ml odměrné baňky a doplněna n-pentanem po rysku. Před doplněním bylo přidáno 10  $\mu$ l cyklohexanonu jako vnitřního standardu. Pro stanovení methyl esterů mastných kyselin byla použita metoda GC-FID (Shimadzu GC 2010, Kyoto, Japonsko; kolona SPB-PUFA - 30 m  $\times$  0,25 mm, tloušťka vrstvy stacionární fáze 0,20  $\mu$ m). Nástřikový objem činil 1  $\mu$ l, splitovací poměr 1:100. Teplota při nástřiku byla 50  $^{\circ}$ C a teplotní gradient byl 20  $^{\circ}$ C/min až na 220  $^{\circ}$ C. Jako mobilní fáze byl použit dusík 5.0 (Linde Gas, a.s., Přerov, Česká republika). Pro analýzu naměřených dat byl použit software GC Solution. Každý vzorek byl stanoven čtyřikrát. Při vyhodnocování byla podle Aued-Pimentel *et al.* [124] provedena matematická konverze stanovených methylesterů mastných kyselin na mastné kyseliny pomocí podílu jejich molekulových hmotností ( $M_{\text{mastná kyselina}}/M_{\text{methylester mastné kyseliny}}$ ).

Stanovení obsahu tuku ve vzorcích krmiva bylo provedeno podle Nařízení Komise č. 152/2009. Obsahu mléčného tuku byl publikován ve studii Pozdíšek *et al.* [29].

### 3.3. EXPERIMENT 2

Cílem druhého experimentu disertační práce bylo zhodnocení přídavku zelené natě rostliny Bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) do krmné dávky koz na změnu nutričních ukazatelů mléka s důrazem na obsah sensoricky aktivních látek.

#### 3.3.1. Popis krmného pokusu

Krmný pokus, ve kterém byly zahrnuty kříženky kozy bílé a kozy hnědé horské ( $n=8$ ), trval patnáct dní a bylo odebráno celkem 30 vzorků mléka. Zvířata byla na druhé laktaci, ve stejných laktačních dnech a byla vyrovnána v doživosti. V průběhu experimentu nevykazovalo žádné z pozorovaných zvířat onemocnění či selektivní výběr potravy. Zvířata byla krmena směsnou krmnou dávkou složenou z 10 kg luční trávy, 0,5 kg ovesného šrotu a 0,03 kg NaCl.

První skupina koz ( $n=4$ ) byla první tři dny krmena směsnou krmnou dávkou bez přídavku bazalky, následně byla tato rostlina do krmné dávky přidána po dobu tří dnů (0,1 kg/zvíře/den). Poté již byla krmena opět stejnou krmnou dávkou jako na počátku pokusu. Druhá skupina koz ( $n=4$ ) byla taktéž první tři dny krmena směsnou krmnou dávkou bez přídavku bazalky následně byla tato rostlina do krmné dávky přidána po dobu sedmi dní (0,1 kg/zvíře/den).

Poté již byla druhá skupina krmena opět stejnou krmnou dávkou jako na počátku pokusu. Obě skupiny zvířat byly ustájeny v průběhu experimentu ve vazném chovu. Nať bazalky (*Ocimum basilicum*) byla získána z obchodní sítě v České republice.

### 3.3.2. Odběry vzorků mléka

Od koz byly odebírány individuální vzorky při večerním a ranní dojení, které byly následně smíchány. V průběhu experimentu byl sledován nádoj mléka u jednotlivých skupin.

### 3.3.3. Příprava vzorků

Vzorky mléka byly homogenizovány (35 °C, homogenizer IKA® RW 14 basic, Staufen, SRN) a rozděleny do dvou částí. První část vzorků byla vymrazena při teplotě -80 °C a vzorky byly po vymražení lyofilizovány dva dny při -40 °C v zařízení Chris Alpha 1-4 (Christ, Osterode, Německo). Tato část vzorků byla použita pro stanovení základních ukazatelů nutriční hodnoty (celková sušina, tuk, NL). Druhá část vzorků byla zmrazena na -20 °C a byla použita pro stanovení sensoricky aktivních látek v mléce.

### 3.3.4. Analýza vzorků

Celková sušina vzorků mléka byla stanovena dle [121], mléčný tuk dle Soxhleta a celkový dusík dle Kjeldahla, který byl konvertován na celkový obsah dusíkatých látek podle Lynch *et al.* [122]. Jednou z provedených základních analýz bylo stanovení sušiny natě bazalky dle Özcan *et al.* [125].

Vápník, fosfor a draslík byly stanoveny pomocí RTG fluorescenční spektroskopie (Elvatech, Kyjev, Ukrajina), podmínky měření byly následující:  $I = 95 \mu\text{A}$ ,  $U = 10 \text{ kV}$  a čas analýzy byl 120 sekund.

Majoritní analýzou této části disertační práce bylo stanovení sensoricky aktivních látek v mléce. V první fázi byly získány sensoricky aktivní látky z mléka pomocí simultánní destilace-extrakce (SDE) dle [126]. Tato metoda využívá Likens-Nickersonovy aparatury, v níž dochází ke společné kondenzaci par těkavých látek ze zkoumaného materiálu společně s parami rozpouštědla. Těkavé látky rozpustné v organickém rozpouštědle jsou tedy kontinuálně převáděny z vodní páry do par organického rozpouštědla, kde jsou zakoncentrovány [126]. Jako nejvhodnější organické rozpouštědlo byl dle [126] zvolen dichlormetan. Získané vzorky byly stanoveny pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC-MS) dle [60]. Vzorky natě bazalky byly analyzovány stejnou metodou jako vzorky mléka. Každý vzorek byl stanoven čtyřikrát.

### 3.4. EXPERIMENT 3

Ve třetím experimentu byla zkoumána změna jakosti mléčného výrobku (jogurtu) po přidavku hydrokoloidu či různého obsahu sušiny.

#### 3.4.1. Výroba vzorků jogurtu

Jako výchozí surovina bylo použito sušené polotučné mléko Lactis (1,5 % tuku v sušině) od výrobce ASP Czech s.r.o. (Slušovice, Česká republika) a pitná voda. Do mléka byl v jednotlivých sériích přidán dle pilotních pokusů vybraný hydrokoloid ( $\iota$ -karagenan) o koncentraci 0,01 % a dále byla přidána sušina na koncentraci 10, 12, 14 a 16 %. Sušené mléko bylo rozpuštěno v pitné vodě a následně bylo tepelně ošetřeno při teplotě  $95 \pm 1$  °C a výdrži 5 min. Po ochlazení na teplotu  $43 \pm 1$  °C bylo mléko inokulováno 3g/l směsné kultury ČMK (Laktoflora<sup>®</sup> jogurtová, Milcom, a.s., Praha, Česká republika). Takto připravený meziprodukt byl nalit do polypropylenových kelímků (průměr 52 mm, výška 50 mm) a uzavřen přivařitelným hliníkovým víčkem. Takto vyrobené vzorky byly umístěny do inkubátoru (Incu-line, VWR, West Chester, USA) a byly inkubovány při teplotě  $42 \pm 1$  °C po dobu 6 hodin. Poté byly vzorky vloženy do lednice a zchlazeny na teplotu  $6 \pm 2$  °C po dobu 24 hodin. Skladovací pokus vyrobených vzorků trval 30 dní. Vzorky byly vyrobeny ve dvou sériích samostatných fermentačních procesů. Podrobná charakteristika vyrobených vzorků jogurtů je uvedena v Tab. 4.

**Tab. 4** Vypočtená charakteristika vyrobených vzorků jogurtů (%)

Název	sušina	tuk <sup>i</sup>	tukuprostá sušina	přídavek $\iota$ -karagenanu
K10	10	1,58	8,42	-
J10	10	1,58	8,42	0,01
K12	12	1,89	10,11	-
J12	12	1,89	10,11	0,01
K14	14	2,21	11,79	-
J14	14	2,21	11,79	0,01
K16	16	2,53	13,47	-
J16	16	2,53	13,47	0,01

<sup>i</sup> tuk v sušině 15,79

### 3.4.2. Analýzy vzorků

Jednotlivé analýzy vzorků byly provedeny 1., 5., 10., 20. a 30. den skladování s výjimkou stanovení obsahu laktózy, která byla stanovena navíc ještě v 3. a 7. v den skladování. Vzorky byly podrobeny následujícím analýzám:

- aktivní kyselost pomocí vpichového pH metru (pH Spear for food testing, Eutech Instruments, Nijkerk, Nizozemí),
- stanovení obsahu volných mastných kyselin,
- stanovení obsahu volných aminokyselin,
- stanovení obsahu laktózy,
- analýza textury,
- senzorické hodnocení panelem hodnotitelů.

#### **Stanovení obsahu volných mastných kyselin**

Volné mastné kyseliny byly stanoveny kombinací metody dle DeJong & Badings [127] a metody dle Suter *et al.* [123].

Na analytických vahách bylo naváženo 10 g vzorku jogurtu do zkumavek s uzavíratelným hrdlem. Ke vzorku bylo přidáno 10 ml etanolu, 1 ml 2,5 M kyseliny sírové a 15 ml směsi diethyletheru/pentanu (v poměru 1:1, v/v). Vzorek byl extrahován po dobu 30 minut a následně byl centrifugován (Centrifuga Hettich EBA 21, Newport Pagnell, Velká Británie) při 2 500 g po dobu 20 minut. Supernatant byl následně převeden do Erlenmayerovy baňky o objemu 100 ml a byl přidán 1 g bezvodného Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Následovala extrakce na pevné fázi, která využívá SPE manifold (Obr. 3.3). Vzorek získaný předchozími úpravami byl kvantitativně převeden na kolonku (Obr. 3.2) promytou 10 ml pentanu. Poté byla kolonka propláchnuta 10 ml rozpouštědla chloroform/2 – propanol v poměru 2:1 v/v. Nakonec byla kolonka promyta 2,5 ml 2% kyseliny mravenčí v diethyletheru a filtrát z tohoto promytí byl jímán do čistých zkumavek. Získaný filtrát byl odpařen do sucha pomocí dusíku 5.0. Tímto výše popsaným postupem byl získán extrakt volných mastných kyselin, které byly dále převedeny na methylestery mastných kyselin pomocí metody podle Suter *et al.* [123], která je podrobně popsána v kapitole 3.2.4. Každý vzorek byl stanoven čtyřikrát.

#### **Stanovení obsahu volných aminokyselin**

Před samotnou analýzou obsahu volných aminokyselin byly vzorky jogurtů lyofilizovány použitím zařízení Chris Alpha 1-4 (Christ, Osterode, SRN) a skladovány při teplotě -20 °C. Lyofilizované vzorky (1 g) byly extrahovány při pokojové teplotě 22 ± 2 °C pomocí litno-citrátového pufru po dobu 1 hodiny. Následně byla směs centrifugována (6 000 g po 15 min při 4 °C),



*Obr. 3.2 Kolonka (Amino Box, SampliQ, Agilent Technologies, USA)*



*Obr. 3.3 SPE manifold (Chromservis, Praha, Česká republika)*

supernatant byl slit a pelet byl reextrahován opět pomocí litno-citrátového pufru. Po druhé extrakci byla směs znovu centrifugována (6 000 g po 15 min při 4 °C) a druhý supernatant byl slit s prvním supernatantem. Vzniklý supernatant byl filtrován přes 0,45µm filtr (Whatman, Maidstone, Velká Británie). Každý vzorek jogurtu byl extrahován dvakrát. Obsah volných aminokyselin byl analyzován pomocí iontově výměnné kapalinové chromatografie s postkolonovou ninhydrinovou derivatizací a fotometrickou detekcí (AAA 400, Ingos, Praha, Česká Republika) [129].

### **Stanovení obsahu laktózy**

Obsah laktózy byl stanoven u vybraných vzorků jogurtů (K12, K16). Vzorky byly před samotnými analýzami vždy vymrazeny při -80 °C po dobu minimálně 12 hodin a následně lyofilizovány dva dny při -40 °C v zařízení Chris Alpha 1-4 (Christ, Osterode, SRN). Lyofilizované vzorky byly homogenizovány a uchovány při teplotě -20 °C pro následné stanovení laktózy. Metodika stanovení byla zpracována podle [130, 131 a 132] a dále optimalizována.

Do čistých a suchých centrifugačních zkumavek bylo na analytických vahách naváženo 0,15 g vzorku. K navážce byl přidán 1 ml roztoku hydroxylaminu hydrochloridu v pyridinu (25 mg/ml). Každý vzorek byl třikrát střídavě 10 min homogenizován (Ultrazvuková lázeň PS 04000 A Ultrasonic compact cleaner – Powersonic, Straubenhardt, SRN) a 30 sekund promíchán na vortexu (Bio Vortex V1, Biosan, Bio Tech, Praha, Česká republika). Ke každému vzorku ve zkumavce byl přidán 1 ml hexamethyldisilazanu a 4 kapky trifluoroctové kyseliny následně byl obsah každé zkumavky promíchán pomocí vortexu. Takto připravené vzorky byly ve zkumavkách 20 min centrifugovány při 6 000 g (Centrifuga Hettich EBA 21, Newport Pagnell, Velká Británie). Z každé zkumavky byl poté automatickou pipetou odebrán 1 ml supernatantu do skleněné vialky, který byl odpařen do sucha pomocí dusíku 5.0 (Linde Gas, a.s., Přerov, Česká republika). K vysušenému vzorku bylo přidáno 3 ml etylesteru kyseliny octové a 1 g bezvodého síranu sodného. Takto upravený vzorek byl před chromatografickým stanovením centrifugován 30 min při 15 000 g (Centrifuga Hettich MIKRO 200R, Newport Pagnell, Velká Británie). Každý vzorek byl analyzován čtyřikrát. Výše uvedeným způsobem připravené deriváty laktózy byly stanoveny pomocí GC-MS (QP2010, Shimadzu, Kyoto, Japonsko). Nástřikový objem činil 1  $\mu$ l při teplotě 25 °C. Teplota detekce byla 200 °C. Použitá kolona SLB-5ms (L  $\times$  I.D. 30 m  $\times$  0,25 mm, tloušťka vrstvy stacionární fáze 0,25  $\mu$ m) má adsorpční povrch na bázi polymeru s polaritou odpovídající poly (5 % fenyl/95 % methylsiloxanu). Nosným plynem bylo helium (BIP<sup>®</sup> gas, AIR PRODUCTS spol. s r.o., Děčín, Česká republika). Získané plochy byly integrovány pomocí softwaru GC SOLUTION. Kvantitativní stanovení  $\alpha$ - i  $\beta$ -anomeru laktózy bylo provedeno pomocí kalibrační křivky standardu laktózy.

### **Analýza textury**

Texturní vlastnosti byly hodnoceny pomocí texturního analyzátoru TA-XT plus (Stable Micro Systeme, Ltd., Texture technologies, Scarsdale, USA). Vzorky byly ihned po vytažení z lednice změřeny. Analýza textury byla provedena penetrací (hloubka 10 mm, rychlost penetrace sondy 2 mm·s<sup>-1</sup>, zahájení měření při síle odpovídající 5 g). Test byl proveden s použitím sondy o průměru 20 mm (P20). Sledována byla tvrdost, jako maximum prvního píku při maximální deformaci. Každý vzorek byl měřen pětkrát.

### **Senzorické hodnocení vybranými posuzovateli**

U vzorků jogurtů bylo provedeno senzorické hodnocení vybraným panelem posuzovatelů ve 20. a 30. den skladování.

Senzorická analýza byla provedena pomocí stupnicových metod, rozdílovou zkouškou a pořadovým a preferenčním testem. V případě hodnocení s použitím stupnic byly využity sedmibodové (v případě chuti a vůně



pětibodová) ordinální stupnice. Takto byly posuzovány čtyři sensorické znaky: konzistence, chuť a vůně, přítomnost cizích příchutí a pachutí, uvolňování syrovátky. Sensorického hodnocení se účastnili studenti a zaměstnanci Ústavu analýzy a chemie potravin a Ústavu technologie a mikrobiologie potravin (vybraní posuzovatelé podle ČSN ISO 8586-1 [133]). Hodnocení probíhalo v sensorické laboratoři vybavené kóji, vzorky označené kódy byly podávány při teplotě  $22 \pm 2$  °C [134].

Sensorické hodnocení bylo rozděleno na 2 skupiny posuzovatelů. První skupinou byly hodnoceny vzorky K10, J10, K12, J12. Druhou skupinou hodnotitelů byly hodnoceny výrobky K14, J14, K16, J16. Vzory dotazníků pro sensorické hodnocení jsou uvedeny v Přílohách A a B.

### **3.5. STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ**

Výsledky analýz byly podrobeny statistické analýze s použitím analýzy rozptylu (ANOVA) [135]. Pro stanovení statisticky významných rozdílů byly použity různé parametrické testy srovnávající střední hodnoty dvou nezávislých výběrů (Tukeyho test, Duncanův test, či párový t-test) v programu Unistat 5.5.05 (Unistat Ltd., Londýn, Velká Británie).

## 4 VÝSLEDKY PRÁCE A DISKUZE

### 4.1. VÝSLEDKY A DISKUZE EXPERIMENTU 1

V rámci prvního experimentu byl sledován účinek náhrady kukuřice za pšenici, či tritikale v krmné dávce dojníc na obsah aminokyselin a mastných kyselin v kravském mléce.

#### Změny v celkovém množství dusíkatých látek (NL)

Možná záměna kukuřice pšenicí či tritikalem způsobila změny v celkovém množství dusíkatých látek mléka. NL krmiva (kukuřici, pšenici, tritikale) dosahovalo hodnot 88,8; 145,8 a 110,5 g/kg resp. Mléko dojníc vykazovalo NL hodnoty 30,8; 30,5 a 32,3 g/kg resp. Vysoký obsah NL v pšenici neměl vliv na NL mléka, opak byl pozorován u tritikale, kde vysoký obsah NL krmiva mohl ovlivnit taktéž vysoký obsah NL daného mléka. Herrera-Saldava *et al* [136] a Owens *et al.* [137] si vysvětlují tento rozpor různou trávící schopností jednotlivých zrnin. Malá zrna jako kukuřice, čirok nebo proso jsou v batoru přežvýkavce rychleji fermentovány. Pšenice je považována jako jeden z nejrychleji degradabilních druhů mezi malými zrninami [137].

#### Dynamika změn obsahu aminokyselin

V Tab. 5 je uveden obsah aminokyselin v jádrné složce krmné dávky (kukuřici, pšenici, tritikale). Tyto výsledky ukazují, že v porovnání s kukuřicí pšenice obsahuje statisticky vyšší množství většiny stanovených aminokyselin ( $P \leq 0,05$ ) s výjimkou leucinu, metioninu a alaninu. Srovnáním množství aminokyselin u kukuřice a tritikale je patrný nízký obsah leucinu a alaninu u tritikale ( $P \leq 0,05$ ). Naopak u tritikale byl v porovnání s pšenicí zjištěn vyšší obsah metioninu a cysteinu ( $P \leq 0,05$ ). Obsah lysinu se u testovaných obilnin statisticky významně nelišil.

V Tab. 6 je znázorněn vliv náhrady kukuřice na složení aminokyselin mléka. Množství všech stanovených aminokyselin v mléce skupiny krmené pšenicí dosahuje stejných případně nižších hodnot v porovnání se skupinou krmnou kukuřicí. Všechny stanovené aminokyseliny, které jsou obsaženy v mléce dojníc krmných tritikalem dosahují při srovnání se skupinou krmnou kukuřicí stejného či vyššího obsahu ( $P \leq 0,05$ ) s výjimkou prolinu, jehož obsah byl statisticky nižší ( $P \leq 0,05$ ). Při porovnání mléka skupiny krmené pšenicí a skupiny krmené tritikalem bylo zjištěno, že mléko skupiny krmené tritikale obsahuje vyšší množství většiny stanovených aminokyselin ( $P \leq 0,05$ ) s výjimkou histidinu, argininu a cysteinu. U těchto tří aminokyselin nebyl zaznamenán žádný statisticky významný rozdíl v rámci testovaných skupin ( $P \geq 0,05$ ).

Aminokyseliny stanovené ve vzorcích obilnin i mléka jsou prezentovány v Tab. 5 a Tab. 6. Hodnoty v těchto tabulkách byly použity pro výpočet obsahu aminokyselin v NL. Přepočtená data (g/16 g N) jsou shrnuta na Obr. 4.1 a Obr. 4.2 jako obsah neesenciálních a esenciálních aminokyselin v obilninách a mléce.

**Tab. 5** Aminokyselinové složení a NL u testovaných obilnin (kukuřice, pšenice, tritikale) (g/kg); průměr ± SE

	<b>1</b> <b>kukuřice</b>	<b>2</b> <b>pšenice</b>	<b>3</b> <b>tritikale</b>
Thr	2,48 ± 0,058 <sup>a</sup>	3,33 ± 0,032 <sup>b</sup>	2,70 ± 0,024 <sup>c</sup>
Val	4,04 ± 0,052 <sup>a</sup>	5,67 ± 0,094 <sup>b</sup>	4,44 ± 0,096 <sup>c</sup>
Ile	2,76 ± 0,042 <sup>a</sup>	4,44 ± 0,063 <sup>b</sup>	3,38 ± 0,037 <sup>c</sup>
Leu	9,19 ± 0,141 <sup>a</sup>	8,56 ± 0,067 <sup>b</sup>	6,25 ± 0,065 <sup>c</sup>
Phe	4,34 ± 0,073 <sup>a</sup>	6,14 ± 0,070 <sup>b</sup>	4,51 ± 0,059 <sup>a</sup>
His	2,96 ± 0,035 <sup>a</sup>	3,60 ± 0,029 <sup>b</sup>	2,91 ± 0,025 <sup>a</sup>
Lys	2,51 ± 0,038 <sup>a</sup>	3,42 ± 0,040 <sup>b</sup>	3,18 ± 0,047 <sup>b</sup>
Arg	4,25 ± 0,083 <sup>a</sup>	6,67 ± 0,075 <sup>b</sup>	5,34 ± 0,086 <sup>c</sup>
Met	3,31 ± 0,099 <sup>a</sup>	2,10 ± 0,019 <sup>b</sup>	3,02 ± 0,079 <sup>a</sup>
<b>ΣEAA</b>	<b>35,8 ± 0,694<sup>a</sup></b>	<b>43,9 ± 0,677<sup>b</sup></b>	<b>35,7 ± 0,411<sup>a</sup></b>
Asp	5,19 ± 0,079 <sup>a</sup>	6,01 ± 0,055 <sup>b</sup>	5,47 ± 0,066 <sup>a</sup>
Ser	3,31 ± 0,062 <sup>a</sup>	5,39 ± 0,058 <sup>b</sup>	3,96 ± 0,033 <sup>c</sup>
Glu	13,2 ± 0,225 <sup>a</sup>	35,2 ± 0,331 <sup>b</sup>	23,4 ± 0,172 <sup>c</sup>
Pro	6,91 ± 0,095 <sup>a</sup>	12,93 ± 0,140 <sup>b</sup>	8,96 ± 0,094 <sup>c</sup>
Gly	3,01 ± 0,040 <sup>a</sup>	4,94 ± 0,047 <sup>b</sup>	3,92 ± 0,043 <sup>c</sup>
Ala	5,62 ± 0,083 <sup>a</sup>	4,28 ± 0,039 <sup>b</sup>	3,63 ± 0,044 <sup>c</sup>
Tyr	2,94 ± 0,062 <sup>a</sup>	3,71 ± 0,066 <sup>b</sup>	2,84 ± 0,076 <sup>a</sup>
Cys	2,24 ± 0,007 <sup>a</sup>	3,18 ± 0,005 <sup>b</sup>	3,96 ± 0,055 <sup>c</sup>
<b>ΣNEAA</b>	<b>42,5 ± 1,27<sup>a</sup></b>	<b>75,7 ± 3,84<sup>b</sup></b>	<b>56,1 ± 2,43<sup>c</sup></b>
<b>ΣAA</b>	<b>78,3 ± 0,696<sup>a</sup></b>	<b>119,6 ± 1,87<sup>b</sup></b>	<b>91,8 ± 1,19<sup>c</sup></b>
NL	88,8 ± 2,21 <sup>a</sup>	145,8 ± 1,16 <sup>b</sup>	110,5 ± 2,21 <sup>c</sup>

ΣEAA ... suma esenciálních a semiesenciálních aminokyselin

ΣNEAA ... suma neesenciálních aminokyselin

ΣAA ... suma všech detekovaných aminokyselin

SE ... standardních chyba

<sup>a-c</sup> Hodnoty na řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší (P ≤ 0,05)

**Tab. 6** Aminokyselinové složení a NL mléka jednotlivých skupin dojnic (g/kg); průměr ± SE

	<b>1</b> <b>kukuřice</b>	<b>2</b> <b>pšenice</b>	<b>3</b> <b>tritikale</b>
Thr	1,28 ± 0,014 <sup>a</sup>	1,19 ± 0,014 <sup>b</sup>	1,27 ± 0,016 <sup>a</sup>
Val	1,74 ± 0,017 <sup>a</sup>	1,63 ± 0,015 <sup>b</sup>	1,78 ± 0,018 <sup>a</sup>
Ile	1,39 ± 0,012 <sup>a</sup>	1,31 ± 0,010 <sup>b</sup>	1,45 ± 0,014 <sup>c</sup>
Leu	2,50 ± 0,022 <sup>a</sup>	2,37 ± 0,018 <sup>b</sup>	2,63 ± 0,025 <sup>c</sup>
Phe	1,27 ± 0,010 <sup>a</sup>	1,20 ± 0,009 <sup>b</sup>	1,34 ± 0,014 <sup>c</sup>
His	0,71 ± 0,007 <sup>a</sup>	0,70 ± 0,007 <sup>a</sup>	0,73 ± 0,008 <sup>a</sup>
Lys	2,12 ± 0,018 <sup>a</sup>	2,02 ± 0,016 <sup>b</sup>	2,23 ± 0,021 <sup>c</sup>
Arg	1,04 ± 0,010 <sup>a</sup>	1,03 ± 0,018 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,015 <sup>a</sup>
Met	0,88 ± 0,011 <sup>a</sup>	0,82 ± 0,015 <sup>b</sup>	0,89 ± 0,009 <sup>a</sup>
<b>ΣEAA</b>	<b>12,9 ± 0,195<sup>a</sup></b>	<b>12,3 ± 0,183<sup>b</sup></b>	<b>13,4 ± 0,208<sup>c</sup></b>
Asp	2,11 ± 0,021 <sup>a</sup>	1,96 ± 0,019 <sup>b</sup>	2,14 ± 0,022 <sup>a</sup>
Ser	1,37 ± 0,015 <sup>a</sup>	1,31 ± 0,013 <sup>b</sup>	1,44 ± 0,018 <sup>c</sup>
Glu	6,18 ± 0,067 <sup>a</sup>	5,87 ± 0,071 <sup>b</sup>	6,28 ± 0,081 <sup>c</sup>
Pro	3,09 ± 0,037 <sup>a</sup>	2,63 ± 0,029 <sup>b</sup>	2,82 ± 0,034 <sup>c</sup>
Gly	0,51 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,48 ± 0,004 <sup>b</sup>	0,53 ± 0,006 <sup>a</sup>
Ala	0,81 ± 0,008 <sup>a</sup>	0,82 ± 0,008 <sup>a</sup>	0,87 ± 0,006 <sup>b</sup>
Tyr	1,22 ± 0,010 <sup>a, b</sup>	1,17 ± 0,010 <sup>a</sup>	1,27 ± 0,013 <sup>b</sup>
Cys	0,31 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,30 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,33 ± 0,004 <sup>a</sup>
<b>ΣNEAA</b>	<b>15,6 ± 0,683<sup>a</sup></b>	<b>14,5 ± 0,639<sup>b</sup></b>	<b>15,7 ± 0,682<sup>a</sup></b>
<b>ΣAA</b>	<b>28,5 ± 0,332<sup>a</sup></b>	<b>26,81 ± 0,310<sup>b</sup></b>	<b>29,1 ± 0,333<sup>a</sup></b>
NL	30,8 ± 0,67 <sup>a</sup>	30,5 ± 0,55 <sup>a</sup>	32,3 ± 0,72 <sup>b</sup>

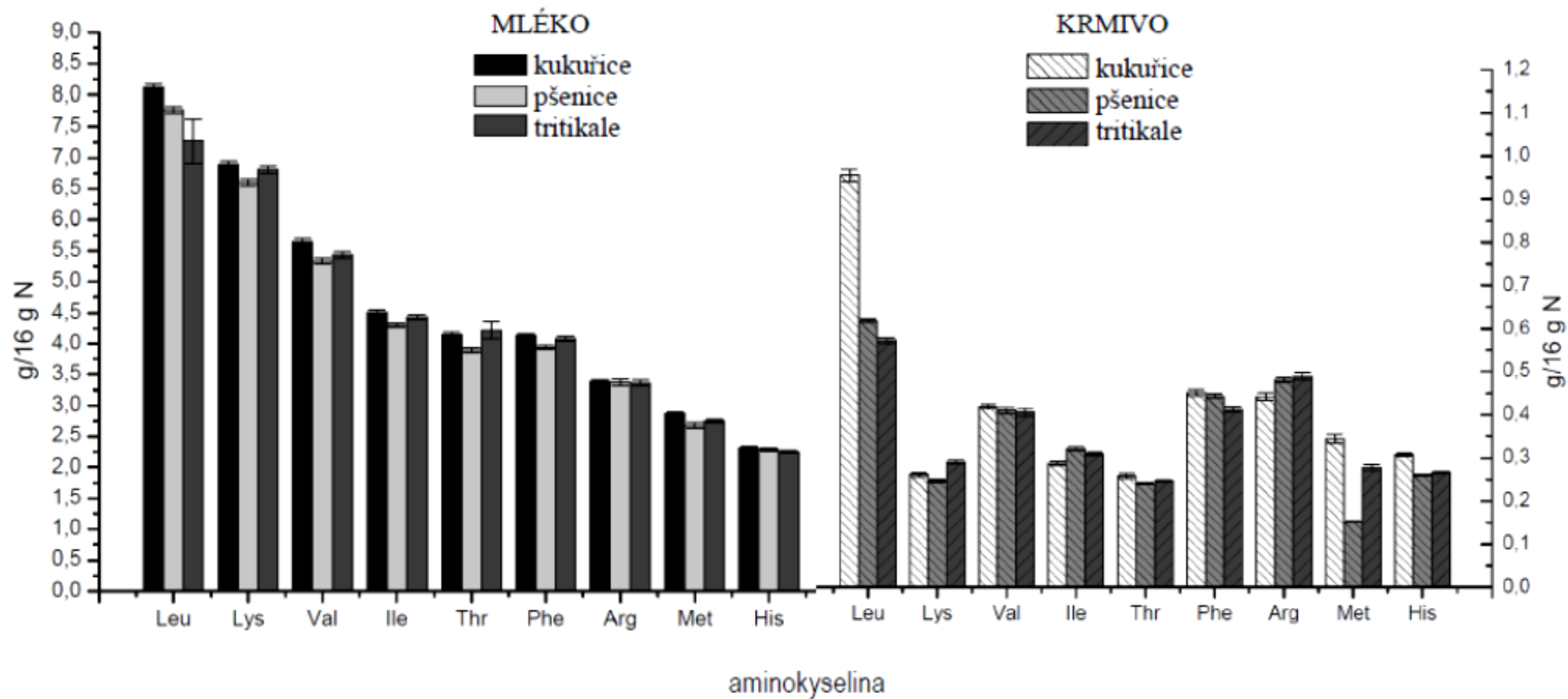
ΣEAA ... suma esenciálních a semiesenciálních aminokyselin

ΣNEAA ... suma neesenciálních aminokyselin

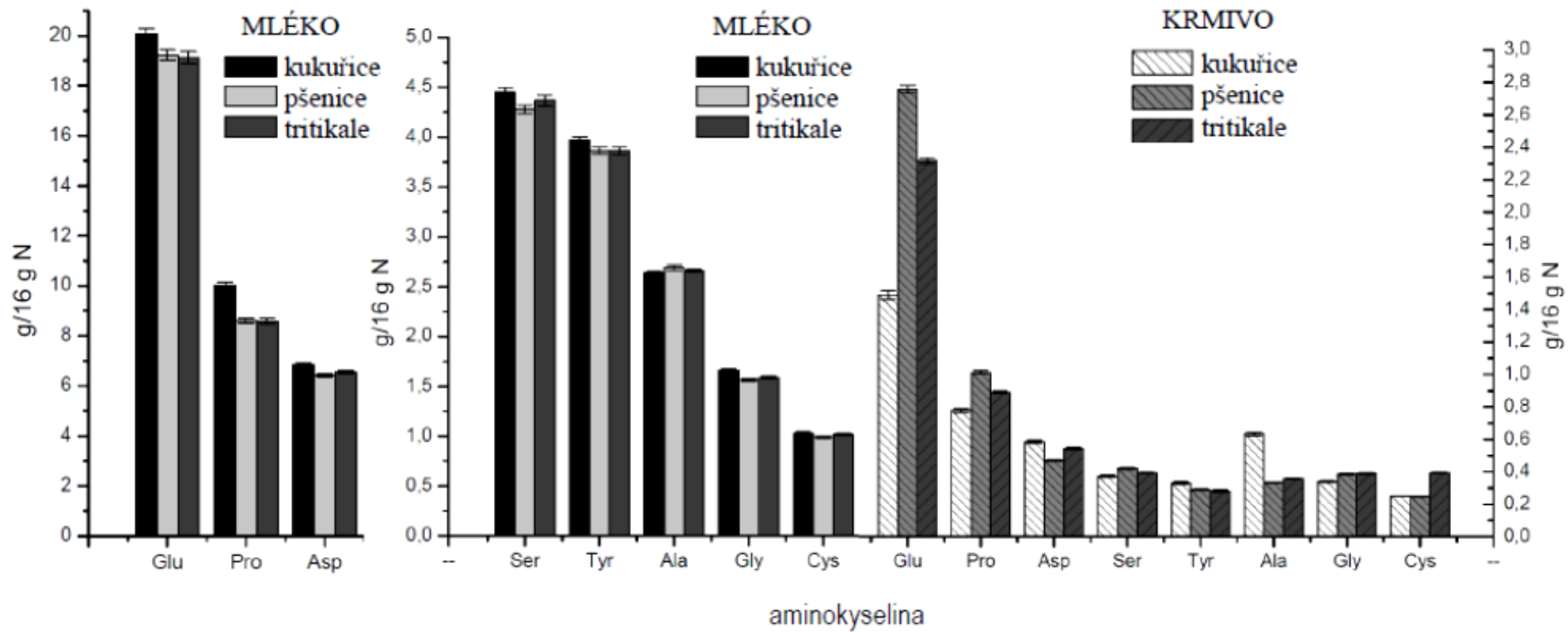
ΣAA ... suma všech detekovaných aminokyselin

SE ... standardní chyba

<sup>a - c</sup> Hodnoty na řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší (P ≤ 0,05)



*Obr. 4.1 Obsah esenciálních a semiesenciálních aminokyselin v krmivu a mléku*



*Obr. 4.2 Obsah neesenciálních aminokyselin v krmivu a mléku*

### Změny obsahu tuku

Hodnoty celkového obsahu tuku ve vzorcích krmiv i v mléce jednotlivých skupin dojnic jsou shrnuty v tabulce Tab. 7. Z tabulky vyplývá, že obsah tuku ve vzorcích krmiva se pohyboval v hodnotách od  $1,48 \pm 0,003$  g/100g do  $1,51 \pm 0,037$  g/100g, z čehož plyne, že neexistují statisticky významné rozdíly mezi obsahem tuku v použitých druzích krmiva. Je dobře známo [138], že kukuřice obsahuje více tuku než ostatní dvě testované obilniny, i z tohoto důvodu bylo její množství v krmné dávce pokusu menší (1,5 kg) než v případě pšenice a tritikale (2,0 kg).

V případě obsahu tuku v mléce byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi tučností mléka skupin dojnic krměných kukuřicí ( $3,27 \pm 0,055$  g/100g) a pšenicí ( $3,47 \pm 0,061$  g/100g).

**Tab. 7** Obsah tuku v krmivu a mléku (g/100g); průměr  $\pm$  SE [29]

	<b>1</b> <b>kukuřice</b>	<b>2</b> <b>pšenice</b>	<b>3</b> <b>tritikale</b>
krmivo	$1,51 \pm 0,037^a$	$1,48 \pm 0,003^a$	$1,48 \pm 0,011^a$
mléko	$3,27 \pm 0,055^a$	$3,47 \pm 0,061^b$	$3,44 \pm 0,042^{a,b}$

<sup>a-b</sup> Hodnoty na řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

SE – standardní chyba

### Dynamika změn obsahu mastných kyselin

Ve vzorcích krmiva bylo stanoveno pět masných kyselin (C16:0, C18:0, C18:1, C18:2 a C18:3). Množství těchto mastných kyselin v jednotlivých vzorcích krmiv je uveden v Tab. 8. Výsledky ukazují, že obsah C16:0 a C18:0 se u jednotlivých obilnin neliší, tedy obsah nasycených mastných kyselin je shodný ve všech testovaných obilninách. Naopak v případě obsahu nenasycených mastných kyselin v jednotlivých obilninách byly zjištěny statisticky významné rozdíly. Nejvyšší obsah C18:1 byl stanoven v kukuřici ( $23,5 \pm 2,22$  %) a naproti tomu nejnižší obsah této mastné kyseliny byl stanoven v tritikale ( $16,4 \pm 0,51$  %) ( $P \leq 0,05$ ). Pšenice obsahovala nejvyšší množství C18:2 ( $57,5 \pm 0,95$  %) v porovnání s kukuřicí ( $50,4 \pm 1,09$  %), která zároveň obsahovala nízké množství C18:3 ( $1,94 \pm 0,28$  %) oproti pšenici ( $3,21 \pm 0,55$  %) nebo tritikale ( $3,58 \pm 0,24$  %).

**Tab. 8** Obsah mastných kyselin krmiva u jednotlivých skupin dojníc vyjádřeno v % k celkovému množství mastných kyselin); průměr ± SE

kyselina	1 kukuřice	2 pšenice	3 tritikale
palmitová C16:0	21,2 ± 2,41 <sup>a</sup>	18,4 ± 1,44 <sup>a</sup>	25,0 ± 1,75 <sup>a</sup>
stearová C18:0	2,87 ± 0,29 <sup>a</sup>	2,07 ± 0,52 <sup>a</sup>	2,34 ± 0,45 <sup>a</sup>
olejová C18:1	23,5 ± 2,22 <sup>a</sup>	18,8 ± 2,76 <sup>a,b</sup>	16,4 ± 0,51 <sup>b</sup>
linolová (ω6) C18:2	50,4 ± 1,09 <sup>a</sup>	57,5 ± 0,95 <sup>b</sup>	52,7 ± 2,37 <sup>a,b</sup>
linolenová (ω3) C18:3	1,94 ± 0,28 <sup>a</sup>	3,21 ± 0,55 <sup>b</sup>	3,58 ± 0,24 <sup>b</sup>

<sup>a-b</sup> Hodnoty na řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší (P ≤ 0,05)  
SE – standardní chyba

Obsah mastných kyselin v analyzovaných vzorcích obilnin je v souladu s prací Price & Parsonsona [139], avšak v uvedené studii byl navíc stanoven nízký obsah kyseliny myristové. V použitých obilninách bylo stanoveno vyšší množství kyseliny palmitové ve srovnání s předchozími studii Price & Parsonsona [139] a Ryana *et al.* [140]. V pšenici bylo stanoveno stejné množství kyseliny palmitové, jako uvádí Liu [141]. Obilniny použité v tomto experimentu vykazovaly v porovnání s prací Price & Parsonsona [139] (kukuřice – 1,93 %, pšenice – 1,44 %, tritikale – 0,62 %) vyšší množství kyseliny stearové, zároveň byl publikován nižší obsah této kyseliny ve srovnání s našimi výsledky v kukuřici Ryan *et al.* [140] (1,96 %) či pšenici Liu [141] (1,02 %). V porovnání s výsledky studie Price & Parsonsona [139] obilniny použité v této studii obsahovaly shodné množství kyseliny olejové (kukuřice – 23,99 %, pšenice – 20,38 %, tritikale – 13,66 %). Obsah kyseliny linolové a linolenové v kukuřici odpovídá výsledkům publikovaným v práci Ryana *et al.* [140]. V případě obsahu těchto mastných kyselin v pšenici bylo stanoveno nižší množství, než uvádí Liu [141] a stejných výsledků bylo dosaženo v případě porovnání obsahu těchto dvou polynenasycených mastných kyselin v tritikale ve srovnání s Price & Parsonsem [139]. Rozdíly v obsahu mastných kyselin u stejných druhů obilovin může být převážně způsoben odlišným genotypem, půdními a klimatickými podmínkami, ve kterých byly rostliny pěstovány.

Ve vzorcích mléka získaného od jednotlivých skupin dojníc bylo stanoveno dvanáct mastných kyselin (Tab. 9). Většina ze stanovených mastných kyselin jsou nasycené mastné kyseliny. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn u kyseliny pentadekanové jejíž obsah v mléce byl vyšší od skupiny dojníc krmené kukuřicí (1,81 ± 0,040 %) ve srovnání se skupinou krmenou



tritikalem ( $1,67 \pm 0,024$  %). Z nenasycených mastných kyselin, byly v mléce stanoveny kyselina palmitoolejová, olejová a linolová. Statisticky významné rozdíly byly zjištěny pouze u kyseliny palmitoolejové, jejíž obsah v mléce byl vyšší u skupiny dojnic krmené tritikalem ( $2,18 \pm 0,026$  %) než u skupiny dojnic krmené pšenicí ( $2,08 \pm 0,036$  %).

**Tab. 9** Obsah mastných kyselin mléka jednotlivých skupin dojnic (vyjádřeno v % k celkovému množství mastných kyselin); průměr  $\pm$  SE

Kyselina	1 kukuřice	2 pšenice	3 tritikale
máselná C4:0	1,90 $\pm$ 0,124 <sup>a</sup>	1,90 $\pm$ 0,077 <sup>a</sup>	2,10 $\pm$ 0,077 <sup>a</sup>
kapronová C6:0	1,76 $\pm$ 0,114 <sup>a</sup>	1,86 $\pm$ 0,084 <sup>a</sup>	2,00 $\pm$ 0,077 <sup>a</sup>
kaprylová C8:0	1,53 $\pm$ 0,086 <sup>a</sup>	1,66 $\pm$ 0,067 <sup>a</sup>	1,70 $\pm$ 0,062 <sup>a</sup>
kaprinová C10:0	4,47 $\pm$ 0,196 <sup>a</sup>	4,90 $\pm$ 0,166 <sup>a</sup>	4,77 $\pm$ 0,144 <sup>a</sup>
laurová C12:0	6,46 $\pm$ 0,206 <sup>a</sup>	6,98 $\pm$ 0,168 <sup>a</sup>	6,60 $\pm$ 0,129 <sup>a</sup>
myristová C14:0	0,53 $\pm$ 0,013 <sup>a</sup>	0,53 $\pm$ 0,012 <sup>a</sup>	0,52 $\pm$ 0,010 <sup>a</sup>
pentadekanová C15:0	1,81 $\pm$ 0,040 <sup>a</sup>	1,78 $\pm$ 0,022 <sup>a</sup>	1,67 $\pm$ 0,024 <sup>b</sup>
palmitová C16:0	44,5 $\pm$ 0,384 <sup>a</sup>	44,8 $\pm$ 0,255 <sup>a</sup>	44,8 $\pm$ 0,416 <sup>a</sup>
palmitoolejová C16:1	2,11 $\pm$ 0,028 <sup>a,b</sup>	2,08 $\pm$ 0,036 <sup>a</sup>	2,18 $\pm$ 0,026 <sup>b</sup>
stearová C18:0	9,24 $\pm$ 0,092 <sup>a</sup>	9,26 $\pm$ 0,093 <sup>a</sup>	8,99 $\pm$ 0,151 <sup>a</sup>
olejová C18:1	20,6 $\pm$ 0,262 <sup>a</sup>	20,8 $\pm$ 0,343 <sup>a</sup>	21,0 $\pm$ 0,311 <sup>a</sup>
linolová ( $\omega$ 6) C18:2	2,50 $\pm$ 0,087 <sup>a</sup>	2,52 $\pm$ 0,045 <sup>a</sup>	2,55 $\pm$ 0,049 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> Hodnoty na řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

SE – standardní chyba

Mastné kyseliny mléčného tuku pochází ze dvou zdrojů. Kyseliny C4:0 až C14:0 a přibližně polovina kyseliny C16:0 jsou syntetizovány *de novo* v mléčné žláze z mastných kyselin s krátkým řetězcem, které pocházejí z mikrobiální digesce sacharidů v bachoru. Zbývající kyselina palmitová a prakticky všechny kyseliny C18:0 jsou čerpány z cirkulujících krevních lipidů. Krevní lipidy mohou být odvozeny z diety zvířete nebo z mastných kyselin mobilizovaných z triacylglycerolových zásob v tukové tkáni [36, 142, 143]. Vzhledem k poznatkům z výše citovaných prací není u našeho experimentu předpoklad výrazného vlivu na mastné kyseliny C4:0 až C14:0, navíc i další studie od autora Kennelly [37] potvrzuje, že mastné kyseliny s krátkým uhlíkovým řetězcem jsou syntetizovány přímo v mléčné žláze z acetátu a  $\beta$ -hydroxybutyrátu.

Z výsledků práce vyplývá (Tab. 9), že ze všech stanovených mastných kyselin v mléce jednotlivých skupin dojnic byl zaznamenán statisticky významný rozdíl u kyseliny pentadekanové a kyseliny palmitoolejové. V mléce dojnic krmených tritikalem bylo obsaženo významně nižší množství kyseliny pentadekanové v porovnání s ostatními dvěma skupinami ( $P \leq 0,05$ ). Naproti tomu, množství kyseliny palmitoolejové bylo významně vyšší v mléce dojnic krmených tritikalem oproti mléku dojnic krmených pšenicí ( $P \leq 0,05$ ). V porovnání s prací Palmquista *et al.* [42] nebo Wijesundery *et al.* [143], bylo v mléce všech skupin dojnic stanoveno vyšší množství kyseliny palmitové, toto může být způsobeno vyšším obsahem této mastné kyseliny ve zkrmovaných obilninách. Avšak obsah kyseliny linolové a linolenové byl nižší než bychom mohli očekávat např. Podle studie Jenkins & McGuire [144], kteří tvrdí, že zkrmováním obilnin dochází ke zvýšení podílu C18 nenasycených mastných kyselin.

## 4.2. VÝSLEDKY A DISKUZE EXPERIMENTU 2

Cílem druhé části disertační práce bylo zhodnocení účinku přídatku zelené natě bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) do krmné dávky koz na nutriční ukazatele mléka s důrazem na sledování sensoricky aktivních látek.

### Základní ukazatelé nutriční hodnoty

Nat' bazalky použité pro krmný pokus obsahovala  $15,0 \pm 0,41$  g/100 g sušiny.

Množství nádoje (Tab. 11) bylo u kontrolní skupiny stabilní po celou dobu experimentu (cca 1,60 kg/den), zatímco u experimentální skupiny docházelo k postupnému zvyšování nádoje, po ukončení přídatku bazalky do krmné dávky navíc došlo k významnému zvýšení nádoje ( $P \leq 0,05$ ).

Celková sušina mléka (Tab. 11) kontrolní skupiny vykazovala v průběhu celého experimentu průměrnou hodnotu  $11,6 \pm 0,11$  g/100 g. U experimentální skupiny byla sušina mléka na počátku pokusu (v průběhu prvních tří dnů)  $11,9 \pm 0,04$  g/100 g, v době krmení natí bazalky (4. až 10. den pokusu) dosahovala hodnot  $11,8 \pm 0,05$  g/100 g a od 11. dne až do konce experimentu vzrostla sušina mléka na  $12,6 \pm 0,21$  g/100 g.

Obsah tuku v mléce (Tab. 12) kontrolní skupiny vykazoval v průběhu celého experimentu průměrnou hodnotu  $2,94 \pm 0,06$  g/100 g. Podobný obsah tuku ( $3,15 \pm 0,06$  g/100 g) byl stanoven v mléce experimentální skupiny v průběhu prvních tří dnů experimentu. V době zkrmování natě bazalky byl v obsahu tuku zaznamenán u mléka experimentální skupiny nepatrný nárůst  $3,31 \pm 0,05$  g/100 g a na konci experimentu vzrostl obsah tuku v mléce experimentální skupiny až na  $3,79 \pm 0,06$  g/100 g.

Jak je patrné z Tab. 12 mléko experimentální skupiny obsahovalo stejné množství bílkovin jako mléko kontrolní skupiny v průběhu celého experimentu ( $2,82 \pm 0,01$  g/100g). Příklad natě bazalky významně neovlivnil sušinu ani bílkoviny mléka ( $P \leq 0,05$ ).

### Obsah vápníku, fosforu a draslíku

Obsah včetně statisticky významných rozdílů stanovených mikroelementů (vápníku, fosforu a draslíku) v mléce kontrolní i experimentální skupiny je uveden v Tab. 13. V mléce kontrolní skupiny došlo v průběhu experimentu k nárůstu vápníku a fosforu, zatímco obsah draslíku klesá. V mléce experimentální skupiny byl pozorován nejvyšší obsah vápníku a draslíku v období přídatku natě bazalky do krmné dávky naopak obsah fosforu klesal.

### Změny obsahu sensoricky aktivních látek

V zelené nati bazalky byly stanoveny 1-propen-2-ol-acetát, eukalyptol (1, 8-cineole), linalool, estragol a  $\alpha$ -bergamoten. Obsah, struktura a hmotnostní

spektrum těchto látek je uveden v Tab. 10. Sensoricky aktivní látky stanovené v nati bazalky nebyly ve vzorcích mléka obsaženy. Tato skutečnost je dle Broudiscou *et al.* [145] způsobena bachorovým metabolismem přežvýkavců. Linalool, nejvíce obsažená sensoricky aktivní složka v nati bazalky, je podle Maleckého *et al.* [146] kompletně mikrobiálně degradována v bachoru. Podle stejné studie kyslíkaté monoterpeny jako eukalyptol jsou mnohem méně degradovány, avšak podle jiné studie Malecky & Broudiscou [147] redukce redox potenciálu okolí o 50 mV vede k degradaci eukalyptolu a jiných monocyklických terpenů stejně jako terpenů lineárních.

Dynamické změny obsahu sensoricky aktivních látek v mléce koz v průběhu experimentu jsou znázorněny v Tab. 14. Z této tabulky je patrné, že mléko kontrolní skupiny obsahovalo v průběhu celého experimentu  $18,2 \pm 0,02$   $\mu$ l 1-oktanolu/100 ml mléka,  $4,48 \pm 0,02$   $\mu$ l 1-undekanolu/100 ml mléka a  $5,37 \pm 0,03$   $\mu$ l 2-nonanonu/100 ml mléka (tyto hodnoty jsou graficky vyznačeny na Obr. 4.3 až Obr. 4.5, kde jsou znázorněny jako horizontální čára představující 100 % obsahu).

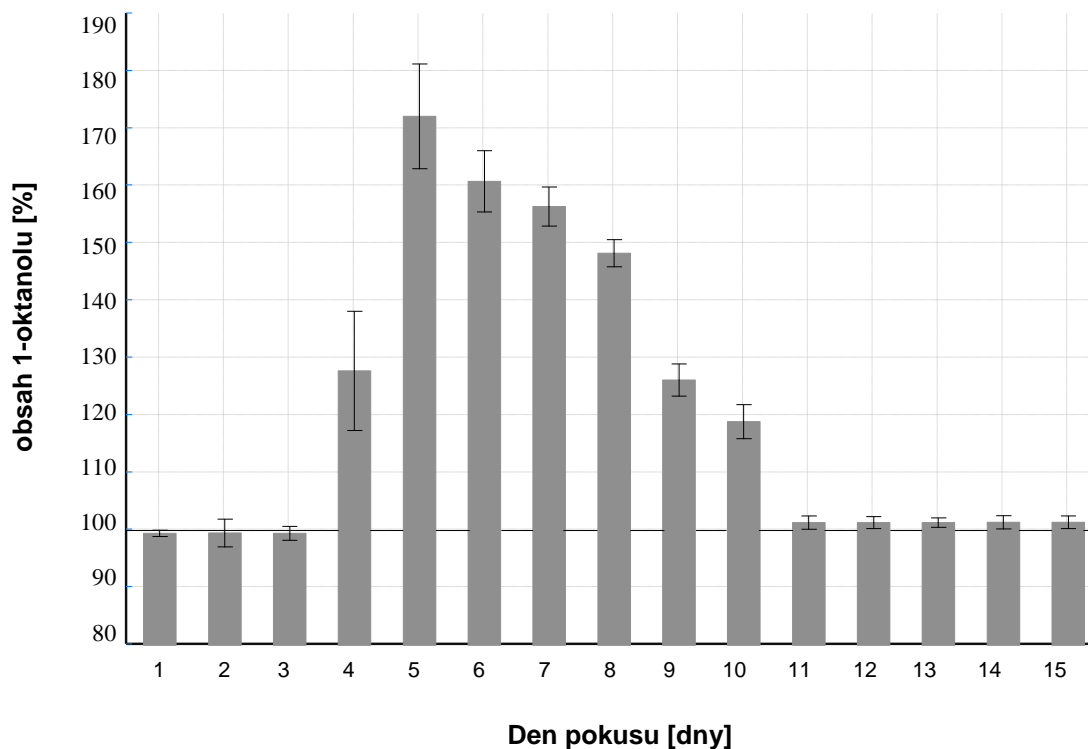
Změny obsahu 1-oktanolu v mléce experimentální skupiny a jejich statisticky významné rozdíly jsou prezentovány v Tab. 14. Dále byly tyto hodnoty vyjádřeny jako procentuální nárůst vůči obsahu v mléce kontrolní skupiny na Obr. 4.3. Toto srovnání ukazuje, že v první den zkrmování natě bazalky došlo k 30-ti % nárůstu 1-oktanolu v mléce experimentální skupiny a nejvyšších hodnot 1-oktanolu (nárůst téměř o 70 %) bylo dosaženo ve druhém dni zkrmování natě bazalky. Od šestého experimentálního dne obsah 1-oktanolu postupně klesal až do jedenáctého dne, kdy jeho obsah dosahoval množství stanoveném v mléce kontrolní skupiny.

Změny obsahu 1-undekanolu v mléce experimentální skupiny a jejich statisticky významné rozdíly jsou prezentovány v Tab. 14. Procentuální nárůst 1-undekanolu v mléce experimentální skupiny oproti jeho obsahu v mléce kontrolní skupiny je znázorněn na Obr. 4.4. Nejvyšší nárůst množství 1-undekanolu byl pozorován již první den zkrmování natě bazalky (téměř 50 %), avšak od druhého dne zkrmování natě bazalky došlo k poklesu obsahu 1-undekanolu v mléce.

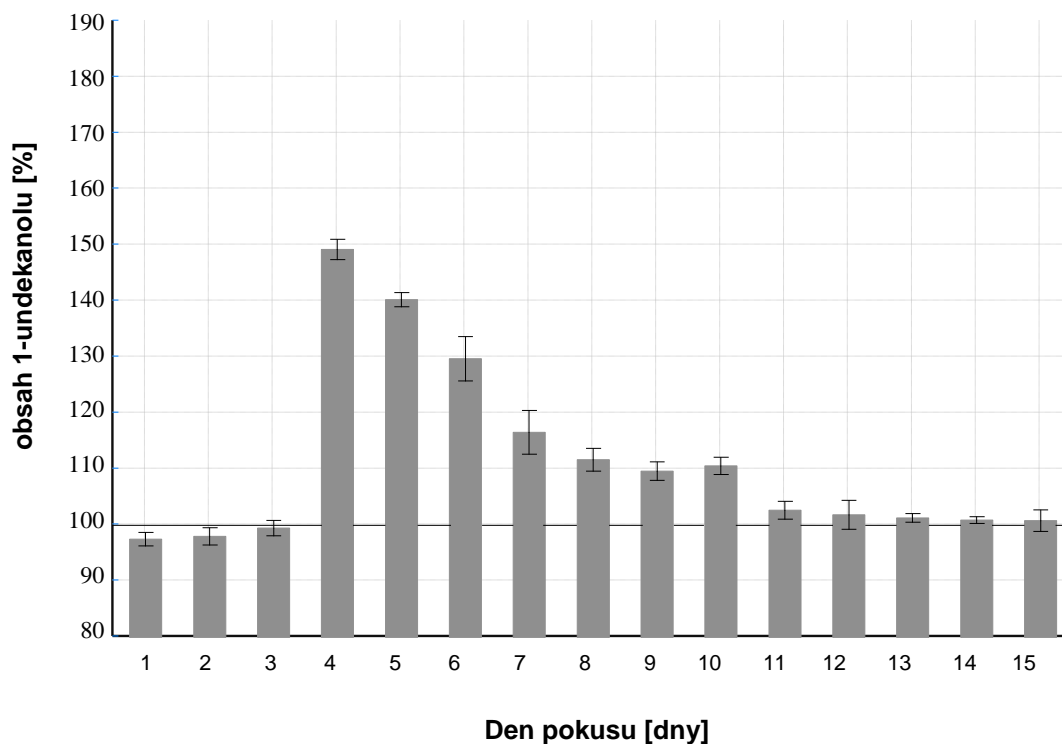
Změny obsahu 2-nonanonu v mléce experimentální skupiny a jejich statisticky významné rozdíly jsou prezentovány v Tab. 14. Vysoký nárůst obsahu ketonu 2-nonanonu byl pozorován již první den zkrmování natě bazalky (téměř 170 %). Obsah 2-nonanonu v mléce v následujících dnech experimentu postupně klesal (Obr. 4.5).

Původních koncentrací 1-oktanolu, 1-undekanolu a 2-nonanonu, které byly zjištěny v prvních třech dnech experimentu u experimentální skupiny a stejně tak i u kontrolní skupiny, bylo opět dosaženo třináctý den experimentu.

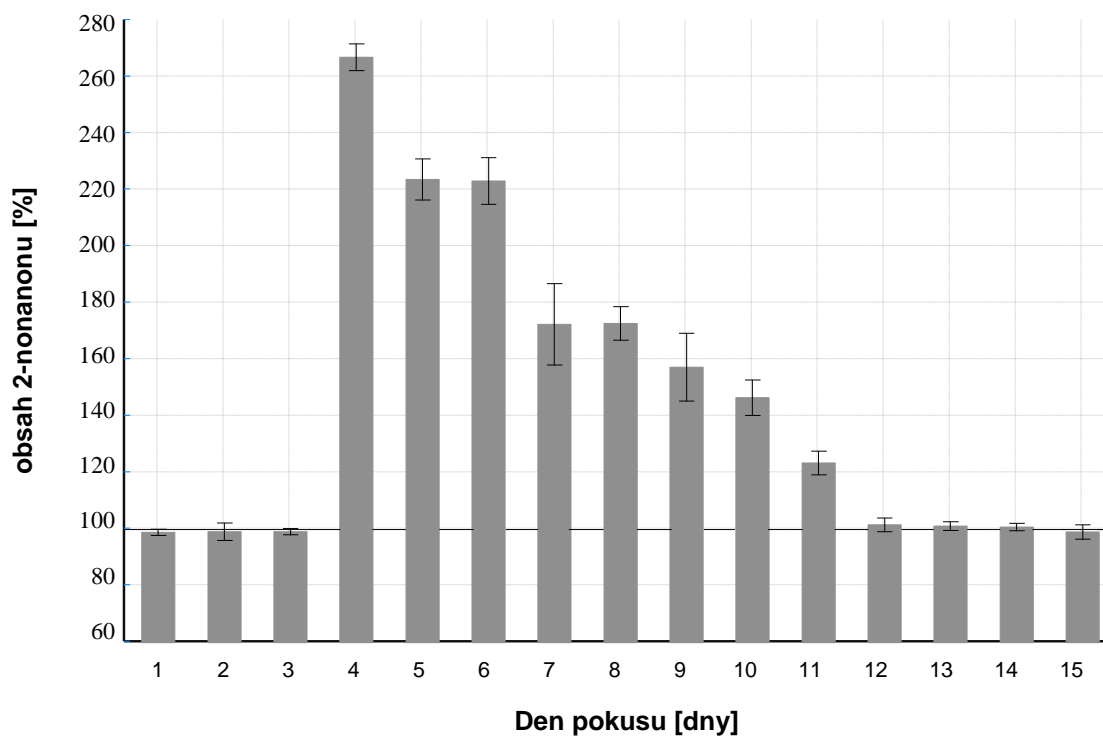
Pokles obsahu 1-oktanolu, 1-undekanolu a 2-nonanonu může být způsoben postupným metabolismem těchto látek až na kyselinu octovou, která slouží jako hlavní prekurzor mléčného tuku v mléčné žláze [61, 148]. Alternativně, mohou být uvedené tři látky přeměněny na jiné těkavé mastné kyseliny, které tvoří tuk v mléce [61, 148]. S touto možnou transformací může být spojen nárůst obsahu tuku v mléce experimentální skupiny z původního obsahu  $3,15 \pm 0,06$  až na  $3,79 \pm 0,06$  g/100 g na konci experiment.



**Obr. 4.3** Procentuální nárůst 1-oktanolu v mléce experimentální skupiny (kontrolní skupina=horizontální čára na hodnotě 100 %)

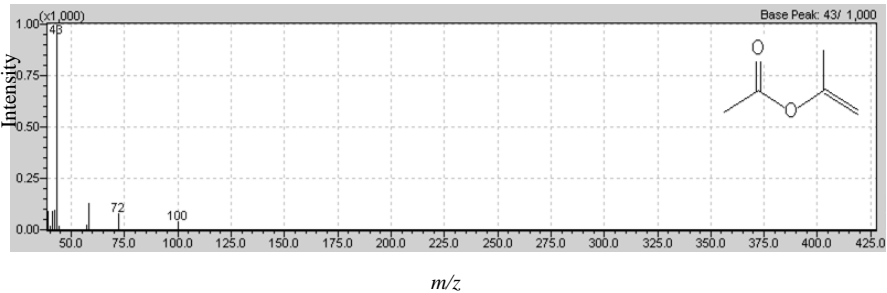
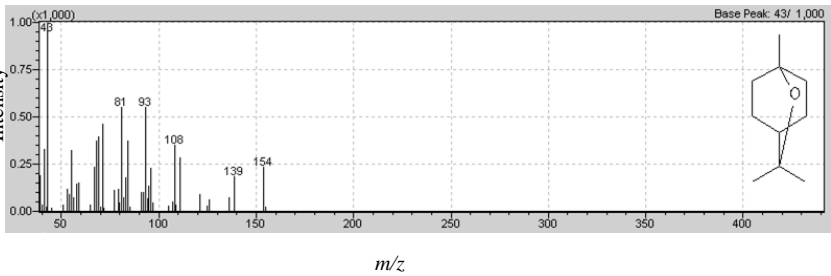
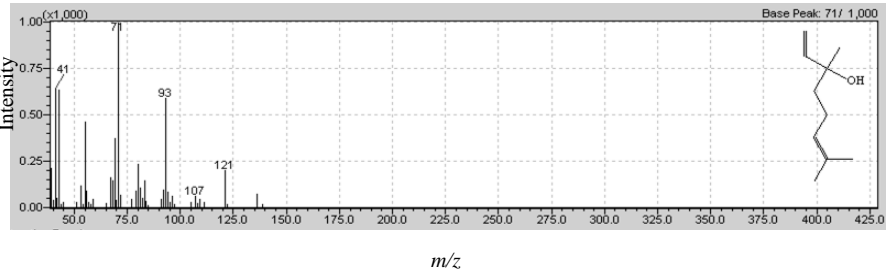
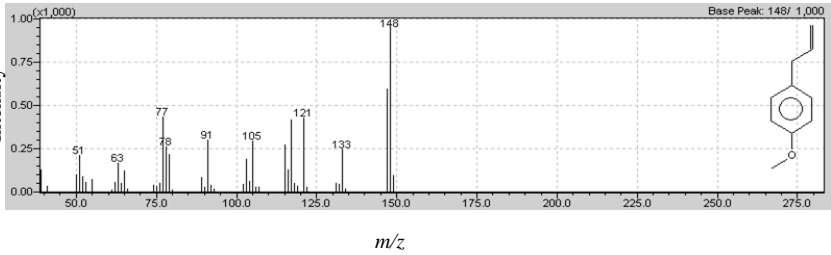
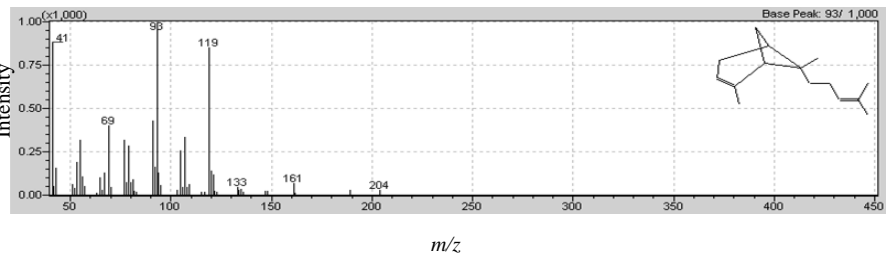


**Obr. 4.4** Procentuální nárůst 1-undekanolu v mléce experimentální skupiny (kontrolní skupina=horizontální čára na hodnotě 100 %)



**Obr. 4.5** Procentuální nárůst 2-nonanonu v mléce experimentální skupiny (kontrolní skupina=horizontální čára na hodnotě 100 %)

**Tab. 10** Senzoricky aktivní látky stanovené v zelené nati bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) (%)

	průměr ± SE	Chemická struktura a hmotnostní spektrum látky
1-propen-2-ol-acetát	17,7± 1,27	
eukalyptol (1, 8-cineol)	11,4± 1,57	
linalool	47,8± 2,36	
estragol	19,1± 1,42	
α-bergamoten	4,02± 0,18	

**Tab. 11** Nádoj a celková sušina mléka kontrolní a experimentální skupiny v průběhu experimentu; průměr ± SE

den	Nádoj (kg/den)		Celková sušina (g/100g)	
	kontrolní	experimentální	kontrolní	experimentální
1.	1,60 ± 0,29	1,20 ± 0,20	11,7 ± 0,01	11,8 ± 0,00
2.	1,54 ± 0,36	1,09 ± 0,59	11,8 ± 0,01	11,8 ± 0,09
3.	1,66 ± 0,53	1,17 ± 0,33	12,0 ± 0,04	11,9 ± 0,01
4.	1,76 ± 0,26	1,28 ± 0,59	11,7 ± 0,01	11,6 ± 0,01
5.	1,62 ± 0,02	1,26 ± 0,22	11,4 ± 0,01	11,8 ± 0,01
6.	1,42 ± 0,02	1,27 ± 0,25	11,4 ± 0,00	11,7 ± 0,01
7.	1,53 ± 0,12	1,30 ± 0,86	11,3 ± 0,02	11,8 ± 0,00
8.	1,63 ± 0,17	1,28 ± 1,03	11,2 ± 0,01	11,8 ± 0,05
9.	1,57 ± 0,03	1,35 ± 0,83	11,5 ± 0,00	11,8 ± 0,02
10.	1,61 ± 0,02	1,29 ± 0,50	11,6 ± 0,01	12,0 ± 0,02
11.	1,66 ± 0,12	1,41 ± 0,65	11,5 ± 0,01	12,3 ± 0,01
12.	1,57 ± 0,10	1,40 ± 0,69	11,3 ± 0,02	12,4 ± 0,00
13.	1,68 ± 0,11	1,47 ± 0,39	11,5 ± 0,01	12,3 ± 0,01
14.	1,66 ± 0,06	1,42 ± 1,20	11,5 ± 0,00	12,9 ± 0,20
15.	1,51 ± 0,07	1,37 ± 0,40	12,3 ± 0,48	13,4 ± 0,35
<b>průměr za 1. – 3. den experimentu</b>	<b>1,60 ± 0,32<sup>a</sup></b>	<b>1,15 ± 0,31<sup>a</sup></b>	<b>11,8 ± 0,11<sup>a</sup></b>	<b>11,9 ± 0,04<sup>a</sup></b>
<b>průměr za 4. – 10. den experimentu</b>	<b>1,60 ± 0,99<sup>a</sup></b>	<b>1,29 ± 0,10<sup>a</sup></b>	<b>11,5 ± 0,10<sup>b</sup></b>	<b>11,8 ± 0,05<sup>a</sup></b>
<b>průměr za 11. – 15. den experimentu</b>	<b>1,60 ± 0,20<sup>a</sup></b>	<b>1,42 ± 0,17<sup>b</sup></b>	<b>11,5 ± 0,11<sup>b</sup></b>	<b>12,6 ± 0,21<sup>b</sup></b>

<sup>a-b</sup> Hodnoty ve sloupci se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )  
SE ... standardní chyba



**Tab. 12** Tuk a bílkoviny mléka kontrolní a experimentální skupiny v průběhu experiment (g/100g); průměr ± SE

den	Tuk		Bílkoviny	
	kontrolní	experimentální	kontrolní	experimentální
1.	2,82 ± 0,04	3,09 ± 0,02	2,83 ± 0,01	2,89 ± 0,01
2.	2,94 ± 0,03	3,10 ± 0,05	2,83 ± 0,00	2,89 ± 0,00
3.	2,92 ± 0,04	3,27 ± 0,03	2,84 ± 0,01	2,87 ± 0,01
4.	2,80 ± 0,03	3,17 ± 0,03	2,83 ± 0,00	2,86 ± 0,00
5.	2,81 ± 0,00	3,37 ± 0,00	2,83 ± 0,00	2,84 ± 0,01
6.	2,99 ± 0,00	3,32 ± 0,05	2,83 ± 0,01	2,84 ± 0,00
7.	2,89 ± 0,03	3,15 ± 0,01	2,82 ± 0,01	2,83 ± 0,01
8.	2,89 ± 0,00	3,28 ± 0,00	2,80 ± 0,01	2,81 ± 0,00
9.	3,13 ± 0,00	3,52 ± 0,04	2,79 ± 0,01	2,78 ± 0,01
10.	3,22 ± 0,03	3,34 ± 0,04	2,80 ± 0,01	2,77 ± 0,00
11.	3,11 ± 0,04	3,60 ± 0,00	2,80 ± 0,01	2,75 ± 0,00
12.	3,10 ± 0,00	3,76 ± 0,00	2,79 ± 0,00	2,75 ± 0,00
13.	2,98 ± 0,03	3,73 ± 0,03	2,78 ± 0,01	2,76 ± 0,01
14.	2,97 ± 0,00	3,92 ± 0,08	2,78 ± 0,01	2,76 ± 0,01
15.	3,14 ± 0,02	3,93 ± 0,01	2,80 ± 0,01	2,78 ± 0,01
<b>průměr za 1. – 3. den experimentu</b>	<b>2,89 ± 0,04<sup>a</sup></b>	<b>3,15 ± 0,06<sup>a</sup></b>	<b>2,83 ± 0,00<sup>a</sup></b>	<b>2,88 ± 0,01<sup>a</sup></b>
<b>průměr za 4. – 10. den experimentu</b>	<b>2,87 ± 0,06<sup>a</sup></b>	<b>3,31 ± 0,05<sup>a</sup></b>	<b>2,83 ± 0,00<sup>a</sup></b>	<b>2,82 ± 0,01<sup>a</sup></b>
<b>průměr za 11. – 15. den experimentu</b>	<b>3,05 ± 0,04<sup>a</sup></b>	<b>3,79 ± 0,06<sup>b</sup></b>	<b>2,80 ± 0,00<sup>a</sup></b>	<b>2,76 ± 0,01<sup>a</sup></b>

<sup>a-b</sup> Hodnoty ve sloupci se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

**Tab. 13** Koncentrace mikroelementů (vápník, fosfor a draslík) mléka kontrolní a experimentální skupiny v průběhu experiment (g/l); průměr ± SE

den	vápník		fosfor		draslík	
	kontrolní	experimentální	kontrolní	experimentální	kontrolní	experimentální
1.	0,87 ± 0,001	1,71 ± 0,001	0,79 ± 0,039	1,32 ± 0,039	1,53 ± 0,015	1,38 ± 0,015
2.	0,90 ± 0,001	1,58 ± 0,001	0,84 ± 0,039	1,09 ± 0,039	1,55 ± 0,015	1,38 ± 0,015
3.	0,97 ± 0,001	1,65 ± 0,001	0,90 ± 0,039	1,02 ± 0,039	1,59 ± 0,015	1,52 ± 0,015
4.	0,98 ± 0,001	1,94 ± 0,001	0,87 ± 0,039	1,08 ± 0,039	1,55 ± 0,015	1,34 ± 0,015
5.	1,05 ± 0,001	1,98 ± 0,001	0,92 ± 0,039	1,08 ± 0,039	1,46 ± 0,015	1,50 ± 0,015
6.	1,06 ± 0,001	1,97 ± 0,001	0,94 ± 0,039	1,11 ± 0,039	1,47 ± 0,015	1,49 ± 0,015
7.	1,06 ± 0,001	1,97 ± 0,001	0,94 ± 0,039	1,03 ± 0,039	1,45 ± 0,015	1,48 ± 0,015
8.	1,06 ± 0,001	1,91 ± 0,001	0,94 ± 0,039	0,96 ± 0,039	1,51 ± 0,015	1,56 ± 0,015
9.	1,09 ± 0,001	1,94 ± 0,001	0,92 ± 0,039	0,93 ± 0,039	1,54 ± 0,015	1,51 ± 0,015
10.	1,08 ± 0,001	1,86 ± 0,001	0,94 ± 0,039	0,84 ± 0,039	1,47 ± 0,015	1,34 ± 0,015
11.	1,09 ± 0,001	1,77 ± 0,001	0,94 ± 0,039	0,85 ± 0,039	1,48 ± 0,015	1,32 ± 0,015
12.	1,10 ± 0,001	1,71 ± 0,001	0,96 ± 0,039	0,77 ± 0,039	1,39 ± 0,015	1,22 ± 0,015
13.	1,10 ± 0,001	1,75 ± 0,001	0,96 ± 0,039	0,82 ± 0,039	1,40 ± 0,015	1,27 ± 0,015
14.	1,05 ± 0,001	1,78 ± 0,001	0,93 ± 0,039	0,89 ± 0,039	1,37 ± 0,015	1,27 ± 0,015
15.	1,05 ± 0,001	1,82 ± 0,001	0,94 ± 0,039	1,00 ± 0,039	1,42 ± 0,015	1,31 ± 0,015
<b>průměr za 1.– 3. den</b>	<b>0,92 ± 0,003<sup>a</sup></b>	<b>1,65 ± 0,004<sup>a</sup></b>	<b>0,84 ± 0,032<sup>a</sup></b>	<b>1,14 ± 0,091<sup>a</sup></b>	<b>1,56 ± 0,019<sup>a</sup></b>	<b>1,43 ± 0,046<sup>a</sup></b>
<b>průměr za 4. – 10.</b>	<b>1,03 ± 0,003<sup>a</sup></b>	<b>1,94 ± 0,016<sup>b</sup></b>	<b>0,91 ± 0,019<sup>b</sup></b>	<b>1,03 ± 0,036<sup>a</sup></b>	<b>1,49 ± 0,028<sup>b</sup></b>	<b>1,46 ± 0,033<sup>a</sup></b>
<b>průměr za 11. – 15.</b>	<b>1,08 ± 0,068<sup>b</sup></b>	<b>1,77 ± 0,018<sup>c</sup></b>	<b>0,94 ± 0,005<sup>b</sup></b>	<b>0,87 ± 0,039<sup>b</sup></b>	<b>1,45 ± 0,019<sup>b</sup></b>	<b>1,28 ± 0,018<sup>b</sup></b>

<sup>a-c</sup> Hodnoty ve sloupci se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

**Tab. 14** Dynamika změn obsahu sensoricky aktivních látek mléka kontrolní a experimentální skupiny v průběhu experimentu ( $\mu\text{l}/100$  ml mléka); průměr  $\pm$  SE

day	1-oktanol		1-undekanol		2-nonanon	
	kontrolní	experimentální	kontrolní	experimentální	kontrolní	experimentální
1.						
2.		18,8 $\pm$ 0,14		5,33 $\pm$ 0,05		4,65 $\pm$ 0,07
3.						
4.		24,2 $\pm$ 10,4*		9,60 $\pm$ 0,12**		23,3 $\pm$ 0,41**
5.		32,5 $\pm$ 9,1**		9,02 $\pm$ 0,02**		19,5 $\pm$ 0,02**
6.		30,4 $\pm$ 5,3**		8,34 $\pm$ 0,26**		19,5 $\pm$ 0,72**
7.		29,6 $\pm$ 3,4**		7,50 $\pm$ 0,51**		15,0 $\pm$ 1,26**
8.	18,2 $\pm$ 0,02	28,0 $\pm$ 2,4**	5,4 $\pm$ 0,03	7,18 $\pm$ 0,13*	4,48 $\pm$ 0,02	15,1 $\pm$ 0,08**
9.		23,9 $\pm$ 2,8*		7,05 $\pm$ 0,11*		13,7 $\pm$ 1,05**
10.		22,5 $\pm$ 3,0*		6,91 $\pm$ 0,10		12,8 $\pm$ 0,02**
11.						
12.						
13.		19,2 $\pm$ 0,07		5,53 $\pm$ 0,04		4,8 $\pm$ 0,28
14.						
15.						

\* ...  $P \leq 0,05$

\*\* ...  $P \leq 0,01$

### 4.3. VÝSLEDKY A DISKUZE EXPERIMENTU 3

Cílem třetího experimentu disertační práce bylo ověřit změny jakosti mléčného výrobku (jogurtu) po přidavku hydrokoloidu a úpravou různého obsahu sušiny.

Kódy označení vzorků jogurtů v jednotlivých analýzách jsou uvedeny v *Tab. 15*.

**Tab. 15** Označení vzorků jogurtů pro jednotlivé analýzy

Kód vzorku	vzorek
K10	10 % obsahu sušiny
K12	12 % obsahu sušiny
J10	10 % obsahu sušiny + $\iota$ -karagenan
J12	12 % obsahu sušiny + $\iota$ -karagenan
K14	14 % obsahu sušiny
K16	16 % obsahu sušiny
J14	14 % obsahu sušiny + $\iota$ -karagenan
J16	16 % obsahu sušiny + $\iota$ -karagenan

#### Změny aktivní kyselosti a obsahu laktózy

V průběhu skladovacího pokusu byla sledována aktivní kyselost vzorků jogurtů, která byla stanovena pomocí vpichového pH metru. Změny pH vzorků jsou patrné z *Tab. 16*.

**Tab. 16** Aktivní kyselost vzorků jogurtů v průběhu skladovacího pokusu;  $pH \pm SE$

Vzorek jogurtu	Den skladování				
	1.	5.	10.	20.	30.
K10	4,27 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	4,20 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	4,10 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	4,07 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	4,08 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
J10	4,20 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	4,19 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	4,13 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	4,08 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	4,13 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
K12	4,24 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	4,20 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	4,14 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	4,15 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	4,10 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
J12	4,24 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	4,17 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	4,13 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	4,11 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	4,15 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>

**Tab. 16** Aktivní kyselost vzorků jogurtů v průběhu skladovacího pokusu - pokračování; pH ± SE

K14	4,30 ± 0,09 <sup>a</sup>	4,22 ± 0,04 <sup>a</sup>	4,19 ± 0,07 <sup>a</sup>	4,14 ± 0,05 <sup>a</sup>	4,17 ± 0,05 <sup>a</sup>
J14	4,40 ± 0,12 <sup>a</sup>	4,36 ± 0,10 <sup>a</sup>	4,27 ± 0,08 <sup>a</sup>	4,15 ± 0,05 <sup>a</sup>	4,17 ± 0,04 <sup>a</sup>
K16	4,48 ± 0,13 <sup>a</sup>	4,38 ± 0,07 <sup>a</sup>	4,35 ± 0,09 <sup>a</sup>	4,20 ± 0,06 <sup>a</sup>	4,15 ± 1,0 <sup>a</sup>
J16	4,39 ± 0,07 <sup>a</sup>	4,38 ± 0,08 <sup>a</sup>	4,35 ± 0,06 <sup>a</sup>	4,23 ± 0,04 <sup>a</sup>	4,18 ± 0,05 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> Hodnoty ve sloupci daného řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

Všechny vzorky jogurtů vykazují do 20. dne skladování pokles hodnot pH a to řádově zhruba o 0,2 pH. Ve 30. den skladování dochází u většiny výrobků k nepatrnému nárůstu hodnot pH (maximálně o 0,04 pH). Při porovnání vzorků se zvýšeným obsahem sušiny a vzorků, do kterých byl při daném obsahu sušiny ještě navíc přidán karagenan nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly ( $P \leq 0,05$ ). Pokles hodnot pH je způsoben především bakteriemi mléčného kvašení, které fermentují laktózu na kyselinu mléčnou a dochází tak ke snížení pH jogurtové matrice [116]. Zároveň může být tento pokles ovlivněn lipolýzou triacylglycerolů na volné mastné kyseliny, které se vzhledem ke svým chemickým vlastnostem mohou taktéž podílet na snižování pH. Jedním z minoritních faktorů, které mohou ovlivňovat pokles pH jsou Maillardovy reakce, při nichž dochází ke ztrátě pozitivního náboje na molekule proteinu [149].

V rámci experimentu byl sledován obsah laktózy u vybraných vzorků jogurtů (Tab. 17). Dynamika zaznamenaných změn je zobrazena na Obr. 4.6. U vzorků jogurtů K12 došlo k nejvýraznějšímu poklesu obsahu  $\alpha$ -laktózy v průběhu prvního týdne experimentu (1. – 7. den skladování). Dále už klesal obsah  $\alpha$ -laktózy jen mírně. Stejný klesající trend byl zjištěn u  $\beta$ -laktózy, ve 20. a 30. dnu skladování již obsah  $\beta$ -laktózy nebyl detekován.

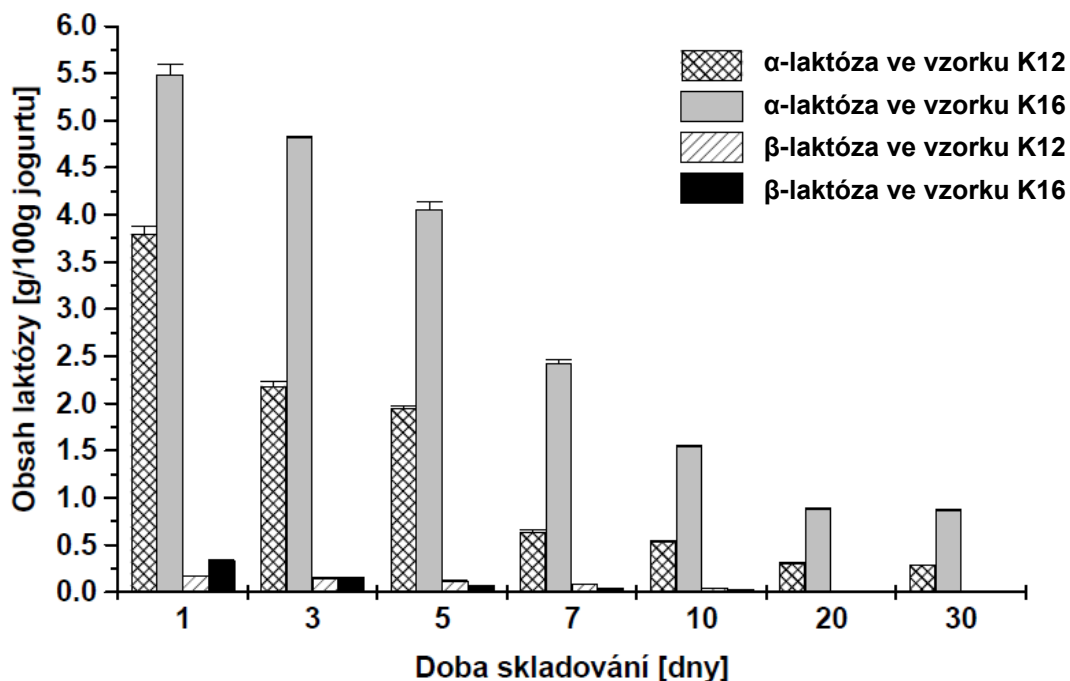
Ve vzorcích jogurtů K16 klesal obsah  $\alpha$ -laktózy výrazně až do 20. dne skladování. Mezi 20. a 30. dnem byl už pokles mírný. Obsah  $\beta$ -laktózy v těchto vzorcích klesal výrazněji mezi 1. a 5. dnem skladování, 20. den a 30. den skladování již nebyl obsah  $\beta$ -laktózy detekován stejně jako u vzorků K12. Pokles obsahu obou anomerů laktózy v jogurtech během skladování potvrzuje již dříve diskutovaný pokles pH ve vzorcích. Klesající hodnoty obsahu laktózy v jogurtech během skladování zjistili ve své práci Alm [152]. Výrazný pokles zaznamenali během prvního dne po fermentaci, další dny už obsah laktózy klesal jen mírně stejně jako v případě našeho experimentu.

**Tab. 17** Dynamika změn obsahu  $\alpha$ -anomeru a  $\beta$ -anomeru laktózy ve vzorcích jogurtů K12 a K16 v průběhu skladovacího pokusu (g/100 g jogurtu); průměr  $\pm$  SE [150]

Den skladování	Vzorek jogurtu			
	K12		K16	
	$\alpha$ -laktóza	$\beta$ -laktóza	$\alpha$ -laktóza	$\beta$ -laktóza
1.	3,80 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	0,17 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	5,49 $\pm$ 0,11 <sup>a</sup>	0,34 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
3.	2,19 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	0,15 $\pm$ 0,00 <sup>b</sup>	4,82 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,15 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
5.	1,95 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	0,12 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>	4,06 $\pm$ 0,08 <sup>c</sup>	0,07 $\pm$ 0,00 <sup>c</sup>
7.	0,64 $\pm$ 0,02 <sup>d</sup>	0,09 $\pm$ 0,00 <sup>d</sup>	2,43 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>	0,04 $\pm$ 0,00 <sup>d</sup>
10.	0,54 $\pm$ 0,00 <sup>d</sup>	0,04 $\pm$ 0,00 <sup>e</sup>	1,54 $\pm$ 0,01 <sup>e</sup>	0,03 $\pm$ 0,00 <sup>d</sup>
20.	0,31 $\pm$ 0,00 <sup>e</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>f</sup>	0,88 $\pm$ 0,01 <sup>f</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>e</sup>
30.	0,29 $\pm$ 0,00 <sup>e</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>f</sup>	0,87 $\pm$ 0,01 <sup>f</sup>	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>e</sup>

<sup>a,b,c,d,e</sup> ... hodnoty ve sloupci se stejným písmenem v horním indexu nejsou statisticky významné ( $P \leq 0,05$ )

Obsah laktózy v kravském mléce nabývá průměrně hodnot 4,8 % [5]. V rovnováze při 20 °C se laktóza rozpuštěná ve vodě skládá z 37,3 %  $\alpha$ -anomeru a 62,7 %  $\beta$ -anomeru. Obsah  $\alpha$ - a  $\beta$ -laktózy v sušeném mléce je závislý na sušině výrobku, obsahu tuku a teplotě, průměrně se pohybuje kolem 40 % pro  $\alpha$ -laktózu a 60 %  $\beta$ -laktózu [151]. Po procesu fermentace dochází k opačné situaci – obsah  $\alpha$ -laktózy je ve všech vzorcích jogurtů několikanásobně vyšší než obsah  $\beta$ -laktózy. V průběhu skladování obsah  $\beta$ -laktózy dále výrazně klesá, ve 20. dni už dosahuje v podmínkách tohoto stanovení neměřitelných hodnot. Dá se tedy předpokládat, že bakterie mléčného kvašení přednostně fermentují  $\beta$ -laktózu, protože produkují převážně  $\beta$ -galaktosidázu.



**Obr. 4.6** Dynamika změn obsahu  $\alpha$ -laktózy a  $\beta$ -laktózy ve vzorcích jogurtů K12 a K16 v průběhu skladovacího pokusu

### Obsah volných mastných kyselin

Ve vzorcích jogurtů, bylo stanoveno pět volných mastných kyselin, konkrétně kyselina valerová (C5:0), kyselina tridecylová (C13:0), kyselina myristová (C14:0), kyselina palmitová (C16:0) a kyselina olejová (C18:1). Obsah jednotlivých kyselin ve vzorcích jogurtů v průběhu skladování je uveden v Tab. 18 – Tab. 22. V uvedených tabulkách jsou vyznačeny statisticky významné rozdíly při porovnání obsahu jednotlivých volných mastných kyselin ve vzorcích bez přídavku  $\iota$ -karagenanu a s přídavkem  $\iota$ -karagenanu.

V průběhu skladování došlo ve vzorcích jogurtů k nárůstu obsahu všech detekovaných volných mastných kyselin. Dynamika nárůstu v průběhu skladování u jednotlivých vzorků je znázorněna na Obr. 10.1 – Obr. 10.5.

Jednou z možných příčin zvýšení obsahu volných mastných kyselin je enzymatická lipolýza mléčných lipidů [5]. Lipázy podílející se na tvorbě volných mastných kyselin jsou produkovány převážně inokulovanými mikroorganismy (*S. thermophilus* a *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) [116].

V případě porovnání vzorků s přídavkem a bez přídavku karagenanu nejsou mezi těmito výrazné statisticky významné rozdíly ( $P \geq 0,05$ ), jedná se spíše o ojedinělé případy v jednotlivých dnech skladování. Jediná výjimka byla zaznamenána u obsahu kyseliny olejové, kdy ve vzorcích jogurtů

s přidavkem karagenanu byl její obsah významně vyšší ( $P \leq 0,05$ ) než ve vzorcích bez přidavku karagenanů (Tab. 22).

Prudký nárůst obsahu volných mastných kyselin do 20. dne skladování může být způsoben jinými mikroorganismy vykazujícími vysokou lipolytickou aktivitu jako např. non-starterové mléčné bakterie, enterokoky a mikrokoky, kdy jejich nejvyšší obsah byl podle studie Manolopoulouse *et al.* [153] dokázán v průběhu prvních 16 dní fermentace. Aktivitu lipázy nebyla narušena ani tepelným ošetřením mléka, jelikož dle Rychlika *et al.* [154] zůstává aktivita lipáz zachována i při pasteračním zákroku 140 °C po dobu 10 minut.

Výsledky našeho experimentu se shodují s výsledky práce Rao & Reddyho [155], kteří došli k závěru, že při fermentaci mléka účinkem bakterií *S. thermophilus* a *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* došlo taktéž k nárůstu obsahu volných mastných kyselin a to především kyseliny stearové a olejové. Podobný experiment byl publikován v roce 2007 [157] s tím rozdílem, že se jednalo o fermentované nápoje z ovčího mléka. I v tomto případě byly stanoveny podobné volné mastné kyseliny (C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1). Ve stejném roce byl publikován skladovací pokus se slaným jogurtem (tureckým) vyrobeným z kozího mléka, který potvrzuje nárůst volných mastných kyselin v prvních dnech skladování (do 14. dne skladování) následně byla v této práci zaznamenána stagnace či mírný pokles v obsahu detekovaných mastných kyselin [156]. Jedna z nejnovějších studií zabývajících se fermentací kozího a ovčího mléka však poukazuje na jistý rozpor v dynamice změny obsahu volných mastných kyselin s dlouhým řetězcem (C16:0, C18:0 a C18:1), kdy tato studie uvádí pokles daných volných mastných kyselin v průběhu skladování. Dle studie od Regula [157] se intenzita a nárůst či pokles obsahu volných mastných kyselin během skladování liší v závislosti na startovací kultuře.



**Tab. 18** Dynamika změn obsahu kyseliny valerové ve vzorcích jogurtů v průběhu skladovacího pokusu (mg/100 g); průměr ± SE

Vzorek jogurtu	Den skladování				
	1.	5.	10.	20.	30.
K10	7,62 ± 0,50 <sup>a</sup>	18,0 ± 0,48 <sup>a</sup>	26,7 ± 0,52 <sup>a</sup>	40,7 ± 0,88 <sup>a</sup>	41,6 ± 0,22 <sup>a</sup>
J10	7,75 ± 0,75 <sup>a</sup>	19,3 ± 0,26 <sup>b</sup>	27,8 ± 0,05 <sup>a</sup>	39,2 ± 0,82 <sup>a</sup>	41,1 ± 0,58 <sup>a</sup>
K12	7,14 ± 0,43 <sup>a</sup>	17,8 ± 0,73 <sup>a</sup>	25,1 ± 0,49 <sup>a</sup>	38,9 ± 1,65 <sup>a</sup>	41,2 ± 1,20 <sup>a</sup>
J12	8,24 ± 0,36 <sup>a</sup>	17,3 ± 0,70 <sup>a</sup>	25,0 ± 0,31 <sup>a</sup>	39,8 ± 0,56 <sup>a</sup>	42,1 ± 0,63 <sup>a</sup>
K14	8,73 ± 0,36 <sup>a</sup>	17,6 ± 0,42 <sup>a</sup>	26,7 ± 0,41 <sup>a</sup>	41,1 ± 1,32 <sup>a</sup>	43,1 ± 0,94 <sup>a</sup>
J14	8,39 ± 0,32 <sup>a</sup>	17,0 ± 0,20 <sup>a</sup>	25,0 ± 0,22 <sup>a</sup>	41,7 ± 0,25 <sup>a</sup>	44,1 ± 0,79 <sup>a</sup>
K16	8,07 ± 0,49 <sup>a</sup>	17,4 ± 0,35 <sup>a</sup>	26,5 ± 0,57 <sup>a</sup>	42,4 ± 0,93 <sup>a</sup>	45,2 ± 1,32 <sup>a</sup>
J16	8,74 ± 0,57 <sup>a</sup>	18,5 ± 0,80 <sup>a</sup>	26,6 ± 0,41 <sup>a</sup>	40,5 ± 0,86 <sup>a</sup>	45,9 ± 0,94 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> Hodnoty ve sloupci daného řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

**Tab. 19** Dynamika změn obsahu kyseliny tridecylové ve vzorcích jogurtů v průběhu skladovacího pokusu (mg/100 g); průměr ± SE

Vzorek jogurtu	Den skladování				
	1.	5.	10.	20.	30.
K10	5,91 ± 0,10 <sup>a</sup>	6,53 ± 0,02 <sup>a</sup>	7,67 ± 0,03 <sup>a</sup>	9,42 ± 0,47 <sup>a</sup>	9,79 ± 0,53 <sup>a</sup>
J10	4,48 ± 0,05 <sup>a</sup>	5,34 ± 0,17 <sup>a</sup>	8,15 ± 0,19 <sup>a</sup>	9,52 ± 0,17 <sup>a</sup>	10,90 ± 0,25 <sup>a</sup>
K12	6,00 ± 0,12 <sup>a</sup>	6,21 ± 0,18 <sup>a</sup>	7,43 ± 0,19 <sup>a</sup>	9,98 ± 0,07 <sup>a</sup>	10,45 ± 0,23 <sup>a</sup>
J12	5,54 ± ±0,36 <sup>a</sup>	6,13 ± 0,03 <sup>a</sup>	7,90 ± 0,13 <sup>a</sup>	9,68 ± 0,55 <sup>a</sup>	10,49 ± 0,14 <sup>a</sup>
K14	5,65 ± 0,14 <sup>a</sup>	6,01 ± 0,01 <sup>a</sup>	8,80 ± 0,09 <sup>a</sup>	10,82 ± 0,09 <sup>a</sup>	10,98 ± 0,10 <sup>a</sup>
J14	5,51 ± 0,36 <sup>a</sup>	6,49 ± 0,23 <sup>a</sup>	8,47 ± 0,24 <sup>a</sup>	9,88 ± 0,14 <sup>a</sup>	10,52 ± 0,53 <sup>a</sup>
K16	5,30 ± 0,33 <sup>a</sup>	6,05 ± 0,11 <sup>a</sup>	6,44 ± 0,13 <sup>a</sup>	10,21 ± 0,14 <sup>a</sup>	10,55 ± 0,31 <sup>a</sup>
J16	6,09 ± 0,08 <sup>a</sup>	6,17 ± 0,04 <sup>a</sup>	8,09 ± 0,34 <sup>a</sup>	10,16 ± 0,13 <sup>a</sup>	11,07 ± 0,19 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> Hodnoty ve sloupci daného řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

**Tab. 20** Dynamika změn obsahu kyseliny myristové ve vzorcích jogurtů v průběhu skladovacího pokusu (mg/100 g); průměr ± SE

Vzorek jogurtu	Den skladování				
	1.	5.	10.	20.	30.
K10	5,84± 0,60 <sup>a</sup>	5,96 ± 0,34 <sup>a</sup>	7,09 ± 0,16 <sup>a</sup>	11,2 ± 0,43 <sup>a</sup>	13,6 ± 0,51 <sup>a</sup>
J10	4,61 ± 0,21 <sup>a</sup>	6,63 ± 0,18 <sup>a</sup>	8,32 ± 0,20 <sup>a</sup>	9,09 ± 0,07 <sup>b</sup>	10,5 ± 0,32 <sup>b</sup>
K12	4,54 ± 0,39 <sup>a</sup>	5,49 ± 0,52 <sup>a</sup>	6,22 ± 0,18 <sup>a</sup>	9,92 ± 0,40 <sup>a</sup>	13,0 ± 0,47 <sup>a</sup>
J12	5,36 ±0,12 <sup>a</sup>	6,19 ± 0,14 <sup>a</sup>	6,94 ± 0,20 <sup>a</sup>	8,27 ± 0,14 <sup>a</sup>	11,1 ± 0,27 <sup>a</sup>
K14	6,38 ± 0,36 <sup>a</sup>	8,06 ± 0,40 <sup>a</sup>	8,39 ± 0,32 <sup>a</sup>	10,9 ± 0,26 <sup>a</sup>	12,4 ± 0,46 <sup>a</sup>
J14	4,38 ± 0,27 <sup>a</sup>	6,28 ± 0,15 <sup>a</sup>	7,42 ± 0,23 <sup>a</sup>	8,59 ± 0,24 <sup>a</sup>	11,8 ± 0,19 <sup>a</sup>
K16	7,48 ± 0,43 <sup>a</sup>	7,85 ± 0,48 <sup>a</sup>	9,27 ± 0,41 <sup>a</sup>	10,4 ± 0,52 <sup>a</sup>	14,2 ± 0,23 <sup>a</sup>
J16	7,55 ± 0,82 <sup>a</sup>	6,46 ± 0,14 <sup>a</sup>	8,89 ± 0,41 <sup>a</sup>	9,21 ± 0,34 <sup>a</sup>	14,2 ± 0,38 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> Hodnoty ve sloupci daného řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

**Tab. 21** Dynamika změn obsahu kyseliny palmitové ve vzorcích jogurtů v průběhu skladovacího pokusu (mg/100 g); průměr ± SE

Vzorek jogurtu	Den skladování				
	1.	5.	10.	20.	30.
K10	4,13 ± 0,24 <sup>a</sup>	5,60 ± 0,09 <sup>a</sup>	13,3 ± 0,41 <sup>a</sup>	15,9 ± 0,53 <sup>a</sup>	22,9 ± 0,46 <sup>a</sup>
J10	5,40 ± 0,13 <sup>a</sup>	7,42 ± 0,36 <sup>a</sup>	8,91 ± 0,06 <sup>b</sup>	13,2 ± 0,24 <sup>a</sup>	19,9 ± 0,32 <sup>b</sup>
K12	7,49 ± 0,56 <sup>a</sup>	9,07 ± 0,17 <sup>a</sup>	10,8 ± 0,24 <sup>a</sup>	17,7 ± 0,68 <sup>a</sup>	21,1 ± 0,42 <sup>a</sup>
J12	6,39 ±0,27 <sup>a</sup>	11,1 ± 0,38 <sup>a</sup>	13,2 ± 0,17 <sup>b</sup>	15,9 ± 0,55 <sup>a</sup>	21,4 ± 0,17 <sup>a</sup>
K14	4,23 ± 0,46 <sup>a</sup>	10,5 ± 0,32 <sup>a</sup>	12,8 ± 0,24 <sup>a</sup>	21,6 ± 0,27 <sup>a</sup>	23,7 ± 0,87 <sup>a</sup>
J14	4,87 ± 0,31 <sup>a</sup>	9,76 ± 0,30 <sup>a</sup>	15,6 ± 0,31 <sup>b</sup>	19,9 ± 0,70 <sup>a</sup>	22,8 ± 0,30 <sup>a</sup>
K16	4,05 ± 0,48 <sup>a</sup>	7,15 ± 0,39 <sup>a</sup>	12,9 ± 0,54 <sup>a</sup>	22,1 ± 0,64 <sup>a</sup>	24,7 ± 0,34 <sup>a</sup>
J16	7,15 ± 0,50 <sup>b</sup>	9,55 ± 0,23 <sup>b</sup>	11,5 ± 0,05 <sup>a</sup>	19,1 ± 0,31 <sup>b</sup>	24,5 ± 0,11 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> Hodnoty ve sloupci daného řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

**Tab. 22** Dynamika změn obsahu kyseliny olejové ve vzorcích jogurtů v průběhu skladovacího pokusu (mg/100 g); průměr ± SE

Vzorek jogurtu	Den skladování				
	1.	5.	10.	20.	30.
K10	5,82 ± 0,09 <sup>a</sup>	6,86 ± 0,23 <sup>a</sup>	10,3 ± 0,22 <sup>a</sup>	13,4 ± 0,27 <sup>a</sup>	18,5 ± 0,34 <sup>a</sup>
J10	7,50 ± 0,12 <sup>a</sup>	10,3 ± 0,17 <sup>b</sup>	11,4 ± 0,32 <sup>a</sup>	15,7 ± 0,27 <sup>b</sup>	20,4 ± 0,23 <sup>b</sup>
K12	6,04 ± 0,14 <sup>a</sup>	7,16 ± 0,17 <sup>a</sup>	10,0 ± 0,24 <sup>a</sup>	13,2 ± 0,37 <sup>a</sup>	15,7 ± 0,22 <sup>a</sup>
J12	7,31 ±0,19 <sup>a</sup>	9,32 ± 0,12 <sup>a</sup>	11,6 ± 0,23 <sup>a</sup>	16,5 ± 0,10 <sup>b</sup>	19,9 ± 0,11 <sup>b</sup>
K14	6,67 ± 0,28 <sup>a</sup>	8,11 ± 0,27 <sup>a</sup>	11,8 ± 0,20 <sup>a</sup>	13,3 ± 0,28 <sup>a</sup>	16,2 ± 0,56 <sup>a</sup>
J14	7,99 ± 0,34 <sup>a</sup>	11,1 ± 0,28 <sup>b</sup>	12,9 ± 0,18 <sup>a</sup>	17,0 ± 0,33 <sup>b</sup>	20,0 ± 0,35 <sup>b</sup>
K16	7,20 ± 0,40 <sup>a</sup>	10,7 ± 0,62 <sup>a</sup>	14,4 ± 0,44 <sup>a</sup>	15,9 ± 0,53 <sup>a</sup>	18,2 ± 0,47 <sup>a</sup>
J16	7,76 ± 0,68 <sup>a</sup>	11,1 ± 0,10 <sup>a</sup>	12,0 ± 0,29 <sup>b</sup>	17,1 ± 0,06 <sup>b</sup>	20,5 ± 0,14 <sup>b</sup>

<sup>a-b</sup> Hodnoty ve sloupci daného řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

### Dynamika obsahu volných aminokyselin

Obsah volných aminokyselin byl stanoven ve vybraných vzorcích jogurtů (K10, K16). Probíhající změny v obsahu volných aminokyselin jsou uvedeny v Tab. 23 a Tab. 24. včetně statisticky významných rozdílů ( $P \leq 0,05$ ) v obsahu volných aminokyselin 1. den a 30. den skladování.

**Tab. 23** Zastoupení volných aminokyselin ve vzorku jogurtu K10 v 1. a 30. den skladování (mg/kg); průměr  $\pm$  SE

	1. den skladování	30. den skladování
Thr	ND	ND
Ser	ND	ND
Asp	ND	ND
Asn	ND	ND
Glu	ND	ND
Gln	ND	ND
Pro	376,5 $\pm$ 8,09 <sup>a</sup>	575,2 $\pm$ 8,21 <sup>b</sup>
Gly	73,9 $\pm$ 3,21 <sup>a</sup>	148,0 $\pm$ 1,85 <sup>b</sup>
Ala	96,3 $\pm$ 3,26 <sup>a</sup>	145,3 $\pm$ 5,48 <sup>a</sup>
Val	167,0 $\pm$ 2,71 <sup>a</sup>	277,2 $\pm$ 9,67 <sup>a</sup>
Cys	ND	ND
Met	7,21 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	16,5 $\pm$ 0,53 <sup>b</sup>
Cysta	ND	ND
Ile	85,1 $\pm$ 1,40 <sup>a</sup>	176,6 $\pm$ 3,46 <sup>b</sup>
Leu	80,3 $\pm$ 2,83 <sup>a</sup>	204,8 $\pm$ 2,33 <sup>b</sup>
Tyr	37,8 $\pm$ 2,42 <sup>a</sup>	66,1 $\pm$ 3,09 <sup>b</sup>
Phe	19,3 $\pm$ 1,25 <sup>a</sup>	73,2 $\pm$ 3,81 <sup>b</sup>
k. aminomáselná	130,0 $\pm$ 1,02 <sup>a</sup>	447,2 $\pm$ 9,50 <sup>b</sup>
ethanolamin	74,3 $\pm$ 0,39 <sup>a</sup>	72,1 $\pm$ 4,18 <sup>a</sup>
Orn	46,8 $\pm$ 0,69 <sup>a</sup>	19,2 $\pm$ 0,85 <sup>b</sup>
Lys	144,1 $\pm$ 5,67 <sup>a</sup>	158,6 $\pm$ 1,34 <sup>a</sup>
His	120,7 $\pm$ 2,79 <sup>a</sup>	112,8 $\pm$ 3,16 <sup>a</sup>
Arg	183,2 $\pm$ 10,2 <sup>a</sup>	169,0 $\pm$ 1,61 <sup>a</sup>

ND ... nedetekováno

SE ... standardní chyba

<sup>a, b</sup>... Hodnoty v řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

**Tab. 24** Zastoupení volných aminokyselin ve vzorku jogurtu K16 v 1. a 30. den skladování (mg/kg); průměr ± SE

	1. den skladování	30. den skladování
Thr	ND	ND
Ser	ND	ND
Asp	ND	ND
Asn	ND	ND
Glu	ND	ND
Gln	ND	ND
Pro	307,5 ± 12,6 <sup>a</sup>	434,5 ± 13,5 <sup>b</sup>
Gly	90,4 ± 1,56 <sup>a</sup>	123,5 ± 7,29 <sup>a</sup>
Ala	136,3 ± 5,22 <sup>a</sup>	153,8 ± 1,55 <sup>a</sup>
Val	154,7 ± 4,40 <sup>a</sup>	221,7 ± 2,35 <sup>a</sup>
Cys	ND	ND
Met	9,15 ± 0,75 <sup>a</sup>	11,6 ± 0,74 <sup>a</sup>
Cysta	ND	ND
Ile	86,0 ± 3,01 <sup>a</sup>	127,6 ± 2,14 <sup>a</sup>
Leu	71,3 ± 1,98 <sup>a</sup>	139,4 ± 1,03 <sup>b</sup>
Tyr	39,7 ± 2,23 <sup>a</sup>	39,3 ± 0,81 <sup>a</sup>
Phe	20,7 ± 1,30 <sup>a</sup>	48,2 ± 1,18 <sup>b</sup>
k. aminomáselná	295,9 ± 15,7 <sup>a</sup>	422,7 ± 6,49 <sup>b</sup>
ethanolamin	73,2 ± 2,99 <sup>a</sup>	71,2 ± 2,03 <sup>a</sup>
Orn	55,7 ± 2,03 <sup>a</sup>	18,5 ± 0,59 <sup>b</sup>
Lys	151,3 ± 7,89 <sup>a</sup>	161,9 ± 3,29 <sup>a</sup>
His	122,7 ± 4,13 <sup>a</sup>	79,5 ± 2,62 <sup>a</sup>
Arg	181,9 ± 7,58 <sup>a</sup>	146,7 ± 6,05 <sup>a</sup>

ND ... nedetekováno

SE ... standardní chyba

<sup>a, b</sup> ... Hodnoty v řádce se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

U vybraných vzorků jogurtů bylo stanoveno stejné zastoupení volných aminokyselin. U vzorku K10 byly statisticky významné rozdíly zjištěny u devíti volných aminokyselin (Pro, Gly, Leu, Met, Phe, Ile, Tyr, kyselina aminomáselná, Orn), jejich obsah vykazoval od 1. dne skladování po 30. den skladování rostoucí trend kromě ornitinu, jehož obsah klesal. U vzorku K16 byly statisticky významné rozdíly zjištěny v obsahu pěti volných aminokyselin (Pro, Leu, Phe, kyselina aminomáselná a Orn). Kromě ornitinu, jehož obsah u vzorku K16 s rostoucí dobou skladování klesal, byl u ostatních

výše zmíněných aminokyselin zjištěn nárůst jejich obsahu v průběhu skladování jako u vzorku K10. V ostatních vzorcích jogurtů již nebyly volné aminokyseliny stanovovány z důvodu jejich nízkého obsahu ve vzorcích jogurtů a uvedená stanovení se pohybovala na mezi detekce přístroje.

V průběhu skladovacího pokusu tedy došlo k nárůstu obsahu volných aminokyselin, což potvrzuje studie Serra *et al.*, 2009 [158]. Nemožnost detekce některých volných aminokyselin může být způsobena nejen tím, že obsah volných aminokyselin ve vzorcích jogurtů se pohybuje v mezní oblasti detekce, ale také tím, že první den skladování byl den 24 hodin po fermentačním procesu a mohlo tedy dojít ke spotřebě či přeměně těchto aminokyselin [159, 160]. Zvýšení obsahu jednotlivých aminokyselin je možné připsat enzymatické aktivitě především bakterie *L. bulgaricus*, která využívá např. aminopeptidázu C [159]. Naopak pro bakterii *S. thermophilus* je přítomnost některých aminokyselin v substrátu limitující [161]. Jednotlivé aminokyseliny jsou produkovány fermentačním procesem mléčných bakterií z jiných aminokyselin např. z argininu se tvoří ornitin (což mohlo nastat i v našem případě, kdy byl arginin celkově fermentován a byl detekován pouze ornitin), který je následně degradován na putrescin a oxid uhličitý (v našem experimentu došlo vlivem skladování k poklesu ornitinu, což je v souladu s touto degradací) [162]. K podobným degradacím dochází u serinu, který je fermentován na ethanolamin a glutaminu, který je transformován na kyselinu aminomáselnou [162].

### **Výsledky analýzy textury**

U jednotlivých vzorků jogurtů byla analyzována jejich textura měřením tvrdosti. Statisticky významné rozdíly v tvrdosti jednotlivých vzorků v průběhu skladovacího pokusu jsou uvedeny v Tab. 25. V této tabulce jsou znázorněny statisticky významné rozdíly ( $P \leq 0,05$ ) mezi vzorky bez přídatku  $\iota$ -karagenanu a s přídatkem  $\iota$ -karagenanu v rámci vzorků se stejným obsahem sušiny. Při tomto porovnání byly zjištěny statisticky významné rozdíly u výrobků K12 vs J12, K14 vs J14 a K16 vs J16 ( $P \leq 0,05$ ). Grafické znázornění dynamiky textury v průběhu skladovacího pokusu je znázorněno na Obr. 4.7.

V průběhu skladovacího pokusu došlo téměř u všech výrobků k poklesu tvrdosti. Tuto změnu si můžeme dle van Vlieta *et al.* [163] vysvětlit tím, že dochází v průběhu skladování jogurtu k různým přesmykům a synerezi kaseinové sítě. Synereze může být redukována zvýšením obsahu kaseinu v mléce [164], redukcí inkubační teploty a mírou okyselení [165], nebo též přídatkem stabilizátorů. Stabilizátory jsou v jogurtech používány nejen k redukcí synereze, ale také ke zlepšení konzistence – zvýšení viskozity [165]. Podle Tamime & Robinsona [116] jsou nejčastěji používanými



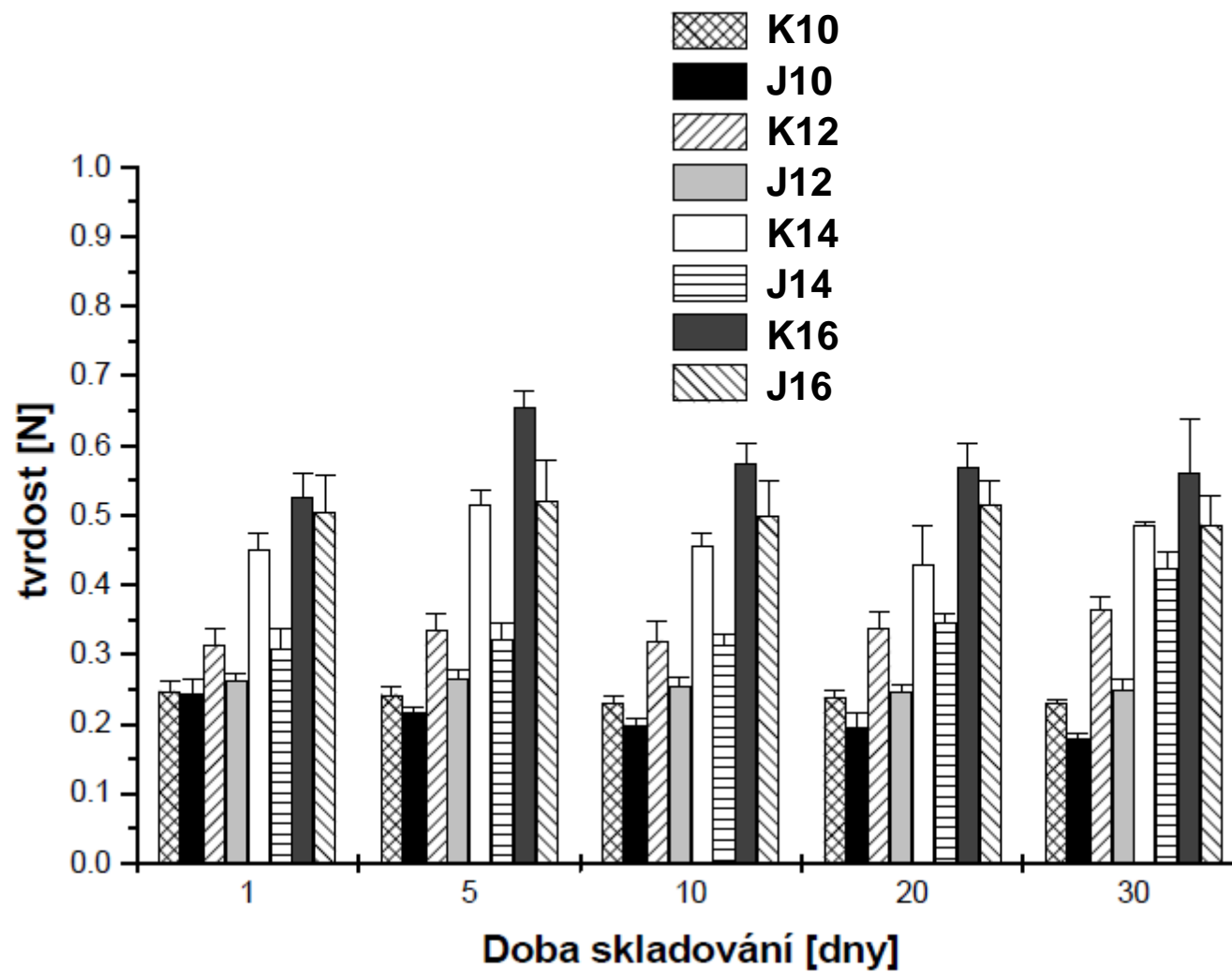
stabilizátory želatina, škrob, pektin, algináty, karagenany, deriváty methylcelulosity, arabská guma, tragant, karobová guma nebo guarová guma. V našem případě byl použit jako stabilizátor  $\iota$ -karagenan, avšak výsledkem skladovacího pokusu bylo zjištění minimálních statisticky významných rozdílů v tvrdosti mezi výrobky s přídavkem stabilizátoru a bez přídavku stabilizátoru. Dokonce byl zjištěn opačný jev, kdy výrobky s přídavkem stabilizátoru vykazovaly v průběhu skladování nižší tvrdost, než výrobky bez obsahu stabilizátoru (Tab. 25). To může být způsobeno nízkou koncentrací přídavku stabilizátoru [166-169]. V případě nízkých koncentrací některých stabilizátorů může dojít k destabilizaci kaseinových micel [169]. V řadě pilotních pokusů však v případě použití vyšší koncentrace  $\iota$ -karagenanu došlo k ještě vyšší synerezi, což potvrzuje práce Everett & McLeod [170], kdy při rostoucí koncentraci uvedených stabilizátorů (v tomto případě LM-pektinu a  $\lambda$ -karagenanu) kdy do koncentrace 1 g/l nedošlo ke změně viskozity a při vyšších koncentracích byl zjištěn pokles viskozity výrobků s přídavkem těchto stabilizátorů. Podle Hansen [171] je proto vhodné použít kombinaci stabilizátorů, kdy jako primární stabilizátor (jako např. karboxymethyl celulóza, karobová guma, alginát, guarová guma) slouží jako zahušťovadlo a druhá stabilizační složka jako např. karagenan redukuje synerezi. Použití karagenanů do fermentovaných mléčných výrobků je však omezené z důvodu nízkého pH finálního výrobku. Při příliš nízkém pH existuje nebezpečí, že dojde k rozsáhlým elektrostatickým interakcím, které by mohly mít za následek destabilizaci systému [100].

**Tab. 25** Změny tvrdosti (N) vzorků jogurtů v průběhu skladovacího pokusu; průměr ± SE

Vzorek jogurtu	Den skladování				
	1.	5.	10.	20.	30.
K10	0,248 ± 0,0136 <sup>a</sup>	0,243 ± 0,0111 <sup>a</sup>	0,231 ± 0,0085 <sup>a</sup>	0,238 ± 0,0097 <sup>a</sup>	0,230 ± 0,0062 <sup>a</sup>
J10	0,245 ± 0,0204 <sup>a</sup>	0,217 ± 0,0060 <sup>a</sup>	0,198 ± 0,0103 <sup>a</sup>	0,197 ± 0,0177 <sup>a</sup>	0,181 ± 0,0053 <sup>a</sup>
K12	0,315 ± 0,0222 <sup>a</sup>	0,335 ± 0,0247 <sup>a</sup>	0,321 ± 0,0269 <sup>a</sup>	0,337 ± 0,0230 <sup>a</sup>	0,337 ± 0,0177 <sup>a</sup>
J12	0,263 ± 0,0094 <sup>b</sup>	0,266 ± 0,0108 <sup>b</sup>	0,254 ± 0,0116 <sup>b</sup>	0,248 ± 0,0093 <sup>b</sup>	0,249 ± 0,0164 <sup>b</sup>
K14	0,452 ± 0,0221 <sup>a</sup>	0,517 ± 0,0190 <sup>a</sup>	0,455 ± 0,0189 <sup>a</sup>	0,429 ± 0,0569 <sup>a</sup>	0,417 ± 0,0049 <sup>a</sup>
J14	0,308 ± 0,0278 <sup>b</sup>	0,321 ± 0,0231 <sup>b</sup>	0,315 ± 0,0150 <sup>b</sup>	0,347 ± 0,0100 <sup>b</sup>	0,423 ± 0,0228 <sup>a</sup>
K16	0,526 ± 0,0349 <sup>a</sup>	0,654 ± 0,0254 <sup>a</sup>	0,575 ± 0,0278 <sup>a</sup>	0,568 ± 0,0344 <sup>a</sup>	0,562 ± 0,0764 <sup>a</sup>
J16	0,504 ± 0,0535 <sup>a</sup>	0,520 ± 0,0595 <sup>b</sup>	0,498 ± 0,0501 <sup>b</sup>	0,516 ± 0,0342 <sup>a</sup>	0,487 ± 0,0412 <sup>b</sup>

<sup>a-b</sup> Hodnoty ve sloupci daného řádku se stejným písmenem v horním indexu se statisticky významně neliší ( $P \leq 0,05$ )

SE ... standardní chyba



*Obr. 4.7 Dynamika změn textury vzorků jogurtů v průběhu skladovacího pokusu*

## Senzorické hodnocení panelem hodnotitelů

Pro potřeby sensorického hodnocení panelem hodnotitelů byly jednotlivé vzorky označeny kódy (Tab. 26).

*Tab. 26 Označení vzorků jogurtů pro sensorické hodnocení panelem hodnotitelů a rozdělení vzorků mezi dva panely hodnotitelů*

Kód vzorku	vzorek	hodnoceno
K10	10 % obsahu sušiny	První skupinou hodnotitelů
K12	12 % obsahu sušiny	
J10	10 % obsahu sušiny + $\iota$ -karagenan	
J12	12 % obsahu sušiny + $\iota$ -karagenan	
K14	14 % obsahu sušiny	Druhou skupinou hodnotitelů
K16	16 % obsahu sušiny	
J14	14 % obsahu sušiny + $\iota$ -karagenan	
J16	16 % obsahu sušiny + $\iota$ -karagenan	

Při sensorickém hodnocení první skupiny posuzovatelů (ve 20. i 30. den skladování) byl vzorek K12 hodnocen jako tužší než vzorek K10 analogicky byl hodnocen vzorek J12 vs. vzorek J10 ( $P \leq 0,05$ ). U testovaných dvojic vzorků K10 vs. J10 a K12 vs. J12 nebyl ve 20. den skladování prokázán statisticky významný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ). Ve 20. dnu skladování nebyly shledány statisticky významné rozdíly ani při párovém porovnání dalších vzorků při hodnocení druhé skupiny posuzovatelů. Ve 30. dnu skladování byl vzorek K16 hodnocen jako tužší než vzorek K14 a analogicky byl hodnocen vzorek J16 vs. J14 ( $P \leq 0,05$ ). U testovaných dvojic vzorků K14 vs. J14 a K16 vs. J16 nebyl ani ve 30. den skladování prokázán statisticky významný rozdíl ( $P \leq 0,05$ ).

Při hodnocení vzorků s použitím stupnic dle Kruskal-Wallisova testu byly zjištěny statisticky významné rozdíly ve 20. i 30. den skladování pouze ve sledovaném znaku konzistence ( $P \leq 0,05$ ). Ve 20. dnu skladování byl v konzistenci nejlépe hodnocen vzorek K16, ve 30. dnu skladování vzorek K12. Jako vzorek s nejhorší konzistencí byl ve 20. i 30. dnu skladování označen posuzovateli vzorek J10. Nejlépe hodnoceným vzorkem s přísadkou  $\iota$ -karagenanu ve sledovaném znaku konzistence byl vzorek J16. U dalších sledovaných parametrů, mezi které patřily chuť a vůně, přítomnost cizích příchutí a pachutí či uvolňování syrovátky nebyl ve 20. den ani 30. den skladování zjištěn statisticky významný rozdíl mezi výrobky.

Tuhost jednotlivých vzorků byla testována také pomocí pořadového testu.

První skupina hodnotitelů, která hodnotila sérii vzorků K10, K12, J10, J12 seřadila vzorky od nejtěžšího po nejméně tuhý ve 20. i 30. den skladování následovně: K12, J12, K10, J10. Dle preferencí hodnotitelů byly testované vzorky seřazeny takto: K12, K10, J10, J12 - ve 20. den skladování; K12, J12,

J10, K10 - ve 30. den skladování. Vzorek K12 byl tedy první skupinou posuzovatelů vyhodnocen dle jejich preferencí jako nejlepší.

Druhá skupina hodnotitelů, která hodnotila sérii vzorků K14, K16, J14, J16 seřadila vzorky od nejtuzšího po nejméně tuhý ve 20. den skladování následovně: J16, K16, K14, J14. Ve 30. dnu skladování se pořadí po hodnocení posuzovatelů změnilo takto: K16, J16, K14, J14. Nejdříve tedy posuzovatelé hodnotily jako nejlepší z pohledu tuhosti vzorek J16 a následně vzorek K16 a jako nejhorší byl hodnocen vzorek J14. Dle preferencí hodnotitelů byly testované vzorky seřazeny následujícím způsobem: J16, K16, K14, J14 – ve 20. den skladování a J16, K14, K16, J14 – ve 30. den skladování. Vzorek J16 byl tedy druhou skupinou posuzovatelů vyhodnocen dle jejich preferencí jako nejlepší a vzorek J14 jako nejhorší.

## 5 PŘÍNOS PRÁCE PRO VĚDU A PRAXI

Mléko a mléčné výrobky jsou významnými složkami lidské výživy. Obsahují řadu důležitých obtížně dosažitelných látek. Mléko, jako surovina prvovýroby, je podstatným faktorem ovlivňujícím druhotné zpracování v mlékárenském průmyslu. Jakost mléka ovlivňuje kvalitu následujících výrobků.

Přínos pro vědu:

- Stanovení a ověření základních informací o aminokyselinové skladbě a obsahu mastných kyselin kravského mléka po aplikaci tří druhů jadrných krmiv (kukuřice, pšenice a tritikale) v krmných dávkách dojnic.
- Získání základních informací o obsahu sensoricky aktivních látek kozího mléka po aplikaci zelené natě Bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) v krmných dávkách koz.
- Optimalizovaná metoda pro extrakci a stanovení sensoricky aktivních látek mléka včetně modifikované Likens-Nickersonovy aparatury použitelné pro extrakce širokého spektra látek.
- Stanovení a ověření optimálních dávek karagenanů (ι-karagenanu) a různé sušiny mléka při technologickém zpracování mléka – výrobě jogurtů – na jejich jakostní parametry s využitím chemických a instrumentálních metod.
- Doporučení pokračovat v dalších experimentech s přidavkem karagenanů (popř. jiných stabilizátorů, či jejich kombinací) při výrobě jogurtů.

Přínos pro praxi:

- Na základě krmného pokusu a vyhodnocení získaných ukazatelů v experimentu 1 lze doporučit záměnu kukuřice za tritikale v krmné dávce dojnic pro pozitivní vliv obilniny tritikale na produkci mléčné bílkoviny.
- Na základě krmného pokusu a vyhodnocení získaných ukazatelů experimentu 2 lze doporučit přidavek 0,1 kg zelené natě Bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) do krmné dávky koz pro pozitivní vliv na produkci mléčného tuku a také obsah sensoricky aktivních látek.
- Získání prvotních informací o preferencích spotřebitelů při hodnocení výrobků jogurtů s přidavkem a bez přidavku stabilizátoru.

## 6 ZÁVĚR

Hlavním cílem prováděných experimentů, shrnutých v disertační práci, bylo získání základních a prvotních poznatků o vlivu: (i) záměny jaderné složky krmné dávky dojníc na změnu nutričních ukazatelů mléka s důrazem na zastoupení a obsah aminokyselin a mastných kyselin v mléce, (ii) přidavku zelené natě rostliny Bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) do krmné dávky koz na změnu nutričních ukazatelů mléka s důrazem na obsah sensoricky aktivních látek a (iii) přidavku hydrokoloidu ( $\iota$ -karagenanu) či různého obsahu sušiny na změnu jakosti mléčného výrobku (jogurtu).

Pro naplnění těchto cílů byly realizovány tři experimenty (dva krmné pokusy a jeden pokus technologického zpracování mléka – výroba jogurtu). Probíhající změny byly sledovány pomocí chemických, extrakčních, chromatografických, spektroskopických, texturních a sensorických metod popsanych výše. V rámci jednotlivých částí disertační práce byly získány následující výsledky:

### EXPERIMENT 1

- Obilniny (kukuřice, pšenice, tritikale) zařazené do krmné dávky pro dojnice neovlivnily obsah tuku mléka, pouze u tritikale (kultivar Kitaro) došlo ke zvýšení mléčné bílkoviny a zároveň k lepším zdravotním ukazatelům mléčné kvality.
- Na základě obsahu aminokyselin a mastných kyselin se žádné z testovaných jaderných krmiv (pšenice, tritikale) neprojevovalo jako plnohodnotná náhrada za kukuřici.
- V obsahu mastných kyselin kravského mléka byly prokázány statisticky významné rozdíly v obsahu kyseliny pentadekanové a palmitoolejové ( $P \leq 0,05$ ).

### EXPERIMENT 2

- Zelená nat' Bazalky pravé (*Ocimum basilicum*) obsahuje 1-propen-2-ol-acetát, eukalyptol (1, 8-cineole), linalool, estragol a  $\alpha$ -bergamoten.
- Přídavek 0,1 kg zelené natě bazalky do krmné dávky koz neměl statisticky významný vliv na obsah celkové sušiny ani bílkoviny kozího mléka. Byl však prokázán pozitivní vliv na obsah tuku mléka.
- Obsah vápníku, draslíku a fosforu vykazoval v průběhu experimentu změny u kozího mléka kontrolní i experimentální skupiny.

- Mléko koz po zkrmování zelené natě bazalky obsahovalo významně vyšší množství sensoricky aktivních látek 1-oktanolu, 1-undekanolu a 2-nonanonu ( $P \leq 0,01$ ,  $P \leq 0,05$ ).

### EXPERIMENT 3

- U všech vyrobených vzorků jogurtů byl během skladování zjištěn pokles hodnot pH a to do 20. dne skladování. Ve 30. den skladování došlo u většiny výrobků k nepatrnému nárůstu hodnot pH (maximálně o 0,04 pH). Při porovnání vzorků se zvýšeným obsahem sušiny a vzorků, do kterých byl při daném obsahu sušiny ještě navíc přidán  $\iota$ -karagenan nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly ( $P \leq 0,05$ ).
- Obsah  $\alpha$  i  $\beta$  anomeru laktózy ve vybraných vzorcích jogurtů obsahujících 12 a 16 % sušiny (K12, K16) výrazněji klesal v prvních dnech skladování (1. – 5. den) ve 20. a 30. dnu skladování obsah  $\alpha$ -laktózy ve vzorcích stagnoval a  $\beta$ -laktóza nebyla již v těchto dnech skladování detekována.
- Ve všech vzorcích jogurtů, bylo stanoveno pět volných mastných kyselin (C5:0, C13:0, C14:0, C16:0 a C18:1), jejichž obsah v průběhu skladování rostl. V případě porovnání vzorků s přídavkem a bez přídavku  $\iota$ -karagenanu nejsou mezi těmito výrazné statisticky významné rozdíly ( $P \leq 0,05$ ), jedná se spíše o ojedinělé případy v jednotlivých dnech skladování s výjimkou kyseliny olejové, jejíž obsah byl ve vzorcích jogurtů s přídavkem  $\iota$ -karagenanu významně vyšší ( $P \leq 0,05$ ) než ve vzorcích bez přídavku  $\iota$ -karagenanu.
- V průběhu skladovacího pokusu došlo k nárůstu obsahu volných aminokyselin (s výjimkou ornitinu) u vybraných vzorků (obsah sušiny 10 % - K10, obsah sušiny 16 % - K16).
- Během skladovacího pokusu byly zjištěny minimální statisticky významné rozdíly v tvrdosti mezi výrobky s přídavkem  $\iota$ -karagenanu a bez přídavku  $\iota$ -karagenanu. Dokonce byl zjištěn opačný jev, kdy výrobky s přídavkem  $\iota$ -karagenanu vykazovaly v průběhu skladování nižší tvrdost, než výrobky bez obsahu  $\iota$ -karagenanu.
- První skupina posuzovatelů vyhodnotila dle tuhosti a svých preferencí jako nejlepší vzorek obsahující 12 % sušiny bez přídavku  $\iota$ -karagenanu (K12) ze čtyř posuzovaných vzorků: (i) 10 % sušiny (K10), (ii) 10 % sušiny +  $\iota$ -karagenan (J10), (iii) 12 % sušiny (K12) a (iv) 12 % sušiny +  $\iota$ -karagenan (J12).
- Druhá skupina posuzovatelů zvolila ve stejných ukazatelích (tuhost, preference) za nejlepší vzorek obsahující 16 % sušiny s přídavkem  $\iota$ -karagenanu (J16) ze čtyř posuzovaných vzorků: (i) 14 % sušiny (K14),



- (ii) 14 % sušiny +  $\iota$ -karagenan (J14), (iii) 16 % sušiny (K16) a (iv) 16 % sušiny +  $\iota$ -karagenan (J16).
- U dalších sledovaných parametrů, mezi které patřily chuť a vůně, přítomnost cizích příchutí a pachutí či uvolňování syrovátky, nebyly mezi výrobky zjištěny statisticky významné rozdíly ( $P \geq 0,05$ ).

## 7 LITERATURA

- [1] FOX, P. F., McSWEENEY, P. L. H. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic & Professional, 1998. 478 p. ISBN 0-412-72000-0
- [2] KRÁČMAR, S. *Změny nutriční hodnoty mleziva u různých druhů zvířat*. Doktorská disertační práce, UVM Košice, 2003. 173 p.
- [3] GAJDŮŠEK, S. *Laktologie*, MZLU v Brně, 2003. 78 p. ISBN 80-7157-657-3
- [4] HUI, Y. H. *Dairy science and technology handbook*, Wiley, Inc., 1993. 496 p. ISBN 1-56081-078-5
- [5] WONG, N.P. *Fundamentals of Chemistry*, Aspen Publishers, Inc., 1999. 779 p. ISBN: 0-8342-1360-5
- [6] VELÍŠEK, J., CEJPEK, K., DAVIDEK, T., MIKOVÁ, K., PÁNEK, J., POKORNÝ, J.: *Chemie potravin. Díl 1*. OSSIS, Tábor, 1999. 328 p. ISBN 978-80-86659-15-2
- [7] ZADRAŽIL, K. *Mlékařství*. ČZU v Praze a ISV Praha, 2002. 127 p. ISBN 80-86642-15-1
- [8] McMANAMAN, J. L., NEVILLE, M. C. Mammary physiology and milk secretion. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2003, vol. 55, p. 629–641.
- [9] POPLŠTEINOVÁ, I. *Vliv výživy dojnic na složení mléka*. ÚVTIZ, Praha, 1991, 6 p.
- [10] *The lactating dairy cow* [online]. [cit. 2010-08-08, 15:57 SEČ]. Dostupný z WWW:<[http://www.delaval.co.uk/Dairy\\_Knowledge/EfficientMilking/The\\_Lactating\\_Dairy\\_Cow.htm](http://www.delaval.co.uk/Dairy_Knowledge/EfficientMilking/The_Lactating_Dairy_Cow.htm)>
- [11] LEIBER, F., NIGG, D., KUNZ, C., SCHEEDER, M. R. L., WETTSTEIN, H. R., KREUZER, M. Protein composition, plasmin activity and cheesemaking properties of cows' milk produced at two altitudes from hay of lowland and high-alpine origins. *Journal of Dairy Research*. 2005, vol. 72, p. 65–74.
- [12] NG-KWAI-HANG, K. F., HAYES, J. F., MOXLEY, J. E., MONARDES, H.G. Relationship between milk protein polymorphisms and major milk constituents in Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*. 1986, vol. 69, p. 22–26.
- [13] BACHMAN, K. C., HAYEN, M. J., MORSE, D., WILCOX, C. J. Effect of pregnancy, milk yield and somatic cell count on bovine milk fat hydrolysis. *Journal of Dairy Science*. 1988, vol. 71, 925 p.

- [14] GIBSON, J. P. The potential for genetic change in milk fat composition. *Journal of Dairy Science*. 1991, vol. 74, p. 3258–3266.
- [15] NG-KWAI-HANG, K. F. Genetic polymorphisms of milk proteins: relationships with production traits, milk composition and technological properties. *Canadian Journal of Animal Science*. 1998, vol. 78, p. 131–147.
- [16] BODE, G., BEITZ, D. C., FREEMAN, A. E., LINDBERG, G. L. Effect of milk protein genotypes on milk protein composition and its genetic parametres. *Journal of Dairy Science*. 1999, vol. 82, p. 2797–2804.
- [17] GODDARD, M. Genetics to improve milk quality. *Australian Journal of Dairy Technology*. 2001, vol. 56, no. 2, p. 166–170.
- [18] KRÁČMAR, S., GAJDŮŠEK, S., JELÍNEK, P., ZEMAN, L., KOZEL, V., KOZLOVÁ, M., KRÁČMAROVÁ, E. Changes in amino acid composition of goat's colostrum during the first 72 hours after birth. *Czech Journal of Animal Science*. 1998, vol. 44, p. 541–545.
- [19] KUHN, M. T., HUTCHINSON, J. L., NORMAN, H. D. Effects of length of dry period on yields of milk fat and protein, fertility and milk somatic cell score in the subsequent lactation of dairy cows. *Journal of Dairy Research*. 2006, vol. 73, p. 154–162.
- [20] STRUSIŃSKA, D., MINAKOWSKI, D., PYSERA, B., KALINIEWICZ, J. 2006 Effects of fat-protein supplementation of diets for cows in early lactation on milk yield and composition. *Czech Journal of Animal Science*. 2006, vol. 51, p. 196–204.
- [21] HERRERA-SALDANA, R. E., HUBER, J. T., POORE, M. H. Dry matter, crude protein, and starch degradability of five cereal grains. *Journal of Dairy Science*. 1990, vol. 47, p. 2386–2393.
- [22] DEPETERS, E. J., CANT, J. P. Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. *Journal of Dairy Science*. 1992, vol. 75, p. 2043–2070.
- [23] PALMQUIST, D. L., WEISBJERG, M. R., HVELPLUND, T. Ruminant, intestinal, and total digestibilities of nutrients in cows fed diets high in fat and undegradable protein. *Journal of Dairy Science*. 1993, vol. 76, p. 1353–1364.
- [24] WU, Z. & HUBER, J. T. Relationship between dietary fat supplementation and milk protein concentration in lactating cows: a review. *Livestock Production Science*. 1994, vol. 39, p. 141–155.

- [25] DHIMAN, T. R., MACQUEEN, I. S., LUCHINI, N.D. Milk yield response of dairy cows fed fat along protein. *Animal Feed Science and Technology*. 2001, vol. 90, p. 169–184.
- [26] SEHESTED, J., KRISTENSEN, T., SOEGAARD, K. Effect of concentrate supplementation level on production, health and efficiency in an organic dairy herd. *Livestock Production Science*. 2003, vol. 80, p. 153–165.
- [27] COHEN, D. C., STOCKDALE, C. R., DOYLE, P. T. Feeding an energy supplement with white clover silage improves rumen fermentation, metabolisable protein utilisation, and milk production in dairy cows. *Australian Journal of Agricultural Research*. 2006, vol. 57, p. 367–375.
- [28] ADIN, G., SOLOMON, R., SHOSHANI, E., FLAMENBAUM, I., NIKBACHAT, M., YOSEF, E., ZENOU, A., HALACHMI, I., SHAMAY, A., BROSH, A., MABJEESH, S. J., MIRON, J. Heat production, eating behaviour and milk yield of lactating cows fed two rations differing in roughage content and digestibility under heat load conditions. *Livestock Science*. 2008, vol. 119, p. 145–153.
- [29] POZDÍŠEK, J., HANUŠ, O., VACULOVÁ, K., MIKYSKA, F., KOPECKÝ, J., JEDELSKÁ, R. Some compositional and health indicators of milk quality of dairy cows with higher milk yield at including of selected corn species into feeding ration. *Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun.* 2008, vol. LVI, p. 171–180.
- [30] MASOERO, F., MOSCHINI, M., ROSSI, F., PIVA, G. Effect of bovine somatotropin on milk production, milk quality and the cheese-making properties of Grana Padano cheese. *Livestock Production Science*. 1998, vol. 54, p. 107–114.
- [31] SINCLAIR, L.A., WILKINSON, R.G., FERGUSON, D.M.R. Effects of crop maturity and cutting height on the nutritive value of fermented whole crop wheat and milk production in dairy cows. *Livestock Production Science*. 2003, vol. 81, p. 257–269.
- [32] LEIBER, F., NIGG, D., KUNZ, C., SCHEEDER, M.R.L., WETTSTEIN, H.R., KREUZER, M. Protein composition, plasmin activity and cheesemaking properties of cows' milk produced at two altitudes from hay of lowland and high-alpine origins. *Journal of Dairy Research*. 2005, vol. 72, p. 65–74.
- [33] SÁNCHEZ, N.R., LEDIN, I. Effect of feeding different levels of foliage from *Cratylia argentea* to creole dairy cows on intake, digestibility, milk production and milk composition. *Tropical Animal Health and Production*. 2006, vol. 38, p. 343–351.

- [34] STEINSHAMN, H. & THUEN, E. White or red clover-grass silage in organic dairy milk production: Grassland productivity and milk production responses with different levels of concentrate. *Livestock Science*. 2008, vol. 119, p. 202–215.
- [35] SUTTON, J. D. Altering Milk-Composition by Feeding, *Journal of Dairy Science*. 1989, vol. 72, p. 2801–2814.
- [36] GRUMMER, R. R. Effect of feed on the composition of milk fat. *Journal of Dairy Science*. 1991, vol. 74, p. 3244–3257.
- [37] KENNELLY, J. J. The Fatty Acid Composition of Milk Fat as Influenced by Feeding Oilseeds, *Animal Feed Science and Technology*. 1996, vol. 60, p. 137–152.
- [38] ASHES, J. R., GULATI, S. K., AND SCOTT, T. W. Potential to Alter the Content and Composition of Milk Fat Through Nutrition, *Journal of Dairy Science*. 1997, vol. 80, p. 2204–2212.
- [39] JENSEN, R. G. The Composition of Bovine Milk Lipids: January 1995 to December 2000, *Journal of Dairy Science*. 2002, vol. 85, p. 295–350.
- [40] LOCK, A. L., SHINGFIELD, K. J. *Optimising Milk Composition*, in UK Dairying: Using Science to Meet Consumers' Needs (Kebreab, E., Mills, J., and Beever, D.E, eds.), Nottingham University Press, Nottingham, United Kingdom, 2004, p. 107–188.
- [41] LOCK, A. L., BAUMAN, D. E. Modifying Milk Fat Composition of Dairy Cows to Enhance Fatty Acids Beneficial to Human Health, *Lipids*. 2004, vol. 39, p. 1197–1206.
- [42] PALMQUIST, D. L., BEAULIEU, A. D., AND BARBANO, D. M. Feed and Animal Factors Influencing Milk Fat Composition, *Journal of Dairy Science*. 1993, vol. 76, p. 1753–1771.
- [43] KHORASANI, G. R., OKINE, E. K., KENNELLY, J. J., HELM, J. H. Effect of whole crop cereal grain silage substituted for alfalfa silage on performance of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 1993, vol. 76, p. 3536–3546.
- [44] KIBON, A. AND HOLMES, W. The effect of height of pasture and composition on dairy cows grazed on continuously stocked pastures. *Journal of Agricultural Science*. 1987, vol. 109, p. 293–301.
- [45] SLOAN, B. K., ROWHNSON, P. AND ARMSTRONG, D. G. A note on concentrate energy source for dairy cows in mid lactation. *Animal Production*. 1987, vol. 45, p. 321–323.
- [46] JACKSON, D.A., JOHNSON, C.L. AND FORBES, J.M. The effect of compound composition and silage characteristics on silage intake,

- feeding behaviour, production of milk and live-weight change in lactating dairy cows. *Animal Production*. 1991, vol. 52, p. 11–19.
- [47] SCHWARZ, F. J., HAFFNER, J., KIRCHGESSNER, M. Supplementation of zero-grazed dairy cows with molassed sugar beet pulp, maize or a cereal-rich concentrate. *Animal Feed Science and Technology*. 1995, vol. 54, p. 237–248.
- [48] DE VISSER, H., VAN DER TOGT, P.L. AND TAMMINGA, S. Structural and non-structural carbohydrates in concentrate supplements of silage-based dairy cow rations. 1. Feed intake and milk production. *Netherland Journal of Agricultural Science*. 1990, vol. 38, p. 487–498.
- [49] VALK, H., KLEIN POELHUIS, H. W. AND WENTINK, H. J. Effect of fibrous and starchy carbohydrates in concentrates as supplements in a herbage-based diet for high-yielding dairy cows. *Netherland Journal of Agricultural Science*. 1990, vol. 38, p. 475–486.
- [50] CROCKER, L. M., DEPETERS, E. J., FADEL, J. G., PEREZ-MONTI, H., TAYLOR, S. J., WYCKOFF, J. A., ZINN, R. A. Influence of processed corn grain in diets of dairy cows on digestion of nutrients and milk composition. *Journal of Dairy Science*. 1998, vol. 81, p. 2394–2407.
- [51] NOCEK, J. E., AND S. TAMMINGA. Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *Journal of Dairy Science*. 1991, vol. 74, p. 3598–3629.
- [52] CHEN, K. H., HUBER, J. T., THEURER, C. B., SWINGLE, R. S., SIMAS, J., CHAN, S. C., WU, Z. AND SULLIVAN, J. L. Effect of steam flaking of corn and sorghum grains on performance of lactating cows. *Journal of Dairy Science*. 1994, vol. 77, p. 1038–1043.
- [53] SIMAS, J. M., HUBER, J. T., WU, Z., CHEN, K. H., CHAN, S. C., THEURER, C. B. AND SWINGLE, R. S. Influence of steam-flaked sorghum grain and supplemental fat on performance of dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*. 1995, vol. 78, p. 1526–1533.
- [54] KNOWLTON, K. F., ALLEN, M. S., AND ERICKSON, P. S. Lasalocid and particle size of corn grain for dairy cows in early lactation. 1. Effect on performance, serum metabolites, and nutrient digestibility. *Journal of Dairy Science*. 1996, vol. 79, p. 557–564.
- [55] PLASCENCIA, A., ZINN, R. A. Influence of flake density on the feeding value of steam processed corn in diets for lactating cows. *Journal of Animal Science*. 1996, vol. 74, p. 310–316.

- [56] FREY, C. *Chemistry, analysis, and production*. In *Natural Flavors and Fragrance*. American Chemical Society, 2005. p. 3–17.
- [57] ENGEL, K-H. *Chemical and Sensory Characterization of Food Volatiles: An Overview*. In *Aroma Active Compounds in Foods*. Oxford University Press, 2001. p. 1–5. ISBN 978-0-841-23694-3
- [58] BELITZ, H. D., GROSCH, W., SCHIEBERLE, P. *Food Chemistry*. Springer-Verlag, Berlin, 2009. 481 p. ISBN 978-3-540-69933-0
- [59] HUI, Y. H., CLARK, S.: *Handbook of Food Products Manufacturing: Principles, Bakery, Beverages, Cereals, Cheese, Confectionary, Fats, Fruits, and Functional Foods*, Wiley, Inc., 2007. 1131 p. ISBN 978-0-470-12524-3
- [60] MARIACA, R., BOSSET, J. O. Instrumental analysis of volatile (flavour) compounds in milk and dairy products. *Lait*. 1997, vol. 77, p. 13–40.
- [61] KOVÁČ, M. a kol.: *Výživa a kŕmenie hospodárskych zvierat*. Príroda, Bratislava, 1989. 522 p. ISBN 80-07-00030-5
- [62] URBACH, G. The flavor of milk and dairy products: II. Cheese: contribution of volatile compounds. *International Journal of Dairy Technology*. 1997, vol. 50, no. 3, p. 79–89.
- [63] ANDO, S., NISHIDA, T., ISHIDA, M., KOUCHI, Y., KAMI, A., SE, S. Transmission of herb essential oil to milk and change of milk flavor by feeding dried herbs to lactating Holstein cows. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*. 2001, vol. 48, no. 2, p. 142–145.
- [64] ANDO, S., NISHIDA, T., ISHIDA, M., HOSODA, K., BAYARU, E. Effect of peppermint feeding on the digestibility, ruminal fermentation and protozoa. *Livestock Production Science*. 2003, vol. 82, p. 245–248.
- [65] COLLOMB, M., BÜTIKOFER, U., SIEBER, R., JEANGROS, B., BOSSET, J-O. Correlation between fatty acids in cows' milk fat produced in the Lowlands, Mountains and Highlands of Switzerland and botanical composition of the fodder. *International Dairy Journal*. 2002, vol. 12, p. 661–666.
- [66] MARTIN, B., PRIOLO, A., VALVO, M. A., MICOL, D., COULON, J. B. Effects of grass feeding in milk, cheese and meat sensory properties. *Options Méditerranéennes*. 1991, vol. 67, p. 213–233.
- [67] TIPU, M. A., AKHTAR, M. S., ANJUM, M. I., RAJA, M. L. New dimension of medicinal plants as animal feed. *Pakistan Veterinary Journal*. 2006, vol. 26, no. 3, p. 144–148.

- [68] ROCHFORT, S., PARKER, A. J., DUNSHEA, F. R. Plant bioactives for ruminant health and productivity. *Phytochemistry*. 2008, vol. 69, p. 299–322.
- [69] MOIO, L., DEKIMPE, J., ETIEVANT, P., ADDEO, F. Neutral volatile compounds in the raw milks from different species. *Journal of Dairy Research*. 1993, vol. 60, p. 199–213.
- [70] FRIEDRICH, J. E., ACREE, T. E. Gas chromatography olfactometry (GC/O) of dairy products. *International Dairy Journal*. 1998, vol. 8, p. 235–241.
- [71] PARK, Y. W., JUÁREZ, M., RAMOS, M., HAENLEIN, G. F. W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 2006, vol. 68, p. 88–113.
- [72] SEHOVIC, J. Secondary metabolites in some plants of grassland forages. *Recherche Agronomique Suisse*. 1988, vol. 27, p. 153–165.
- [73] SEHOVIC, J. Consideration on the chemical composition in the quality estimation of the natural grassland forages. *Recherche Agronomique Suisse*. 1991, vol. 23, p. 305–310.
- [74] BUSHARA, K. O., GOLDSTEIN, S. R., GRIMES JR., G. J., BURSTEIN, A. H., HALLETT, M. Pilot trial of 1-octanol in essential tremor. *Neurology*. 2004, vol. 62, No. 1, p. 122–124.
- [75] BURDOCK, G. A. *Encyclopedia of Food and Color Additives*. CRC Press. 1997. 2879 p. ISBN 978-0-84939416-4
- [76] BERARD, J., BIANCHI, F., CARERI, M., CHATEL, A., MANGIA, A., MUSCI, M. Characterization of the volatile fraction and of free fatty acids of "Fontina Valle d'Aosta", a protected designation of origin Italian cheese. *Food Chemistry*. 2007, vol. 105, p. 293–300.
- [77] NURSTEN, H. E. The flavour of milk and dairy products: I. Milk of different kinds, milk powder, butter and cream. *International Journal of Dairy Technology*. 1997, vol. 50, no. 2, p. 48–56.
- [78] BADINGS, H. T., NEETER, R. Recent advances in the study of aroma compounds of milk and dairy products. *Netherlands Milk and Dairy Journal*. 1980, vol. 34, p. 9–30.
- [79] SCHIEBERLE, P., GASSENMEIER, K., GUTH, H. SEN, A., GROSCH, W. Character impact odour compounds of diVerent kinds of butter. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*. 1993, vol. 26, p. 347–356.
- [80] BENDALL, J. G. Aroma compounds of fresh milk from New Zealand cows fed diVerent diets. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 2001, vol. 49, p. 4825–4832.



- [81] WIDDER, S., SEN, A., GROSCH, W. Changes in the Flavour of butter oil during storage – Identification of potent odorants. *Z. Lebensmittel-Untersuchung und –Forschung*. 1991, vol. 193, p. 32–35.
- [82] SIEK, T. J., ALBIN, J.A., SATHER, L. A., LINDSAY, R. C. Taste thresholds of butter volatiles in deodourized butter oil medium. *Journal of Food Science*. 1969, vol. 34, p. 265–267.
- [83] FOX, P. F., MCSWEENEY, P. L. H. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 2 - Lipids* (3rd Edition). Springer – Verlag, 2006. 801 p. ISBN 978-0-387-26364-9
- [84] HAUG, A., HOSTMARK, A. T., HARSTAD, O. M. Bovine milk n human nutrition – a review. *Lipids in Health and Disease*. 2007, vol. 6, no. 25, p. 1–16.
- [85] JAUHAINEN, T., KORPELA, R. Milk peptides and blood pressure. *Journal of Nutrition*. 2007, vol. 137, p. 825–829.
- [86] PIHLANTO, A. Antioxidative peptides derived from milk proteins. *International Dairy Journal*. 2006, vol. 16, p. 1306–1314.
- [87] JIMÉNEZ, A. M., MURCIA, M. A., PARRAS, P., MARTÍNEZ-TOMÉ, M. On the importance of adequately choosing the ingredients of yoghurt and enriched milk for their antioxidant activity. *International Journal of Food Science and Technology*. 2008, vol. 43, p. 1464–1473.
- [88] TOBA, Y., TAKADA, Y., YAMAMURA, J., TANAKA, M., MATSUOKA, Y., KAWAKAMI, H., ITABASHI, A., AOE, S., KUMEGAWA, M. Milk basic protein: A novel protective function of milk against osteoporosis. *Bone*. 2000, vol. 27, no. 3, p. 403–408.
- [89] ŠTÍPKOVÁ, J.: Historie průmyslové výroby kysaných výrobků – jogurtů – od nového produktu z 30.let 20.století k dnešku, *Potravinářský zpravodaj*, 2007, no. 3.
- [90] Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb., ve znění pozdějších předpisů, kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje.
- [91] SMIT, G. *Controlling the texture of fermented dairy products, Dairy processing*, Woodhead Publishing, Germany, 2003. 546 p. ISBN 1-85573-676-4
- [92] KADLEC, P. *Technologie potravin II*, skriptá VŠCHT Praha, 2002. 236 p. ISBN 80-7080-510-2
- [93] HYLMAR, B. *Výroba kysaných mléčných výrobků*, SNTL, Praha, 1986. 209 p.

- [94] GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství*, skripta MZLU, Brno, 1998.
- [95] ČERMÍNOVÁ, N. *Čisté mlékařské kultury: výroba, kontrola, použití* SNTL, Praha, 1984. 295 p.
- [96] LUKÁŠOVÁ, J. *Hygiena a technologie mléčných výrobků*, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2001.
- [97] ČURDA, L., HOLUBOVÁ, J., RUDOLFOVÁ, J., NĚMEČKOVÁ, I. *Stabilita galaktooligosacharidů ve fermentovaných mléčných výrobcích a jejich vliv na probiotické kultury*, [online]. [cit. 2010-09-11]. Dostupný z WWW: <http://www.institut-danone.cz/data/studie/pridelene-granty/2004-04.pdf>
- [98] KALÁB, M., EMMONS, D. B., SARGANT, A. G. Milk gel structure – IV. Microstructure of yoghurts in relation to the presence of thickening agents. *Journal of Dairy Research*. 1975, vol. 42, p. 453–458.
- [99] TAMIME, A. *Structure of Dairy Products*, Blackwell Publishing Ltd, Ayr, United Kingdom, 2007. 304 p. ISBN 978-140-512-975-6
- [100] PHILLIPS G. O., WILLIAMS P. A. *Handbook of hydrocoloids*, Woodhead Publishing Ltd, Cambridge, England, 2000. 472 p. ISBN 978-0-849-30850-5
- [101] NUSSINOVITCH, A. *Hydrocolloid Applications: gum technology in the food and other industries*. Springer – Verlag, 1997. 354 p. ISBN 978-0-412-62120-8
- [102] ZOURARI, A., ACCOLAS, J. P., DESMAZEAUD, M. J. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review, *Lait*. 1992, vol. 72, p. 1–34.
- [103] LAW, B., A., KOLSTAD, J. Proteolytic systems in lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*. 1983, vol. 49, p. 225–245.
- [104] HRČKOVÁ, M. ŠTURDÍK, E., MALAR, T. a ZEMANOVIČ, J. Biochemické vlastnosti proteolytických enzymů, *Chemické listy*. 2004, vol. 98.
- [105] BESHKOVA, D., M., SIMOVA, E., D., FRENGOVA, G., I., SIMOV, Z., I., ADILOV, E., F. Production of amino acids by yogurt bacteria, *Biotechnology Progress*. 1998, vol. 14, p. 963–965.
- [106] SLOCUM, S., A., JASINSKI, E., M., KILARA, A. Processing variables affecting proteolysis in yogurt during incubation, *Journal of Dairy Science*. 1988, vol. 71, p. 589–595.

- [107] SHIHATA, A., SHAH, N., P. Proteolytic profiles of jogurt and probiotic bacteria, *International Dairy Journal*. 2000, vol. 10, p. 401–408.
- [108] MARTIN, R. A., MOSS, M. O. *Food Microbiology*. RSC Publishing, 2008. 477 p. ISBN 978-0-85404-284-5
- [109] SAMET-BALI, O., BELLILA, A., AYADI, M.-A., MARZOUK, B., ATTA, H. A comparison of the physicochemical, microbiological and aromatic composition of traditional and industrial leben in Tunisia. *International Journal of Dairy Technology*. 2010, vol. 63, no. 1, p. 98–104.
- [110] OTT, A., GERMOND, J.-E., CHAINTREAU, A. Origin of acetaldehyde during milk fermentation using <sup>13</sup>C-labeled precursors. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2000, vol. 48, p. 1512–1517.
- [111] LIU, S.-Q., HOLLAND, R., CROW, V. L. Esters and their biosynthesis in fermented dairy products: a review. *International Dairy Journal*. 2004, vol. 14, p. 923–945.
- [112] OTT, A., FAY, L.-B., CHAINTREAU, A. Determination and origin of the aroma impact compounds of yougurt flavor. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 1997, vol. 45, p. 850–858.
- [113] HELINCK, S., BARS, S., MOREAU, D., YVON, M. Ability of thermophilic lactic acid bacteria to produce aroma compounds from amino acids. *Applied and Environmental Microbiology*. 2004, vol. 70, no. 7, p. 3855–3861.
- [114] FOX, P.F., McSWEENEY, P.L.H., COGAN, T.M. GUINEE, T.P. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Volume 1 General Aspects*. 3<sup>rd</sup> edition. London: Elsevier Academic Press, 2004. ISBN 0-1226-3652-X
- [115] SMITH, G., SMITH, B.A., ENGELS, W. J.M. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*. 2005, vol. 29, p. 591–610.
- [116] TAMIME, A., ROBINSON, R. *Yoghurt: Science and Technology*. 2nd ed., reprinted 2001. Boca Raton, FL: CRC Press, 2001. 619 p. ISBN 978-0-849-31785-9
- [117] POZDÍŠEK, J., VACULOVÁ, K. Study of wheat (*Triticum aestivum* L.) quality for feeding ruminants using *in vitro* and *in vivo* methods. *Czech Journal of Animal Science*. 2008, vol. 53, p. 253–264.
- [118] KRÁČMAR, S., LIŠKA, I., MINAŘÍK, B., ZBÍRAL, J. Amino acid determination in standard solution and feed mixture: an

intralaboratory study. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae Mendeliana Brunensis*. 2000, vol. 48, p. 69–79.

- [119] BUŇKA, F., KŘÍŽ, O., VELIČKOVÁ, A., BUŇKOVÁ, L., KRÁČMAR, S. Effect of acid hydrolysis time on amino acid determination in casein and processed cheeses with different fat content. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2009, vol. 22, p. 224–232.
- [120] Commission Regulation (EC) No 152/2009 of 27 January 2009 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed. *Official Journal L*, vol. 54, p. 1–130.
- [121] ČSN ISO 6731, *Mléko, smetana a zahuštěné neslazené mléko – Stanovení obsahu celkové sušiny (Referenční metoda)*. Český normalizační institut, Praha, 1997.
- [122] LYNCH J. M., BARBANO D. M., FLEMING J. R. Determination of the Total Nitrogen Content of Hard, Semihard and Processed cheese by the Kjeldahl Method: Collaborative Study, *Journal of AOAC International*. 2002, vol. 85, no. 2, p. 445–455.
- [123] SUTER B., GROB K., PACCIARELLI B. Determination of fat content and fatty acid composition through 1-min transesterification in the food sample; principles. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*. 1997, vol. 204, p. 252–258.
- [124] AUED-PIMENTEL, S., KUS, M. M. M., KUMAGAI, E. E., RUVIERI, V., ZENEBON, O. Comparison of gas chromatographic and gravimetric methods for quantification of total fat and fatty acids in foodstuffs. *Química Nova*. 2010, vol. 33, p. 76–84.
- [125] OZCAN, M; ARSLAN, D; UNVER, A. Effect of Drying Methods on the Mineral Content of Basil (*Ocimum Basilicum L.*). *Journal of Food Engineering*. 2005, vol. 69, no. 3, p. 375–379.
- [126] CHAINTREAU, A. Simultaneous distillation-extraction: from birth to maturity – review, *Flavour and Fragrance Journal*. 2001, vol. 16, p. 136–148.
- [127] DE JONG, C., BADINGS, H. T. Determination of free fatty acids in milk and cheese. Procedure for extraction, clean up, and capillary gas chromatographic analysis. *Journal of High Resolution Chromatography*. 1990, vol. 13, p. 94–98.
- [128] PATTON, S. Gas chromatographic analysis of flavor in processed milks. *Journal Series of the Pennsylvania Agricultural Experiment Station*. 1960, no. 2455, p. 207–214.

- [129] BUŇKOVÁ, L., BUŇKA, F., HLOBILOVÁ, M., VAŇÁTKOVÁ, Z., NOVÁKOVÁ, D., DRÁB, V. Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*. *European Food Research and Technology*. 2009, vol. 229, p. 533–538.
- [130] LI, B. W., SCHUHMAN, P. J., HOLDEN, J. M. Determination of Sugars in Yogurt by Gas-Liquid Chromatography. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 1983, vol. 31, p. 985–989.
- [131] ROJAS-ESCUADERO, E., ALARCÓN-JIMÉNEZ, A. L., ELIZALDE-GALVÁN, P., ROJO-CALLEJAS, F. Optimization of carbohydrate silylation for gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2004, vol. 1027, p. 117–120.
- [132] CHIESA, L. M., et al. Gas chromatographic determination of galactose in milk Example of a switching valve used for the protection of the capillary column. *Journal of Chromatography A*. 1999, vol. 847, p. 47–51.
- [133] ČSN ISO 8586-1, Senzorická analýza – Obecná směrnice pro výběr, výcvik a sledování činnosti posuzovatelů – Část 1: Vybraní posuzovatelé. Český normalizační institut, Praha, 2003.
- [134] ČSN ISO 8589, Senzorická analýza. Obecná směrnice pro uspořádání senzorického pracoviště. Český normalizační institut, Praha, 2008.
- [135] SNEDECOR, G. W., COCHRAN, W. G. *Statistical Methods*. Iowa: 6<sup>th</sup> edition Iowa State University Press, 1967. 534 p.
- [136] HERRERA-SALDANA, R.E., HUBER, J.T., POORE, M.H. Dry matter, crude protein, and starch degradability of five cereal grains. *Journal of Dairy Science*. 1990, vol. 47, p. 2386–2393.
- [137] OWENS, F. N., SECRIST, D.S., HILL, W.J., GILL, D.R. The effect of braun source and braun processing on performance of feedlot cattle: A review. *Journal of Animal Science*. 1997, vol. 75, p. 868–879.
- [138] ZEMAN, L., ŠIMEČEK, K., KRÁSA, A., et al. Katalog krmiv (tabulky výživné hodnoty krmiv). Česká akademie zemědělských věd. VÚVZ Pohořelice, Czech Republic, 1995. 465 p. ISBN 80-901598-3-4
- [139] PRICE, P. B., PARSONS, J. G. Lipids of seven cereal grains, *Journal of the American oil chemists' society*. 1975, vol. 52, p. 490–493.
- [140] RYAN, E., GALVIN, K., O'CONNOR, T. P., MAGUIRE, A. R., O'BRIEN, N. M. Phytosterol, squalene, tocopherol, content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2007, vol. 62, p. 85–91.

- [141] LIU, K. Comparison of lipid content and fatty acid composition and their distribution within seeds of 5 small grain species. *Journal of Food Science*. 2011, vol. 76, p. C334–C342.
- [142] HAWKE, J. C., TAYLOR, M. W. Influence of nutritional factors on the yield, composition and physical properties of milk fat. In *Advanced Dairy Chemistry*, London, 1995, p. 37–87.
- [143] WIJESUNDERA, CH., SHEN, Z., WALES, W. J., DALLEY, D. E. Effect of cereal grain and fibre supplements on the fatty acid composition of milk fat of grazing dairy cows in early lactation. *Journal of Dairy Research*. 2003, vol. 70, p. 257–265.
- [144] JENKINS, T. C., MCGUIRE, M. A. Major advances in nutrition: Impact on milk composition. *Journal of Dairy Science*. 2006, vol. 89, p. 1302–1310.
- [145] BROUDISCOU, L. P., CORNU, A., ROUZEAU, A. *In vitro* degradation of 10 mono- and sesquiterpenes of plant origin by caprine rumen micro-organisms. *Journal of the science of food and agriculture*. 2007, vol. 87, no. 9, p. 1653–1658.
- [146] MALECKY, M., FEDELE, V., BROUDISCOU, L. *In vitro* degradation by mixed rumen bacteria of 17 mono- and sesquiterpenes typical of winter and spring diets of goats on Basilicata rangelands (southern Italy).” *Journal of the science of food and agriculture*. 2009, vol. 89, no. 3, p. 531–536.
- [147] MALECKY, M., BROUDISCOU, L. P. Disappearance of nine monoterpenes exposed *in vitro* to the rumen microflora of dairy goats: Effects of inoculum source, redox potential, and vancomycin. *Journal of Animal Science*. 2009, vol. 87, no. 4, p. 1366–1373.
- [148] KUDRNA, V. a kol. *Produkce krmiv a výživa skotu*. Agrospoj Praha, 1998. 362 p. ISBN 80-239-4241-7
- [149] MCSWEENEY, P. L. H., FOX, P. F. *Advanced Dairy Chemistry, Volume 3 - Lactose, Water, Salts and Minor Constituents* (3rd Edition). Springer – Verlag, 2009. 825 p. ISBN 978-0-387-84864-8
- [150] MINÁŘOVÁ, Alena. *Stanovení obsahu laktózy v jogurtech v závislosti na době skladování Stanovení obsahu laktózy v jogurtech v závislosti na době skladování*. Zlín, 2011. 94 p. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [151] CHOI, R. P., TATTER, C. W., O’MALLEY, C. M., FAIFBANKY, B. W. A solubility method for the determination of alpha and beta lactose in dry products of milk. *Journal of Dairy Science*. 1949, vol. 32, p. 391–397.

- [152] ALM, L. Effect of Fermentation on Lactose, Glucose, and Galactose Content in Milk and Suitability of Fermented Milk Products for Lactose Intolerant Individuals. *Journal of Dairy Science*. 1982, vol. 65, p. 346–352.
- [153] MANOLOPOULOU, E., SARANTINOPOULOS, P., ZOIDOU, E., AKTYPIS, A., MOSCHOPOULOU, E., KANDARAKIS, I. Evaluation of microbial populations during traditional Feta cheese manufacture and ripening. *International Journal of Food Microbiology*. 2003, vol. 82, p. 153–161.
- [154] RYCHLIK, M., SAX, M., SCHIEBERLE, P. On the role of short-chain free fatty acids for the development of a cheese-like off-note in pasteurized yoghurt. *LWT - Food Science and Technology*. 2006, vol. 39, p. 521–527.
- [155] RAO D. R., REDDY J. C. Effect of lactic fermentation of milk on milk lipids, *Journal of Food Science*. 1984, vol. 49, p. 748–750.
- [156] GÜLER, Z. Changes in salted yoghurt during storage. *International Journal of Food Science and Technology*. 2007, vol. 42, p. 235–245.
- [157] REGULA, A. Free fatty acid profile of fermented beverages made from ewe's milk. *Lait*. 2007, vol. 87, p. 71–77.
- [158] SERRA, M., TRUJILLO, A. J., GUAMIS, B., FERRAGUT, V. Proteolysis of yogurts made from ultra-high-pressure homogenized milk during cold storage. *Journal of Dairy Science*. 2009, vol. 92, p. 71–78.
- [159] CHRISTENSEN, J., E., DUDLEY, E., G., PEDERSON, J., A., STEELE, J., L., Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*. 1999, vol. 76, p. 217–246.
- [160] SIMOVA, E., SIMOV, Z., BESHKOVA, D., FRENGOVA, G., DIMITROV, Z., SPASOV, Z. Amino acid profiles of lactic acid bacteria, isolated from kefir grains and kefir starter made from them. *International Journal of Food Microbiology*. 2006, vol. 107, p. 112–123.
- [161] GUIMONT, CH. Change of free amino acids in M17 medium after growth of *Streptococcus thermophilus* and identification of a glutamine transport ATP-binding protein. *International Dairy Journal*. 2002, vol. 12, p. 729–736.
- [162] JACKSON, R. S. *Wine science: Principles, practice, perception* [online]. London: Elsevier, 2000. 645 p. [cit. 2011-09-21]. Dostupné z WWW:<<http://www.sciencedirect.com/science/book/978012379062>>. ISBN 978-012-379062-0

- [163] VAN VLIET, T., LUCEY, J. A., GROLLE, K., WALSTRA, P. *Rearrangements in acid-induced casein gels during and after gel formation*. In E. Dickinson, & B. Bergenstahl (Eds.), *Food colloids: proteins, lipids and polysaccharides*, Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 1997. p. 335–345.
- [164] FISZMAN, S. M., LLUCH, M. A., SALVADOR, A. Effect of addition of gelatin on microstructure of acidic milk gels and yoghurt and on their rheological properties. *International Dairy Journal*. 1999, vol. 9, p. 895–901.
- [165] LUCEY, J. A. Formation and physical properties of milk protein gels. *Journal of Dairy Science*. 2002, vol. 85, p. 281–294.
- [166] LANGENDORFF, V., CUVELIER, G., LAUNAY, B., MICHON, C., PARKER, A., DE KRUIF, C. G. Casein micelle/iota carrageenan interactions in milk: influence of temperature. *Food Hydrocolloids*. 1999, vol. 13, p. 211–218.
- [167] LANGENDORFF, V., CUVELIER, G., LAUNAY, B., PARKER, A. Gelation and flocculation of casein micelle/carrageenan mixtures. *Food Hydrocolloids*. 1997, vol. 11, p. 35–40.
- [168] MAROZIENE, A., DE KRUIF, C. G. Interaction of pectin and casein micelles. *Food Hydrocolloids*. 2000, vol. 14, p. 391–394.
- [169] SYRBE, A., BAUER, W. J., KLOSTERMEYER, H. Polymer science concepts in dairy systems – an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. *International Dairy Journal*. 1998, vol. 8, p. 179–193.
- [170] EVERETT, D. W., MCLEOD, R. E. Interactions of polysaccharide stabilizers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. *International Dairy Journal*. 2005, vol. 15, p. 1175–1183.
- [171] HANSEN, P. M. T. *Food hydrocolloids in the dairy industry*. In K. Nishinari, & E. Doi (Eds.), *Food hydrocolloids: structures, properties and functions*, New York: Plenum Press, 1993. p. 211–224.



## 8 SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORA

### Příspěvky v časopisech s impakt faktorem

ŠÍPALOVÁ, M., LOŠÁK, T., HLUŠEK, J., VOLLMANN, J., HUDEC, J., FILIPČÍK, R., MACEK, M., KRÁČMAR, S.: Fatty acid composition of *Camelina sativa* as affected by combined nitrogen and sulphur fertilisation. *African Journal of Agricultural Research*. 2011, vol. 6, no. 16, p. 3919–3923. ISSN 1991-637X

### Příspěvky v recenzovaných časopisech

ŠÍPALOVÁ, KRÁČMAR, S.: Aroma active compounds in milk from goat fed basil (*Ocimum basilicum*). *Acta universitatis agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis*. 2011, vol. 59, no. 3, p. 171–178. ISSN 1211-8516

ŠÍPALOVÁ, M., HANUŠ, O., BUŇKA, F., POZDÍŠEK, J., MRKVIČKA, V., KRÁČMAR, S.: The effect of selected cereals contained in feed ration on the amino acid composition of cows' milk. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae Mendelianae Brunensis*. 2010, vol. 58, no. 5, p. 369–376. ISSN 1211-8516

### Příspěvky v recenzovaných sbornících z konferencí ve světovém jazyce

ŠÍPALOVÁ, M., SLAVÍK, R., KRÁČMAR, S.: Chosen nutritional values of goat milk after *Ocimum basilicum* application in feeding ration. In. *Zborník prací z V. Vedeckej konferencie doktorandov s medzinárodnou účasťou pri príležitosti Európskeho týždňa vedy, 26. November 2010*, SPU Nitra, p. 346–349. ISBN 978-80-552-0471-0

ŠÍPALOVÁ, M., BUŇKA, F., MRKVIČKA, V., HOZA, I., KRÁČMAR, S. 2009. Content of essentials and nonessential amino acids in wheat and triticale grains. In. *Zborník prací z mezinárodní vědecké konference Bezpečnost a kontrola potravin. 1. – 2.4.2009*, SPU Nitra, p. 263–266. ISBN 978-80-552-0193-1

ŠÍPALOVÁ, M., MRKVIČKA, V., KRÁČMAR, S. 2009. Nonessential amino acid composition of cows' milk affected by different cereals in feed ration. In. *Zborník prací z Stretnutie mladých vedeckých pracovníkov v potravinárstve v dňoch 3. – 4. december 2009*. SPU Nitra. p. 59–63. ISBN 978-80-552-0317-1

ŠÍPALOVÁ, M., PACHLOVÁ, V., BUŇKOVÁ, L., KRÁČMAR, S., BUŇKA, F. 2008. The Low Molecular Proteins Like The Allergens of The Bovine Milk. In. *Zborník prednášok z medzinárodnej vedeckej konferencie Dni výživy a veterinárnej dietetiky VIII*. Univerzita veterinárskeho lekárstva Košice. ISBN 978-80-8077-080-8

VOJTÍŠKOVÁ, P., HLADKÁ, K., PACHLOVÁ, V., ŠÍPALOVÁ, M., HOZA, I., KRÁČMAR, S. 2009. Dynamics of changes in the content of macro- and microelements in sheep colostrum during 72 hours after parturition. In. *Zborník prací z mezinárodní vědecké konference Bezpečnost a kontrola potravin. 1.-2.4.2009*, SPU Nitra, p. 140–143. ISBN 978-80-552-0193-1

**Příspěvky v recenzovaných sbornících z konferencí v jiném než světovém jazyce**

ŠÍPALOVÁ, M., BUŇKA, F., KRÁČMAR, S. 2008. Dynamika změn obsahu aminokyselin kravského mléka v závislosti na dnu laktace. In. *Proteiny 2008*, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, s. 175–179. ISBN 978-80-7318-706-4

ŠÍPALOVÁ, M., BUŇKOVÁ, L., PACHLOVÁ, V., KRÁČMAR, S. 2008. Alergeny kravského mleziva a mléka stanovené metodou SDS-page. In. *Dni výživy zvířat. Zborník příspěvků z vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou*, SPU Nitra, s. 216–220. ISBN 978-80-552-0072-9

## 9 CV AUTORA

### OSOBNÍ ÚDAJE

<i>Jméno a příjmení</i>	<b>Ing. MARKÉTA ŠÍPALOVÁ</b>
<i>Bydliště</i>	Bezručova 19, Bochoř 309, 750 02, Přerov
<i>E-mail</i>	sipalova@ft.utb.cz
<i>Národnost</i>	česká
<i>Datum narození</i>	14.10.1983

### VZDĚLÁNÍ

2008 – dosud	doktorské studium v oboru Technologie potravin Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická
2006 – 2008	Ing. Obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická
2003 – 2006	Bc. Obor: Chemie a technologie potravin Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická
1999 – 2003	maturita Aplikovaná chemie – Ochrana životního prostředí SPŠ Otrokovice

### DOVEDNOSTI

<i>Jazykové znalosti</i>	Anglický jazyk – aktivně - pokročile Německý jazyk – aktivně - pokročile
<i>Práce s PC</i>	Znalost MS Office (Word, Excel, Powerpoint, Outlook)
<i>Řidičský průkaz</i>	skupiny B

## 10 SEZNAM PŘÍLOH

**Příloha A:** Dotazník pro sensorické hodnocení jogurtů první skupinou posuzovatelů

**Příloha B:** Dotazník pro sensorické hodnocení jogurtů druhou skupinou posuzovatelů

**Příloha C:** Dynamika změn obsahu volných mastných kyselin ve vzorcích jogurtů v průběhu skladovacího pokusu

**Příloha A:** Dotazník pro senzoričké hodnocení jogurtů první skupinou posuzovatelů

## DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ JOGURTŮ

**Jméno, Příjmení:**

**Datum:**

**Čas:**

**Hodnocení s použitím stupnice:**

Proveďte hodnocení následujících senzoričkých znaků, dle přiložené stupnice: konzistence, chuť a vůně, cizí pachy, uvolnění syrovátky.

Kód vzorku	Konzistence	Chuť a vůně	Cizí pachy	Uvolnění syrovátky
A				
B				
C				
D				

Seřaďte předložené vzorky dle tuhosti (1 – nejtužší, 4 – nejméně tuhý)

Kód vzorku	A	B	C	D
Pořadí vzorku				

### Rozdílová zkouška

Který z uvedených vzorků je více tuhý: A nebo B .....

Který z uvedených vzorků je více tuhý: A nebo C .....

Který z uvedených vzorků je více tuhý: B nebo D .....

Který z uvedených vzorků je více tuhý: C nebo D .....

Seřad'te předložené vzorky dle preferencí (1 – nejlepší, 4 – nejhorší)

<b>Kód vzorku</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>Preference vzorku</b>				

## **STUPNICE PRO HODNOCENÍ JOGURTŮ:**

### **1. Konzistence:**

- 1) velmi tuhý, hutný
- 2) tuhý
- 3) mírně tužší
- 4) standardní tuhost
- 5) mírně řidký, stále soudržný
- 6) více řidký, méně soudržný
- 7) rozbředlý, nesoudržný

### **2. Chuť a vůně:**

- 1) velmi příjemná, typická pro daný výrobek
- 2) typická, dosti příjemná
- 3) průměrná, ještě příjemná
- 4) téměř nevyhovující, téměř nepříjemná
- 5) nevyhovující, nepříjemná, netypická pro daný výrobek

### **3. Přítomnost cizích příchutí a pachutí:**

- 1) bez přítomnosti
- 2) velmi slabá, vyhovující
- 3) slabá, vyhovující
- 4) mírná, ale ještě vyhovující
- 5) mírně vyšší, ale stále ještě vyhovující
- 6) vyšší, téměř nevyhovující
- 7) vysoká přítomnost, nevyhovující

### **4. Uvolňování syrovátky:**

- 1) neuvolňuje se
- 2) velmi slabě
- 3) slabé uvolnění
- 4) mírně se uvolňuje, ještě vyhovující
- 5) mírně vyšší
- 6) vysoké, téměř nevyhovující
- 7) zcela uvolněná, nevyhovující

**Příloha B:** Dotazník pro sensorické hodnocení jogurtů druhou skupinou posuzovatelů

## DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ JOGURTŮ

**Jméno, Příjmení:**

**Datum:**

**Čas:**

**Hodnocení s použitím stupnice:**

Proveďte hodnocení následujících sensorických znaků, dle přiložené stupnice: konzistence, chuť a vůně, cizí pachy, uvolnění syrovátky.

Kód vzorku	Konzistence	Chuť a vůně	Cizí pachy	Uvolnění syrovátky
E				
F				
G				
H				

Seřad'te předložené vzorky dle tuhosti (1 – nejtušší, 4 – nejméně tuhý)

Kód vzorku	E	F	G	H
Pořadí vzorku				

### Rozdílová zkouška

Který z uvedených vzorků je více tuhý: E nebo F .....

Který z uvedených vzorků je více tuhý: E nebo G .....

Který z uvedených vzorků je více tuhý: F nebo H .....

Který z uvedených vzorků je více tuhý: G nebo H .....

Seřadte předložené vzorky dle preferencí (1 – nejlepší, 4 – nejhorší)

Kód vzorku	E	F	G	H
Preference vzorku				

## STUPNICE PRO HODNOCENÍ JOGURTŮ:

### 1. Konzistence:

- 1) velmi tuhý, hutný
- 2) tuhý
- 3) mírně tužší
- 4) standardní tuhost
- 5) mírně řídký, stále soudržný
- 6) více řídký, méně soudržný
- 7) rozbředlý, nesoudržný

### 2. Chut' a vůně:

- 1) velmi příjemná, typická pro daný výrobek
- 2) typická, dosti příjemná
- 3) průměrná, ještě příjemná
- 4) téměř nevyhovující, téměř nepříjemná
- 5) nevyhovující, nepříjemná, netypická pro daný výrobek

### 3. Přítomnost cizích příchutí a pachutí:

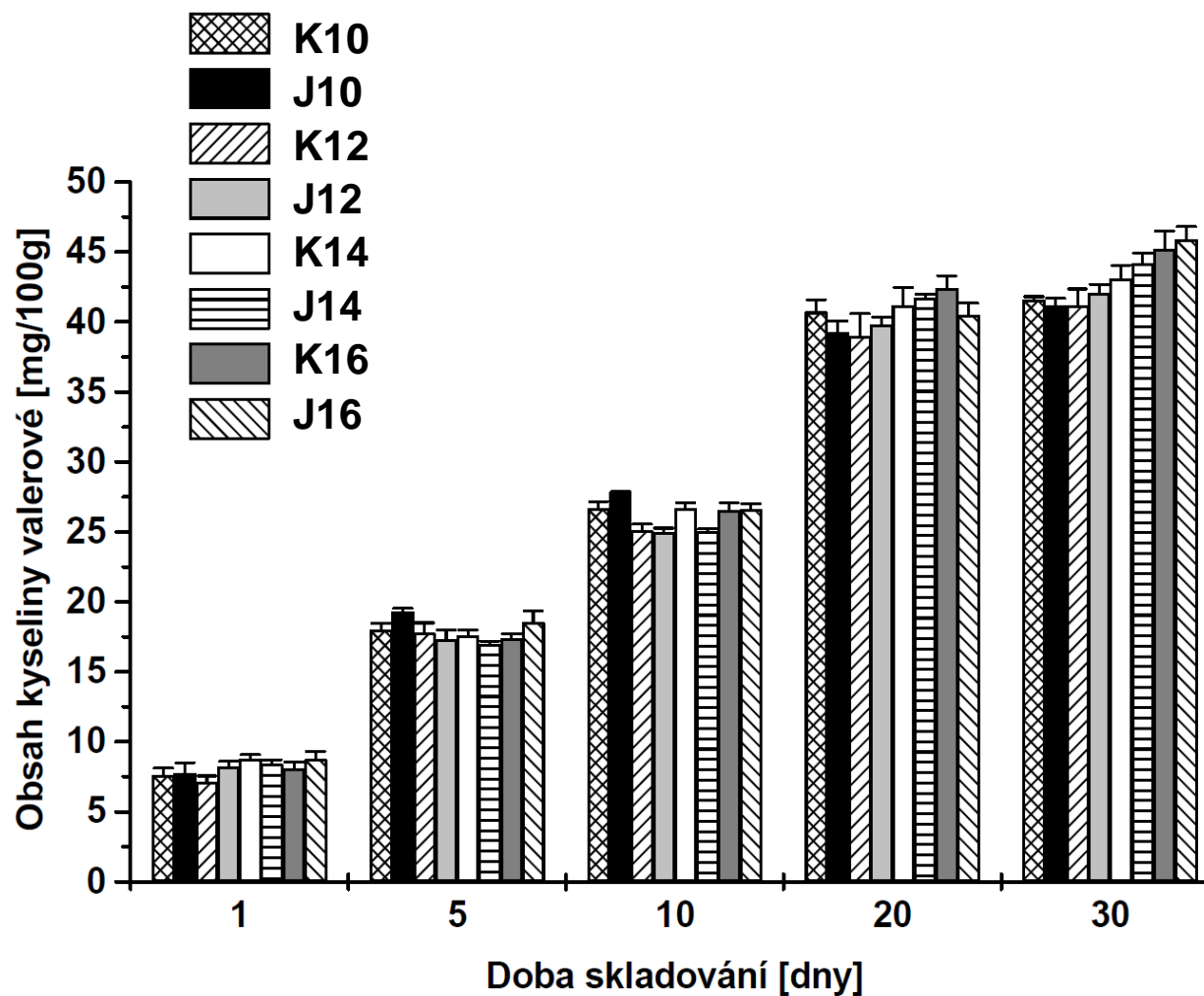
- 1) bez přítomnosti
- 2) velmi slabá, vyhovující
- 3) slabá, vyhovující
- 4) mírná, ale ještě vyhovující
- 5) mírně vyšší, ale stále ještě vyhovující
- 6) vyšší, téměř nevyhovující
- 7) vysoká přítomnost, nevyhovující

### 4. Uvolňování syrovátky:

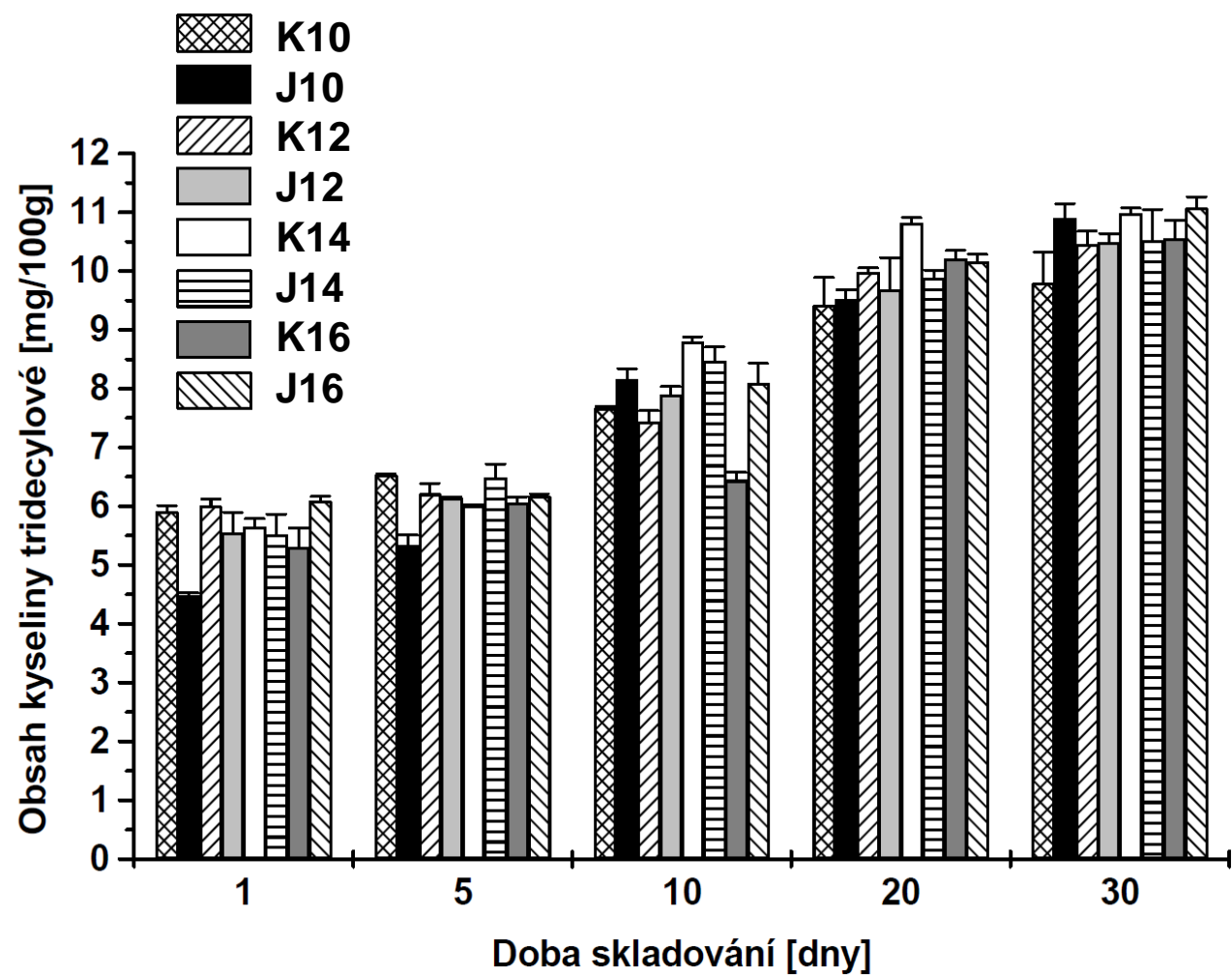
- 1) neuvolňuje se
- 2) velmi slabě
- 3) slabé uvolnění
- 4) mírně se uvolňuje, ještě vyhovující
- 5) mírně vyšší
- 6) vysoké, téměř nevyhovující
- 7) zcela uvolněná, nevyhovující



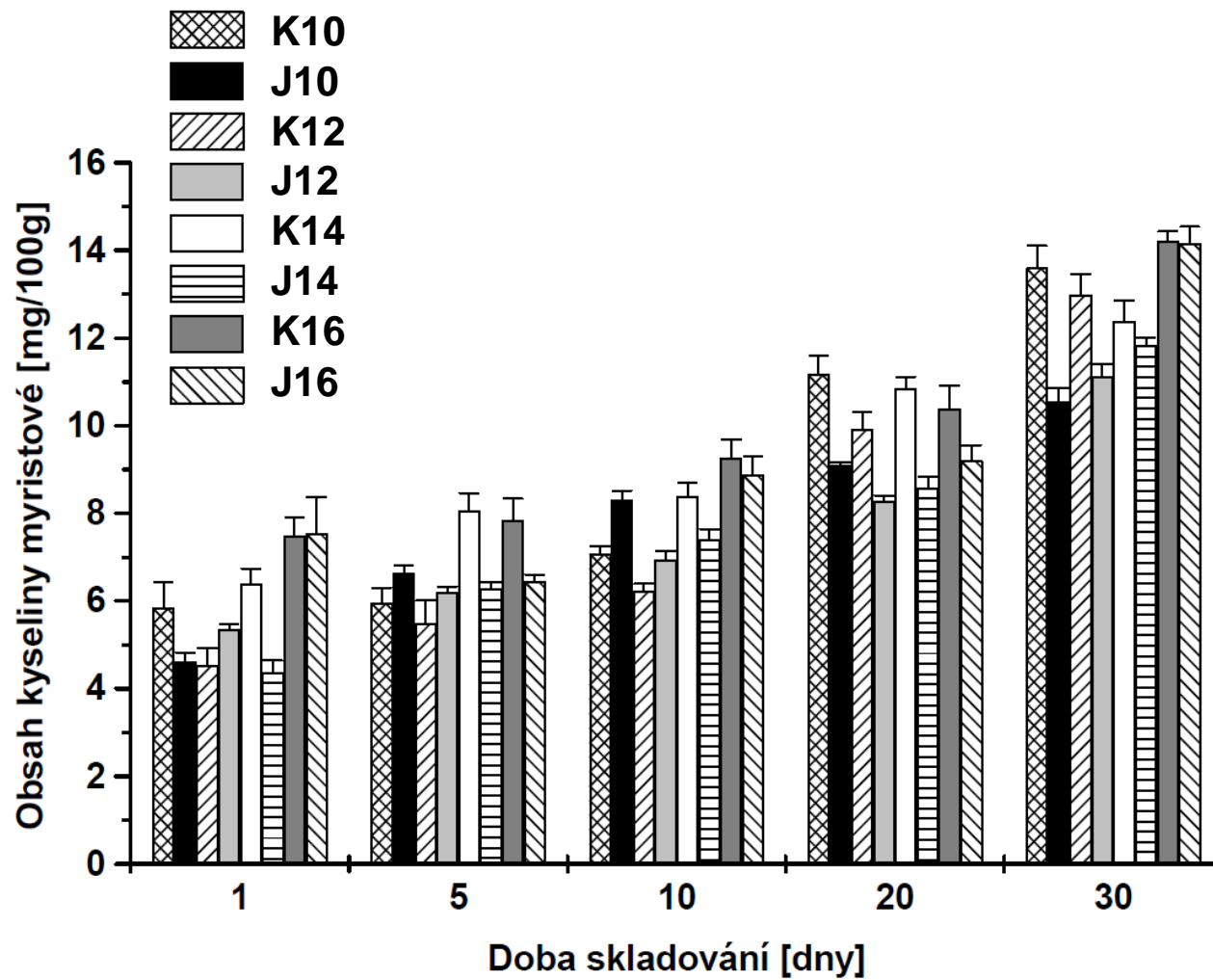
**Příloha C:** Dynamika změn obsahu volných mastných kyselin ve vzorcích jogurtů v průběhu skladovacího pokusu



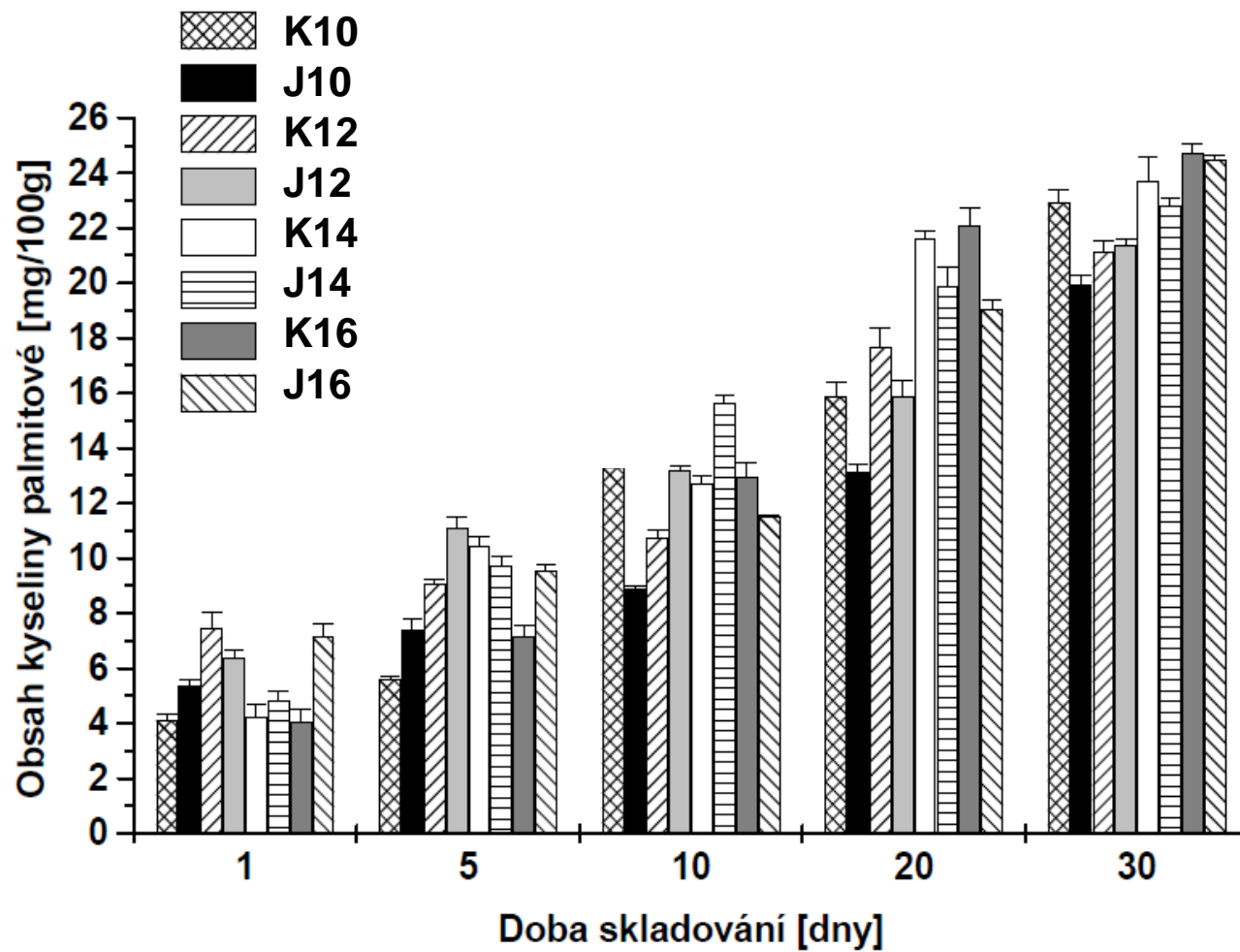
*Obr. 10.1* Dynamika změn obsahu volné kyseliny valerové v průběhu skladovacího pokusu



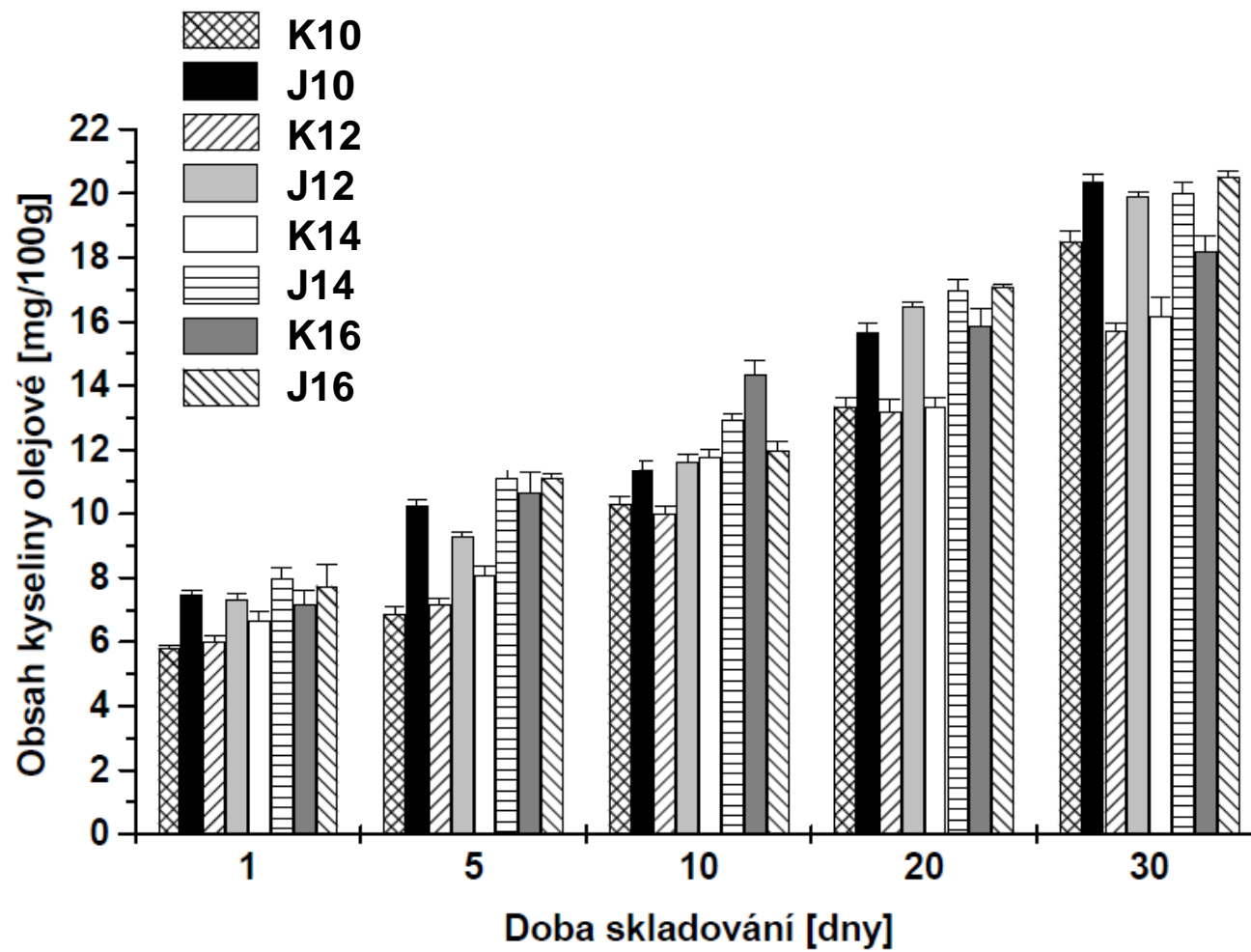
*Obr. 10.2 Dynamika změn obsahu volné kyseliny tridecylové v průběhu skladovacího pokusu*



*Obr. 10.3 Dynamika změn obsahu volné kyseliny myristové v průběhu skladovacího pokusu*



*Obr. 10.4 Dynamika změn obsahu volné kyseliny palmitové v průběhu skladovacího pokusu*



*Obr. 10.5 Dynamika změn obsahu volné kyseliny olejové v průběhu skladovacího pokusu*