

Vybrané vlastnosti netradičních syrovátkových nápojů

Bc. Anita Rejdlová

Diplomová práce
2022

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Anita Rejdlová
Osobní číslo: T20086
Studijní program: N0721A210004 Technologie potravin
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Vybrané vlastnosti netradičních syrovátkových nápojů

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Fermentované syrovátkové nápoje.
2. Mikrobiální kultury využívané pro výrobu fermentovaných nápojů.
3. Ochucující složky využívané při výrobě nápojů.

II. Praktická část

1. Výroba netradičních syrovátkových nápojů.
2. Chemická a senzorická analýza vyrobených syrovátkových nápojů.
3. Rheologické vlastnosti vyrobených syrovátkových nápojů.

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] AHMED, Rania F., Mohamed S. HIKAL a Khadiga A. ABOU-TALEB. Biological, chemical and antioxidant activities of different types Kombucha. *Annals of Agricultural Sciences* [online]. 2020, (65), 35–41 [cit. 2021-02-08]. ISSN 0570-1783. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aosas.2020.04.001>
- [2] ALVES, Vanessa, Thamaris SCAPINI, Aline Frumi CAMARGO, et al. Development of fermented beverage with water kefir in water-soluble coconut extract (*Cocos nucifera* L.) with inulin addition. *LWT* [online]. 2021, (145) [cit. 2021-04-21]. ISSN 0023-6438. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364382100517X>
- [3] BAMFORTH, Charles W. a David J. COOK. *Food, fermentation and microorganisms* [online]. Second edition. Hoboken, NJ : John Wiley & Sons, 2019, 1 UTB ve Zlíně, Fakulta technologická 94 online zdroj. ISBN 9781119557456. Dostupné z: <https://proxy.k.utb.cz/login?url=https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781119557456> [cit. 2021-02-08]

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Zuzana Mišková, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2021**

Termín odevzdání diplomové práce: **13. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 18. února 2022

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do systému IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Teoretická část byla zaměřena na charakteristiku hlavní suroviny a technologii výroby fermentovaných syrovátkových nápojů. Dále se práce zabývá mikrobiologickými kulturami, které jsou využívány pro výrobu alkoholických nápojů a ochucujícími složkami, které mohou být do nápojů přidávány.

Praktická část byla zaměřena na výrobu fermentovaných syrovátkových nápojů v kombinaci s mrkvovou šťávou, dále na sledování vybraných fyzikálně-chemických, reologických a senzorických vlastností vyrobených modelových vzorků fermentovaných syrovátkových nápojů po dobu 42 dnů, tedy v průběhu fermentace a následně i skladování. Stanovení vybraných vlastností bylo provedeno 0., 1., 2., 3., 7., 14., 21., 28. a 42. den. Ze získaných výsledků bylo zjištěno, že vhodnější kultura pro výrobu fermentovaného syrovátkového nápoje s mrkvovou šťávou je kultura vodního kefiru, z důvodu rychlejší fermentace dané matrice. Obsah alkoholu vyrobených modelových vzorků pomocí kultury vodního kefiru překračoval 0,5 % v/v, což dané nápoje řadí mezi nízkoalkoholické nápoje.

Klíčová slova: vodní kefir, mléčný kefir, fermentované syrovátkové nápoje, ochucující látky

ABSTRACT

The theoretical part of this diploma thesis focuses on the characteristics of the main ingredients for the production of fermented whey drinks as well as on the technology of the fermented whey beverages production. The thesis then deals with microbiological cultures, which are used for the production of alcoholic beverages and with flavouring ingredients, which can be added into drinks.

The practical part of this diploma thesis focuses on the production of fermented whey-based beverages in combination with carrot juice, and on monitoring of selected physico-chemical, rheological and sensory properties of produced model samples of fermented whey drinks for the period of 42 days, which means that they were monitored during fermentation as well as the subsequent storing. The assessment of selected properties was done on the 0th, 1st, 2nd, 3rd, 7th, 14th, 21st, 28th and 42nd day. Based on the acquired results, it was discovered that the more appropriate culture for the production of a fermented whey drink with carrot juice is the culture of water kefir because of faster fermentation of the given mixture. The alcohol content of the model samples produced by the means of the water kefir culture surpassed 0,5% v/v which puts the drinks in the low-alcohol category.

Key words: water kefir, milk kefir, fermented whey drinks, flavouring ingredients

Chtěla bych poděkovat své vedoucí diplomové práce paní Ing. Zuzaně Míškové, Ph.D. za věcné rady, připomínky a pomoc se zpracováním. Dále bych chtěla poděkovat Bc. Michalovi Žákovi za pomoc při praktické části. Poděkování patří i mé rodině, přátelům a spolužákům, kteří mi byli oporou po celou dobu studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 FERMENTOVANÉ SYROVÁTKOVÉ NÁPOJE	13
1.1 SYROVÁTKA.....	13
1.1.1 Složení.....	13
1.1.2 Význam syrovátky.....	17
1.1.3 Využití syrovátky.....	18
1.2 FERMENTOVANÉ SYROVÁTKOVÉ NÁPOJE.....	19
1.2.1 Technologie výroby.....	20
1.3 FERMENTACE LAKTÓZY.....	23
1.3.1 Homolaktická fermentace.....	23
1.3.2 Heterolaktická fermentace.....	26
1.3.3 Alkoholová fermentace.....	27
2 MIKROBIÁLNÍ KULTURY VYUŽÍVANÉ PRO VÝROBU FERMENTOVANÝCH NÁPOJŮ	29
2.1 BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ.....	29
2.1.1 Růstové faktory BMK.....	30
2.2 KVASINKY.....	31
2.2.1 Růstové faktory kvasinek.....	32
2.3 MLÉČNÝ KEFÍR.....	32
2.4 VODNÍ KEFÍR.....	33
3 OCHUCUJÍCÍ SLOŽKY VYUŽÍVANÉ PŘI VÝROBĚ NÁPOJŮ	36
II PRAKTICKÁ ČÁST	39
4 CÍL PRÁCE	40
5 METODIKA PRÁCE	41
5.1 MATERIÁL A METODY STANOVENÍ.....	41
5.1.1 Suroviny.....	41
5.1.2 Přístroje.....	42
5.2 VÝROBA MODELOVÝCH VZORKŮ.....	42
5.2.1 Surovinová skladba a značení vzorků.....	43
5.2.2 Výroba modelových vzorků.....	43
5.3 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÁ ANALÝZA.....	45
5.3.1 Stanovení pH.....	45
5.3.2 Stanovení TDS.....	45
5.3.3 Stanovení refraktometrické sušiny.....	46
5.3.4 Stanovení aktivity vody.....	47
5.3.5 Stanovení alkoholu, hustoty a stupně fermentace.....	47

5.4	REOLOGICKÁ ANALÝZA.....	48
5.5	SENZORICKÁ ANALÝZA	50
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	51
6.1	VÝSLEDKY STANOVENÍ PH.....	51
6.2	VÝSLEDKY STANOVENÍ TDS	54
6.3	VÝSLEDKY STANOVENÍ REFRAKTOMETRICKÉ SUŠINY	56
6.4	VÝSLEDKY STANOVENÍ VODNÍ AKTIVITY	59
6.5	VÝSLEDKY STANOVENÍ HUSTOTY	61
6.6	VÝSLEDKY STANOVENÍ OBSAHU ETHANOLU	64
6.7	VÝSLEDKY STANOVENÍ RDF	67
6.8	VÝSLEDKY REOLOGICKÉ ANALÝZY	69
6.9	VÝSLEDKY SENZORICKÉ ANALÝZY	74
	ZÁVĚR	77
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	79
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	91
	SEZNAM OBRÁZKŮ	92
	SEZNAM TABULEK.....	94
	SEZNAM PŘÍLOH.....	95

ÚVOD

Během pandemie onemocnění Covid-19 se zvýšil zájem spotřebitelů o funkční potraviny, které mají příznivý vliv na zdraví, čímž byl podpořen trh s těmito potravinami. Mezi funkční potraviny se řadí například potraviny obsahující probiotika, která mají vliv na trávicí soustavu a díky svým vlastnostem mohou působit preventivně proti onemocněním trávicího traktu. [1]

Kefír je starobylý fermentovaný nápoj, který je mj. na Kavkazu spojován s dlouhověkostí místních obyvatel. Kefíru jsou přisuzovány příznivé zdravotní účinky, například snižuje příznaky intolerance laktózy, stimuluje imunitní systém, snižuje hladinu cholesterolu v krvi, současně vykazuje antimutagenní a antikarcinogenní vlastnosti. [1]

Kefír je symbiotické médium mikroorganismů, které je složeno z bílkovin, lipidů a kefiranu, což je rozpustný polysacharid, ve kterém jsou rozptýleny bakterie mléčného kvašení, kvasinky a octové bakterie. Kefír se skládá z mikroorganismů, které svým metabolismem fermentují sacharidy především na kyselinu mléčnou, ethanol, CO₂, vitaminy skupiny B, současně dochází k tvorbě jiných organických kyselin. [1]

Mléčné výrobky představují nejvhodnější substrát pro probiotika, nicméně vyskytují se určitá negativa, která se složením mléka souvisí. Jedná se o alergii na mléčnou bílkovinu nebo intoleranci laktózy. V Evropě se odhaduje průměrná prevalence alergie na mléčné bílkoviny na 6–8 % u dětí a 2 % u dospělých osob (údaj z roku 2008), zatímco intolerancí na laktózu trpí více než třetina světové populace. Kromě toho se odhaduje, že více než 600 milionů populace tvoří lidé, kteří nekonzumují živočišné výrobky (vegetariáni, vegani, a jiné formy výživy). Z daného důvodu roste vývoj a výroba potravin pro vegetariány a vegany. Jedná se o důvody, proč vzrůstá zájem o fermentované nemléčné nápoje pro spotřebitele trpící právě zmíněnými onemocněními, nebo vyznávající stravování bez živočišných produktů. [1]

Vhodným fermentačním substrátem mohou být ovocné a zeleninové šťávy, neboť jsou přirozeně bohaté na obsah sacharidů. Mnoho studií spojuje konzumaci ovoce a zeleniny se snížením rizika několika chronických onemocnění, jako je například rakovina, kardiovaskulární choroby, šedý zákal nebo poruchy imunitního systému. Tyto přirozené ochranné účinky jsou důsledkem antioxidační aktivity složek, které se v ovoci a zelenině vyskytují. Jedná se například o karotenoidy, betalainy, vitaminy, polyfenoly aj. Karotenoidy mají svá zdravotní tvrzení schválená podle čl. 13 odst. 1 Nařízení (ES) č. 1924/2006

Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (EFSA). Fermentovaná zeleninová a ovocná šťáva představuje vhodné vlastnosti pro funkční potraviny. V současné době se zvyšuje i zájem o vývoj funkčních nápojů na bázi těchto šťáv s probiotiky, a to hlavně díky zdravotním přínosům a dobré přijatelnosti spotřebiteli ve všech věkových kategoriích. [1][2]

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 FERMENTOVANÉ SYROVÁTKOVÉ NÁPOJE

Poptávka po zdravých nápojích celosvětově roste. Mezi oblíbené výrobky patří fermentované mléčné nápoje, například kefir nebo acidofilní mléka. V posledních letech se v souladu s rostoucí poptávkou spotřebitelů po zdraví prospěšných látkách začínají produkovat fermentované nápoje na bázi syrovátky. Syrovátka je zdrojem vysoce kvalitních bílkovin, minerálních látek i vitaminů, což ji řadí mezi funkční potraviny. [3]

1.1 Syrovátka

Vyhláška MZ č. 397/2016 Sb. o požadavcích na mléko, mléčné výrobky tuky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje definuje syrovátku jako „mléčný výrobek vznikající jako vedlejší produkt při výrobě sýrů, včetně tvarohů a potravinářských kaseinů; syrovátkou může být i mléčná složka uvolňovaná po fermentaci při výrobě jiných mléčných výrobků, zejména u jogurtů či mléčných dezertů“. [4]

Na základě typu použitého srážení v technologickém procesu výroby mléčných výrobků vzniká syrovátka kyselá či sladká. Další druhy syrovátky mohou vznikat i díky rozlišným technologickým procesům využívaných při výrobě mléčných produktů (např. různá teplota a doba záhřevu, typ startérových kultur aj.) [5]

Při výrobě mléčných výrobků za využití proteolytických enzymů, syřidel, vzniká syrovátka sladká. Syřidla obsahující chymozin nebo jiné enzymy způsobují destabilizaci kaseinových micel enzymatickou hydrolýzou κ -kaseinu. Jedná se hlavně o vedlejší produkt výroby sýrů. Sladká syrovátka má pak pH v rozmezí 5,9–6,6. [6][7]

Při výrobě tvarohů, tvarohových nebo čerstvých sýrů se využívá pro srážení kaseinů kyselina mléčná vznikající při fermentaci pomocí bakterií mléčného kvašení, proto vzniká syrovátka kyselá. pH syrovátky se pohybuje kolem hodnot 4,3–4,5. Kyselá syrovátka obsahuje vyšší množství minerálních látek, což je způsobeno uvolněním těchto látek (především vápníku a fosforečnanů) z kaseinových micel do vodné fáze právě díky nízké hodnotě pH. [5][8]

1.1.1 Složení

Syrovátka neobsahuje kaseinové bílkoviny a vyskytuje se v ní pouze minimální obsah tuku. Hlavní složkou je voda, která tvoří až 95 %, dále se v syrovátce vyskytuje laktóza, syrovátkové bílkoviny, minerální látky a vitaminy. Složení syrovátky se liší na základě

použitého typu srážení při výrobě mléčných výrobků. Rozdíly ve složení sladké a kyselé syrovátky jsou znázorněny v tabulce 1. [9]

Tabulka 1: Složení sladké a kyselé syrovátky [12][13]

složka	koncentrace [g·l ⁻¹]	
	sladká syrovátka	kyselé syrovátka
sušina	63–70	60–68
laktóza	46–52	43–50
bílkoviny	6–10	6–8
popeloviny	5–5,7	4,8–7
laktát	2	6,4
mléčný tuk	0,2–0,1	0,1–0,5

1.1.1.1 Laktóza

Laktóza je disacharid tvořený D-galaktózou a D-glukózou propojených glykosidickou vazbou β -(1→4). Laktóza je hlavní složkou sušiny syrovátky, kdy tvoří přibližně 70 %. Slouží jako zdroj energie pro živočichy a také jako substrát pro mikroorganismy při procesu fermentace. Současně má i další pozitivní účinky, například stimuluje peristaltiku střev, nepodílí se na tvorbě zubního kamene nebo zlepšuje trávení mléčného tuku. Při výrobě fermentovaných mléčných výrobků a sýrů dochází k fermentaci laktózy pomocí bakterií mléčného kvašení a vzniku kyseliny mléčné. [10][11][17]

1.1.1.2 Syrovátkové bílkoviny

Syrovátkové bílkoviny tvoří přibližně 20 % všech bílkovin vyskytujících se v kravském mléce. Na rozdíl od bílkovin kaseinových jsou rozpustné při hodnotě pH 4,6. Daná hodnota pH je izoelektrický bod mléka, při kterém dochází ke srážení kaseinových micel a vzniku sraženiny neboli sýřeniny a kyselé syrovátky. Syrovátkové bílkoviny denaturují při teplotách překračujících 70 °C. Při absenci kaseinu dochází k tvorbě nerozpustných komplexů, což je způsobeno tendencí syrovátkových bílkovin se shlukovat a sedimentovat. Tato vlastnost může způsobovat problémy při dodatečném tepelném ošetření syrovátkových produktů. [12][14][15]

Nejvýznamnější bílkoviny syrovátky jsou β -laktoglobulin, α -laktalbumin. Dále se do syrovátkových bílkovin řadí sérum albumin, imunoglobuliny, proteoso-peptony aj. Všechny zmíněné bílkoviny představují až 90 % všech sérových bílkovin. Jedná se především o globulární proteiny, které jsou tepelně velmi nestabilní. Syrovátkové bílkoviny jsou bohaté na siřné aminokyseliny.[6][15]

β -laktoglobulin

Nejvíce zastoupenou bílkovinou syrovátky je β -laktoglobulin. Z celkového obsahu bílkovin v mléce tvoří 10 %, ze syrovátkových bílkovin je to pak okolo 58 %. Obsahuje 162 aminokyselin a jeho molekulová hmotnost je přibližně 18,3 kDa. Obsahuje vysoké množství větvených aminokyselin. Také váže hydrofobní molekuly, čímž se podílí na snižování obsahu lipidů v organismu. [9][15]

α -laktalbumin

Druhou nejvíce zastoupenou bílkovinou syrovátky je α -laktalbumin. Tvoří 13 % syrovátkových bílkovin a okolo 2 % z celkového obsahu bílkovin v mléce. α -laktalbumin tvoří 123 aminokyselin a celková molekulová hmotnost činí 14,1 kDa. Obsahuje nejvyšší množství esenciální aminokyseliny tryptofanu (až 6 %), což je nejvíce ze všech proteinů v potravinách. Je také bohatý na obsah lysinu, leucinu, threoninu a cysteinu. α -laktalbumin má schopnost vázat minerální látky jako zinek a vápník a pozitivně ovlivňuje jejich vstřebávání. [9]

Sérum albumin

Sérum albumin, izolovaný z mléka, má stejné složení jako albumin krevní. Není syntetizovaný v mléčné žláze, do které se však dostává pasivním přenosem z krevního řečiště. Sérum albumin slouží jako přenašeč volného tuku. Molekulová hmotnost je 69 kDa. [9][15]

Imunoglobuliny

Imunoglobuliny tvoří přibližně 2 % z celkového množství bílkovin mléka. V mléce se nachází čtyři skupiny imunoglobulinů a to IgG₁, IgG₂, IgA a IgM. Jedná se o látky zajišťující přenos pasivní imunity z matky na mládě. Imunoglobuliny se nacházejí v mlezivu a zajišťování imunity trvá, dokud si tělo mláděte nezačne syntetizovat tyto látky samo. [9]

Proteoso-peptony

V mléce je obsah proteoso-peptonů přibližně 1 %. Mohou vznikat proteolýzou β -laktoglobulinu jako jeho frakce. Z tohoto důvodu se jejich obsah v mléce může v průběhu času zvyšovat. [9]

1.1.1.3 Mléčný tuk

Mléčný tuk je v syrovátce obsažen ve velmi malém až zanedbatelném množství. Vyskytuje se především ve formě triacylglycerolů. Diacylglyceroly, monoacylglyceroly a volné mastné kyseliny se vyskytují ve velmi malé koncentraci. Další látky, například cholesterol, steroidní hormony, vitaminy aj., se vyskytují v malé míře, nicméně jsou důležitou nutriční složkou. [11][15]

1.1.1.4 Minerální látky

Syrovátka je bohatá na obsah minerálních látek. Jsou obsaženy ve formě organické i anorganické. V syrovátce je nejvíce zastoupen sodík a draslík. Významně se liší obsah vápníku. U sladké syrovátky je vápníku méně, neboť během sladkého srážení dochází k jeho navázání na kaseinové bílkoviny. Stejně tak dochází k navázání fosfátů, proto je v kyselé syrovátce vyšší koncentrace fosforu. Dalšími důležitými minerály jsou zinek, železo nebo měď. Koncentrace vybraných minerálních látek v obou typech syrovátky jsou znázorněny v tabulce 2. [16]

Tabulka 2: Koncentrace mikronutrientů v syrovátce [9]

složka	koncentrace [g·l ⁻¹]	
	sladká syrovátka	kyselé syrovátka
draslík	1,4–1,6	1,4–1,6
sodík	0,4–0,5	0,4–0,5
vápník	0,04–0,06	1,2–1,6
hořčík	0,08	0,11
fosfor	1,0–3,0	2,0–4,5

1.1.1.5 Vitaminy

Syrovátka je bohatá na přítomnost vitaminů skupiny B, které jsou ve vodě rozpustné. Jedná se o thiamin, riboflavin, pyridoxin, niacin, kyselinu pantotenovou, kyselinu listovou, biotin a kobalamin. Vysoký obsah riboflavinu způsobuje typickou žlutozelenou barvu syrovátky. Bakterie mléčného kvašení využívané při výrobě sýrů mohou tvořit riboflavin, díky čemuž syrovátka může obsahovat vyšší množství tohoto vitaminu, než bylo původně v mléce. Současně syrovátka obsahuje i vitaminy rozpustné v tucích, především vitamin A a E. [16]

1.1.2 Význam syrovátky

Syrovátka obsahuje bílkoviny, které se řadí mezi plnohodnotné. Obsahuje všechny esenciální aminokyseliny v optimálním zastoupení. Syrovátkové bílkoviny se vyznačují vyšším obsahem tzv. BCAA, z angl. Branched Chain Amino Acids, mezi které se řadí valin, leucin a izoleucin. BCAA mohou minimalizovat ztráty svalových bílkovin v katabolických reakcích organismu. Aminokyseliny se rychle uvolňují do krevního oběhu, díky čemuž podporují syntézu bílkovin. Podporují tedy růst svalové hmoty v těle, proto jsou syrovátkové výrobky oblíbené u osob, které posilují nebo se věnují kulturistice. [19][20]

Enzymatická hydrolýza syrovátkových bílkovin v lidské trávicí soustavě, fermentace laktózy kyselými kulturami nebo hydrolýza mikrobiálními proteázami vedou k uvolnění bioaktivních peptidů. Po uvolnění působí tyto peptidy jako signální molekuly a mají různé fyziologické účinky na imunitní, gastrointestinální, kardiovaskulární a nervový systém. [21]

V posledních letech se potvrzuje významný vliv syrovátkových bílkovin na lidský organismus. Jedná se především o antimikrobiální, antioxidační, antihypertenzní, antidiabetické a imunomodulační vlastnosti. Mohou se podílet na určitých mechanismech, vedoucích ke snižování tělesné hmotnosti, nebo snižování či potlačování alergických reakcí. [21]

Nejrozšířenější sérová bílkovina, β -laktoglobulin, je zdrojem významného množství bioaktivních peptidů, jako jsou například laktokininy. β -laktofin nebo β -laktotenzin, u kterého byl prokázán antistresový účinek, ale také schopnost vazby na neuroreceptory zodpovědné za regulaci pocitu sytosti. [21]

U bílkoviny α -laktoglobulin byly prokázány cytotoxické účinky. Působí protektivně proti poškození sliznic a oxidačnímu stresu. Dále má opioidní, protizánětlivou a antikarcinogenní aktivitu. Obsahuje vysoké množství aminokyseliny tryptofan, což lze využít ke zlepšení kvality spánku, nálady a kognitivních funkcí. Před několika lety byla izolována a identifikována nová genetická varianta α -laktoglobulinu, tzv. HAMLET (z angl. Human alpha-La made lethal to tumor cells), u které se prokázala schopnost indukovat apoptózu nádorových buněk a zároveň chránit zdravé tkáně. [21]

Další významnou bílkovinou je laktoferin, který obsahuje látku laktofericin. Jedná se o bioaktivní peptid, který má prokazatelnou antivirovou, antimikrobní a imunomodulační aktivitu. Antimikrobní aktivitou se vyznačuje i laktoperoxidáza. Využívá se jako přídatek

do výrobků, které nachází uplatnění v orální zdravotní péči jako přípravky podporující hojení krvácejících dásní, zánětu dásní nebo při podráždění dutiny ústní. [21]

1.1.3 Využití syrovátky

Syrovátka se dříve využívala především jako součást krmiva pro hospodářská zvířata. V současnosti je syrovátka považována za velmi cenný vedlejší produkt mlékárenského průmyslu, který slouží jako výhodný zdroj živin. Lze využívat i jednotlivé frakce syrovátky, které se získávají různými fyzikálně-chemickými postupy. [23]

Základním typem výrobku je syrovátka sušená. Před sušením se mohou využívat určité technologické operace k získání dalších typů sušené syrovátky. Vysoký obsah minerálních látek může způsobovat během zpracování problémy, proto se využívá demineralizace, která se provádí pomocí elektrodialýzy, nanofiltrace nebo iontové výměny. Vyskytují se různé stupně demineralizace, kdy bývá odstraněno 25, 50 nebo dokonce 90 % minerálních látek. Syrovátka je bohatá na obsah laktózy, proto se před sušením může využívat i částečné odstranění laktózy. Takto získaná laktóza má hlavní využití ve farmaceutickém průmyslu jako nosič léčivých látek v tabletách. [9][24]

Další skupinou výrobků jsou bílkovinné syrovátkové izoláty (Whey Protein Isolate, WPI). Izoláty obsahují nejméně 90 % syrovátkových bílkovin. V praxi se využívají především dva způsoby výroby izolátů. Starší metoda využívá iontové výměny, novější způsob pak membránovou frakcionaci. Po procesu iontové výměny následuje filtrace, zahuštění a sušení pomocí sprejového sušení. Takto získaný izolát může obsahovat až 97 % bílkovin. [9]

Mezi syrovátkové výrobky se dále řadí bílkovinné syrovátkové koncentráty (Whey Protein Concentrate, WPC). Obsah syrovátkových bílkovin se liší, obvykle tyto výrobky obsahují 35, 55 nebo 80 % bílkovin v sušině. Pro tyto výrobky se využívá hlavně syrovátka sladká. WPC se vyrábí pomocí ultrafiltrace nebo jiných membránových procesů. [9]

V posledních letech vzrůstá zájem o syrovátkové nápoje. V porovnání s nápoji na bázi mléka (fermentované výrobky aj.) se syrovátkové nápoje na trhu vyskytují v malé míře, nicméně si získávají oblibu díky funkčním vlastnostem syrovátky. Mohou se vyrábět jak ze sladké, tak kyselé syrovátky v tekuté formě, nicméně mohou být připraveny i rekonstitucí syrovátky sušené, respektive přípravou z WPC nebo WPI nebo být těmito přípravky obohaceny pro zvýšení obsahu bílkovin ve výrobku. Na trhu se vyskytují čtyři základní typy syrovátkových nápojů:

- syrovátkové nápoje v kombinaci s ovocnou šťávou (např. jablečná) nebo se šťávou zeleninovou (např. rajčatová nebo mrkvová),
- syrovátkové nápoje nefermentované nebo fermentované,
- syrovátkové nápoje sycené (např. nápoj Rivella),
- syrovátkové nápoje alkoholické (např. pivo, víno nebo likéry). [25]

1.2 Fermentované syrovátkové nápoje

Fermentované syrovátkové nápoje se řadí díky svým vlastnostem mezi populární výrobky. Pro výrobu se využívá především syrovátka sladká, neboť díky fermentaci dochází k tvorbě kyseliny mléčné, která snižuje hodnotu pH. Syrovátka a syrovátkové permeáty jsou bohaté na obsah laktózy, z tohoto důvodu je možné syrovátku podrobit procesu fermentace pomocí bakterií mléčného kvašení, současně se mohou využívat i v kombinaci s probiotickými kulturami. Bylo však dokázáno, že syrovátka není příliš nutričně vhodným substrátem pro bakterie rodu *Lactobacillus* a fermentace probíhá pomaleji. Pro výrobky, které v konečné fázi obsahují alkohol, se využívají nejvíce kvasinky rodu *Kluyveromyces*. [17]

V tekuté syrovátce je relativně nízký celkový obsah pevných látek (6–7 %), což ovlivňuje chuť daných výrobků v porovnání s fermentovanými výrobky z mléka. Oproti nim jsou fermentované syrovátkové nápoje více vodnaté a pocitově méně výrazné. Proto se mohou použít probiotické kmeny, které produkují exopolysacharidy. Další možností je přidavek hydrokoloidů, které při relativně malém přídavku zvyšují viskozitu a mohou zabránit sedimentaci rozptýlených částic a zlepšit organoleptické vlastnosti. Nejvhodnějšími hydrokoloidy ve fermentovaných syrovátkových nápojích jsou karboxymethylcelulóza, pektin, alginát nebo xantanová guma. [17]

V posledních letech se některé studie zaměřují na výrobu fermentovaných syrovátkových nápojů podobných kefiru. Pereira *et al.* (2015) se ve své studii zabývali fermentací WPC pomocí kefirových zrn a/nebo vybraných probiotických kultur. Výsledné fyzikálně-chemické i senzorní vlastnosti byly uspokojivé, stejně tak nápoje obsahovaly ideální počty mikroorganismů i po 14 dnech skladování při chladírenských teplotách. V další studii se Magalhães *et al.* (2011) zabývali možnými rozdílnými vlastnostmi kefiru vyrobeného z mléka a syrovátky. Sledovanými parametry byla například hydrolýza laktózy, tvorba organických kyselin nebo obsah ethanolu vznikající při procesu fermentace. Získané výsledky ukazují, že ze syrovátky vzniká velmi podobné množství ethanolu, kyseliny mléčné

a kyseliny octové jako při fermentaci mléka. Na základě této studie je tedy syrovátka cenným substrátem pro výrobu fermentovaných nápojů podobných kefiru. [21][22]

Fermentované syrovátkové nápoje s žádoucími nutričními a senzoryckými vlastnostmi je možné vyrábět bez využití komplikovaných a drahých technologií jako jsou například ultrafiltrace a zahušťování. Zmíněné technologie se využívají pro výrobu WPC, WPI nebo sušené syrovátky. Tyto nápoje lze tedy vyrábět z různých druhů syrovátky, lze využít čerstvou, sušenou nebo jinak upravenou. Využití rekonstituované syrovátky (např. WPC, WPI) s sebou nese určité výhody, neboť u těchto výrobků dochází k sedimentaci částic jen ve velmi malé míře. [25]

1.2.1 Technologie výroby

Technologie výroby fermentovaných syrovátkových nápojů nejdříve zahrnuje úpravu syrovátky, dalším krokem je již samotná fermentace. Základními kroky pro úpravu syrovátky jsou:

- čištění,
- odtučnění,
- tepelné ošetření.

V mlékárenském průmyslu se pro úpravu mléka a dále i syrovátky využívají membránové procesy. Například membránová filtrace (MF) slouží pro odstranění nežádoucí mikroflóry, dále pro odstranění tuku ze syrovátky. Dále je možné využívat ultrafiltraci (UF), nanofiltraci (NF) nebo reverzní osmózu (RO). Membránové procesy byly do výroby zařazeny pro zvýšení kvality výrobků a zvýšení efektivity výroby. [26]

Dalšími kroky, které je možné pro úpravu syrovátky využít, jsou:

- demineralizace,
- odstranění laktózy,
- zahuštění,
- sušení.

1.2.1.1 Čištění syrovátky

Syrovátka obsahuje zbytky sýrové sraženiny ve formě sýrařského prachu, který je nutné odstranit. Sýrařský prach způsobuje komplikace při dalším zpracování a současně může

ovlivňovat i organoleptické vlastnosti (chuť, vůně) produktů. Syrovátka se čistí pomocí základních metod, jako je například usazování nebo odstředění na základě velikosti částic. [8]

1.2.1.2 Odtučnění

Pro odtučnění syrovátky se využívá MF. Lipoproteiny, které jsou v čerstvé syrovátce přítomné, mají tendenci vytvářet agregáty díky vápenatým mŕstvkům, jestliže jsou vystaveny tepelnému ošetření. Je nutné je tedy odstranit pomocí MF membrán, jejichž póry mají velikost 0,14 mikronů. Proces MF je v porovnání s centrifugací účinnější metodou odtučnění a zároveň dochází i k výraznému snížení počtu bakterií. [26]

1.2.1.3 Tepelné ošetření

Pro tepelné ošetření syrovátky je nejvíce využívána šetrná pastace. Jedná se o teplotu v rozmezí 72–78 °C s výdrží 15–20 vteřin. Je možné využívat i jiné kombinace teploty a času výdrže, viz obrázek 1. Tepelné ošetření se využívá pro inaktivaci vegetativních forem mikroorganismů. Současně dochází i k inaktivaci enzymů, vyskytujících se v syrovátce, jako je fosfatáza nebo chymozin. [8]

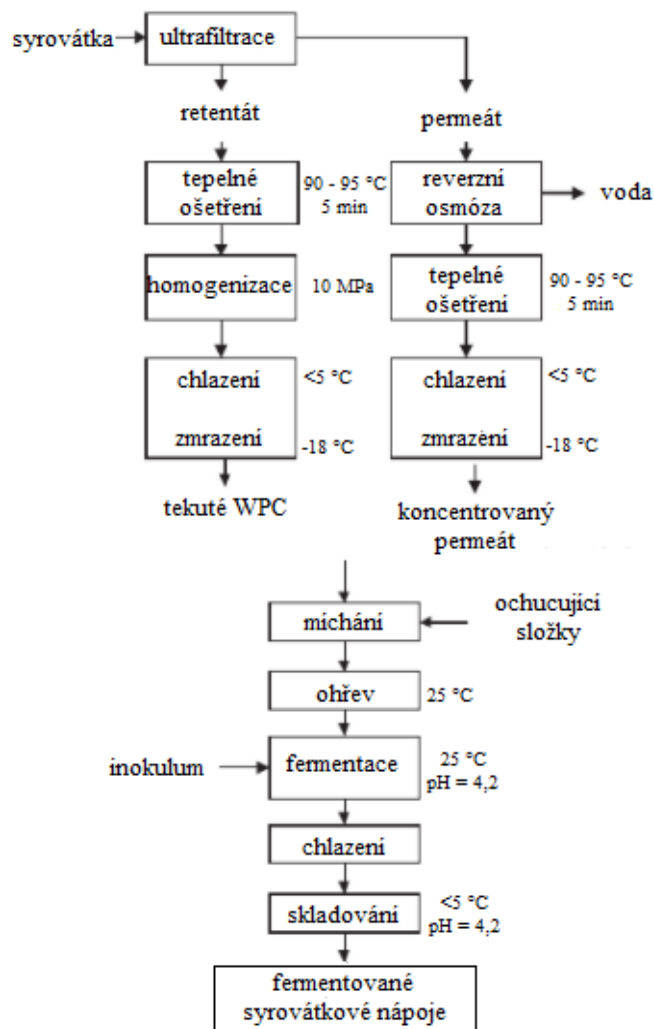
1.2.1.4 Fermentace

Pro fermentaci se mohou využívat různé druhy BMK. Je možné využít i jogurtové kultury, díky kterým mají fermentované syrovátkové nápoje intenzivnější jogurtovou chuť. Inokulace těmito kulturami pak probíhá za vyšších teplot média, jedná se o teplotu kolem 42 °C. Dále se využívají kultury keřirové. Které mohou být ze zrn mléčného keřiru nebo, v posledních letech velmi oblíbených, zrn vodního keřiru. Pokud se při fermentaci využívají bakterie a kvasinky, které nejsou schopné fermentovat laktózu, využívá se hydrolýza laktózy. Při tomto procesu dochází k rozštěpení laktózy na glukózu a galaktózu. [14][17][18]

Hydrolýza laktózy se využívá i z důvodu rychlejšího rozmnožování a produktivity mikroorganismů. Ze stejných důvodů se může zvyšovat i obsah dusíku v syrovátce například pomocí hydrolýzy přítomných bílkovin. [28]

Při výrobě fermentovaných syrovátkových nápojů se využívají starterové a probiotické kultury, jejichž hlavní vlastností je schopnost metabolizovat laktózu na kyselinu mléčnou, případně i ethanol a jiné významné sensoricky aktivní látky. Mezi používané mikroorganismy patří například *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbruecki* ssp.

bulgaricus, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, nebo *Propionibacterium freundereichii* ssp. *shermani*. [21]



Obrázek 1: Schéma výroby fermentovaných syrovátkových nápojů, upraveno podle [26]

Na obrázku 1 je uveden technologický postup výroby fermentovaných syrovátkových nápojů využitý ve studii Carlose Pereiry. Je možné využívat různé teploty a doby záhřevu syrovátky, stejně tak forma vstupní suroviny je v každém případě jiná. [26]

Fermentované syrovátkové nápoje mohou být kombinovány s ovocnými nebo zeleninovými šťávami. Studie z roku 2017 využívá kombinaci s mrkvovou šťávou. Byly vyrobeny vzorky obsahující 30 % mrkvové šťávy, 40 % syrovátky a 30 % mléka. Následovala pasterace při teplotě 60 °C po dobu 60 minut. Dále byly vzorky ochlazeny na inokulační teplotu, která byla 42 °C. Vzorky byly inokulovány požadovanou kulturou mikroorganismů a ponechány

fermentovat až do dosažení hodnoty pH média 4,2. Vzorby byly dále schlazeny na chladírenskou teplotu 4 °C a uchovávány při této teplotě po dobu 28 dní. Mrkvová šťáva byla využita z důvodu vysoké antioxidační aktivity, pro svou nízkou kyselost a příjemnou chuť. [3]

1.3 Fermentace laktózy

Fermentace je jednou z nejstarších metod konzervace, současně díky ní lze vyrábět mléčné produkty s přidanou biologickou hodnotou. Proces fermentace syrovátkových nápojů se vyvinul po využití technologií z příbuzné fermentace mléka na jogurty, acidofilní mléka, kefiru nebo kumys. Tyto výrobky mají kromě dobrých organoleptických i vhodné nutriční a probiotické vlastnosti. [12]

Mléčné kvašení je anaerobní proces. Skupina bakterií, které jsou jinak označovány jako bakterie mléčného kvašení, je schopná fermentovat laktózu za vzniku kyseliny mléčné. Existují dva základní typy fermentace na základě metabolismu daných BMK, a to homofermentativní, kdy vzniká jeden hlavní produkt kyselina mléčná, a heterofermentativní, při kterém vzniká kromě kyseliny mléčné i oxid uhličitý a ethanol. Bakterie mléčného kvašení produkují kyselinu mléčnou v různých optických izomeriích, jedná se o formu L(+), D(-) nebo směs DL. [28]

Pro výrobu fermentovaných syrovátkových nápojů se využívají i kultury, které obsahují kvasinky, například kefirové kultury. Z tohoto důvodu v nápojích probíhá i alkoholová fermentace, která je také anaerobním procesem, během kterého vzniká ethanol a CO₂. [29]

1.3.1 Homolaktická fermentace

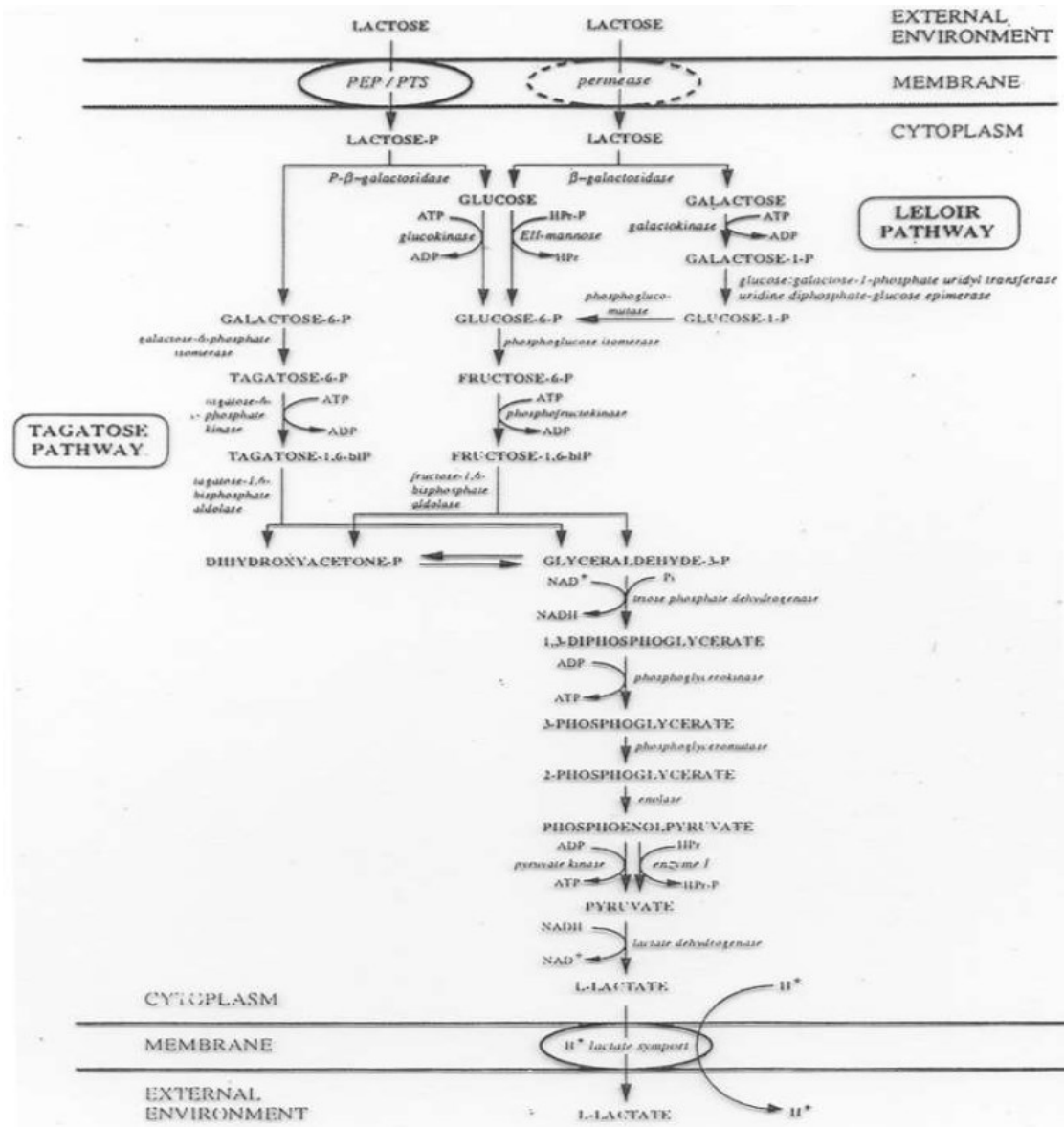
BMK, které fermentují laktózu pouze za vzniku kyseliny mléčné, jsou například *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* subs. *bulgaricus*, dále také *Pediococcus* sp. nebo *Lactococcus lactis* subs. *lactis*. [31]

Katabolizmus laktózy probíhá uvnitř bakteriální buňky, respektive v cytoplazmě. U laktobacilů vstupuje laktóza do buňky pomocí specifického přenašeče PEP-dependentní fosfotransferázy. Jedná se o specifický systém, při kterém již dochází k fosforylaci laktózy pomocí PEP a vzniku laktóza-6-fosfátu. Během přenosu laktózy do buňky se uplatňují čtyři proteiny (v pořadí enzym II, III, I a HPr). Laktóza-6-fosfát je dále hydrolyzován pomocí 3-fosfogalaktosidázy na glukózu a galaktózu. Oba monosacharidy jsou dále metabolizovány pomocí tagatózové a Embden-Mayerhof-Parnasovy (EMP) dráhy. V obou cestách dochází

k přeměně na dihydroxyacetonfosfát a glyceraldehyd-3-fosfát. Tyto tříuhlíkaté sacharidy oxidují na fosfoenolpyruvát, ze kterého v konečné fázi vzniká kyselina mléčná.[32]

U mikroorganismů jako je například *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruecki* subs. *bulgaricus*, anebo *Lactobacillus acidophilus* je využita EMP dráha především pro katabolismus glukózy. Transport laktózy do buněk je zprostředkován pomocí permeáz, které přenášejí laktózu bez chemických modifikací. Jakmile laktóza vstoupí do buňky, dochází k hydrolýze pomocí β -galaktosidázy na nefosforylovanou galaktózu a glukózu. Glukóza je dále katabolizována na pyruvát, galaktóza je v Leroyově dráze katabolizována galaktokinázou. Výsledným produktem je pyruvát, ze kterého v anaerobním metabolismu vzniká kyselina mléčná ve formě L(-). [32]

Na obrázku 2 jsou znázorněny oba typy metabolismu laktózy u homofermentativní fermentace.

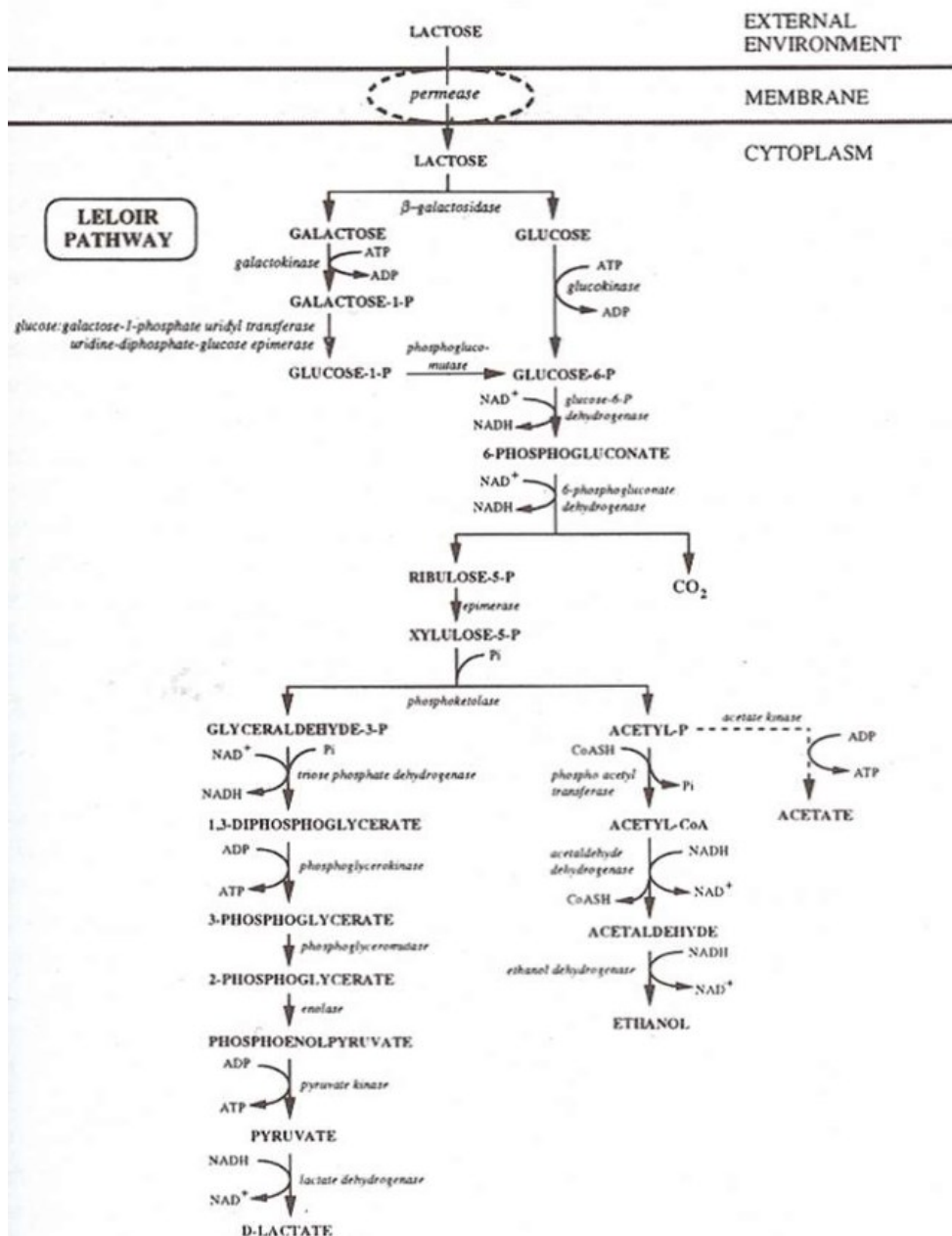


Obrázek 2: Schéma homolaktické fermentace [33]

1.3.2 Heterolaktická fermentace

Do skupiny BMK, které jsou schopné fermentovat laktózu za vzniku kyseliny mléčné, CO₂, ethanolu aj., patří například *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, a *Lactobacillus buchneri*. [34]

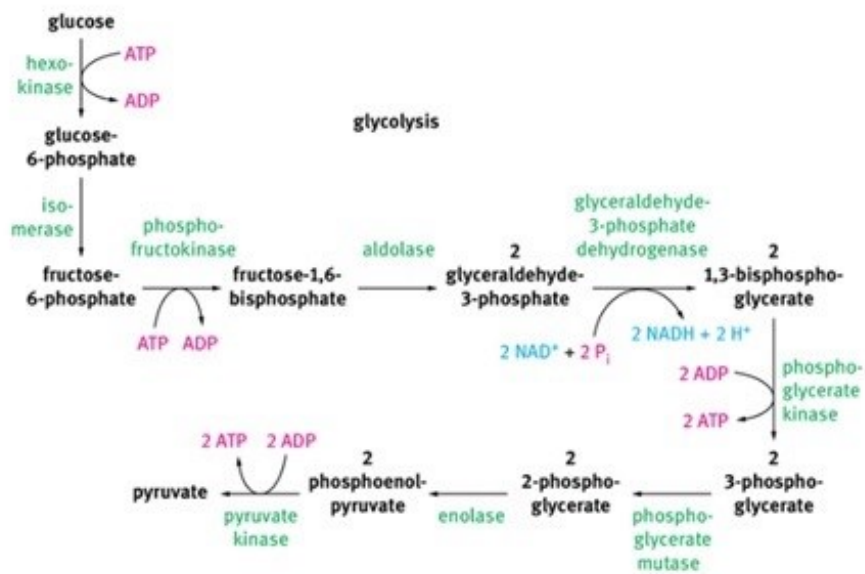
Počáteční transport laktózy do buňky a fosforylace probíhají stejně jako u homolaktické fermentace. Glukóza-6-fosfát je dále přeměněna na glukonát-6-fosfát. V následující reakci dochází k dekarboxylaci a vzniku ribulóza-5-fosfátu, dále vzniká vedlejší konečný produkt reakce, kterým je CO₂. Další reakcí je epimerace a vznik xylulóza-5-fosfátu. Pomocí fosfoketolázy dochází k rozštěpení na glycerinaldehyd-3-fosfát a acetylfosfát. Pomocí fosfotransacetylázy dochází ke přeměně acetylfosfátu za vzniku acetyl-CoA, který je redukován na acetyl, ze kterého v konečné fázi vzniká ethanol. Dalším produktem vznikajícím z acetylfosfátu je kyselina octová. Glycerinaldehyd-3-fosfát je pomocí EMP dráhy přeměněn na kyselinu mléčnou, která se vyskytuje v D(+) formě. Heterolaktická fermentace je znázorněna na obrázku 3. [30]



Obrázek 3: Schéma heterolaktické fermentace [33]

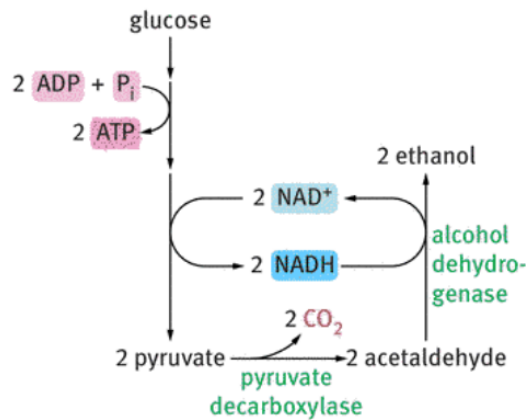
1.3.3 Alkoholová fermentace

Při procesu alkoholové fermentace dochází k přeměně glukózy na ethanol a CO₂ díky EMP dráze, jinak také glykolýze. Nejdříve dochází k fosforylaci glukózy pomocí enzymu hexokináza na glukóza-6-fosfát. Dalším krokem je izomerace na fruktóza-6-fosfát, následovaná opětovnou fosforylací na fruktóza-1,6-bisfosfát. Enzym aldoláza zajistí vznik glyceraldehyd-3-fosfátu. Následuje vznik 1,3-bisfosfoglycerátu, na který navazuje defosforylace a vznik 3-fosfoglycerátu. Pomocí izomerie vzniká 2-fosfoglycerát, následuje vznik fosfoenolpyruvátu díky enzymu enoláza. Posledním krokem glykolýzy je pak vznik pyruvátu. Proces glykolýzy a vzniku pyruvátu je znázorněn na obrázku 4. [35]



Obrázek 4: Metabolismus glukózy EMP drahou, [35]

Z pyruvátu pak díky enzymu pyruvátdekarboxyláza vzniká acetaldehyd a dochází k uvolnění CO₂. V následující reakci alkoholdehydrogenáza zajistí vznik ethanolu. Tento proces je vyobrazen na obrázku 5. [35]



Obrázek 5: Vznik ethanolu [35]

2 MIKROBIÁLNÍ KULTURY VYUŽÍVANÉ PRO VÝROBU FERMENTOVANÝCH NÁPOJŮ

Pro výrobu fermentovaných potravin se využívají takzvané starterové kultury. Jedná se o mikroorganismy, které jsou uznávány jako bezpečné. Starterové kultury jsou vybírány pro jejich výhodné vlastnosti, nebo vliv na kvalitu konečného produktu. Kultury mikroorganismů se vyskytují v různých formách. Mohou být například chlazené, zmrazené, nebo lyofilizované. [37]

Kultury se mohou dělit podle skupin mikroorganismů, které se v dané kultuře vyskytují, například se jedná o bakteriální, kvasinkové nebo smíšené kultury, které obsahují bakterie a kvasinky. Dále se mohou dělit podle druhového a kmenového složení. [38]

2.1 Bakterie mléčného kvašení

BMK patří do skupiny grampozitivních bakterií. Na základě tvaru buňky se dělí na koky a tyčinky, mohou se vyskytovat i ve tvaru kokotýčinek. Především se jedná o mezofilní mikroorganismy, nicméně některé druhy mohou růst i při chladírenských teplotách (kolem 4 °C) nebo při teplotách vyšších (45 °C), které se pak řadí do skupiny termofilních mikroorganismů. Pro správný růst vyžadují přítomnost aminokyselin, vitaminů skupiny B, a dalších živin. Nejvíce využívanými rody BMK jsou *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, nebo *Pediococcus*. [37]

Jak již bylo zmíněno v kapitole 1.3, u BMK se na základě svého metabolismu sacharidů dělí do dvou základních skupin. Homofermentativní, u kterých je hlavním produktem kyselina mléčná (až 95 % produktů) a heterofermentativní bakterie, které metabolizují laktózu za vzniku kyseliny mléčné, ethanolu a CO₂. Současně BMK produkují bakteriociny, které mají antimikrobiální účinky. Jedná se o amfipatické peptidy, které narušují membránu bakterií nežádoucí mikroflóry. Nejznámějším zástupcem bakteriocinů je nisin. Další antimikrobiální látkou, které BMK produkují, je například peroxid vodíku. [37]

Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus je klíčovou starterovou BMK pro jogurty, sýry a jiné fermentované mléčné výrobky. Současně se využívá při výrobě fermentovaných masných výrobků. *Lactobacillus acidophilus* je G⁺, kataláza negativní tyčinka. Je fakultativně anaerobní a energii získává homofermentativním metabolismem. *Lactobacillus reuteri* je heterofermentativní bakterie využívaná při výrobě fermentovaných mléčných produktů. Tato bakterie se může vyskytovat i ve fermentovaných ovocných nápojích. Jako

jedna z mála BMK produkuje i vitamin B₁₂. *Lactobacillus reuteri* může ve fermentovaných mléčných výrobcích figurovat i jako probiotická kultura. Jako probiotikum se využívá i *Lactobacillus lactis*. [37][39][40][41]

Lactococcus lactis ssp. lactis je nejdůležitější kulturou při výrobě fermentovaných výrobků. Existují dva poddruhy, a to *L. lactis ssp. lactis var. diacetylactis*, který dokáže konvertovat kyselinu citronovou na diacetyl. Diacetyl je významnou součástí mléčných výrobků, kterým dodává příjemnou máslovou chuť. Naopak tvorba diacetylu je nežádoucí například při výrobě piva. Druhým poddruhem je *var. cremoris*, který je využíván pro své vlastnosti hlavně při výrobě sýrů. [37]

Leuconostoc mesenteroides ssp. mesenteroides, dextranicum a *Leuconostoc lactis* jsou důležitými mikroorganismy při výrobě fermentovaných potravin. Produkují extracelulární polysacharidy, které dodávají výrobkům plnost a stabilitu. Jedná se o skupinu heterofermentativních koků. [37]

Streptococcus thermophilus je v kombinaci s *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* součástí jogurtové kultury. Metabolizuje laktózu homofermentativní cestou. Jedná se o jediného zástupce ze skupiny streptokoků, který se využívá k výrobě fermentovaných mléčných výrobků. [37][42]

2.1.1 Růstové faktory BMK

Teplota

Optimální teplota růstu se liší u mezofilních a termofilních kultur. Mezofilní kultury BMK, mezi které se řadí například *Lactococcus*, *Leuconostoc* nebo *Pediococcus*, mají optimální teplotu růstu v rozmezí 25–30 °C. Pro termofilní kmeny, jako jsou rody *Streptococcus* nebo *Lactobacillus*, je optimální teplota růstu mezi 37–45 °C. [43]

pH

BMK rostou v prostředí, jehož hodnota pH se pohybuje mezi 4,0–4,5. Některé kmeny jsou však schopné růst i při pH > 9. Taktéž při pH < 3,2 je možné pozorovat růst BMK. [37]

Vodní aktivita

Většina bakterií není schopná růst v prostředí, ve kterém je hodnota vodní aktivity nižší než 0,9. Tohoto jevu se využívá například sušením výrobků, díky čemuž jsou chráněny proti sporulaci mikroorganismů nežádoucí mikroflóry. [37]

2.2 Kvasinky

Kvasinky se řadí do říše hub, kde patří mezi *Eumycota*. Kvasinky jsou heterotrofní mikroorganismy, jejichž přirozeným prostředím jsou povrchy rostlin (květy, plody aj.). Kvasinky mohou být jak obligátně, tak fakultativně anaerobní. Mají relativně nízké nutriční nároky. Hlavním zdrojem je uhlík získávaný například ze sacharidů. Další důležitou živinou je dusík, který získávají z aminokyselin. Současně je potřeba pro správný metabolismus i přítomnost vitaminů, zejména biotinu, kyseliny pantothenové a thiaminu. Tvar buňky je převážně kulovitý nebo elipsoidní. Rozmnožují se nepohlavně pomocí pučení. Proces pučení může proběhnout až dvacetkrát, přičemž se pokaždé vytvoří na mateřské buňce jizva. Kvasinka *Schizosaccharomyces* se rozmnožuje dělením. [36][37][44]

Řídící procesy v buňce kvasinky jsou založeny na koncentraci sacharidů v médiu. Jestliže je sacharidů dostatek, kvasinky je metabolizují procesem fermentace, kdy ze vzniklého pyruvátu vzniká přes meziprodukt acetaldehyd výsledný ethanol. Při nízkých koncentracích dochází ke vzniku acetyl-CoA, který vstupuje do dýchacího řetězce. [37]

Kvasinky se využívají při výrobě pečiva, alkoholických nápojů jako je víno, pivo nebo cider. Mohou být součástí kefirové kultury, která se využívá při výrobě fermentovaných mléčných výrobků. Byly izolovány také z kakaa, fermentovaných masných výrobků nebo medu. [46]

Saccharomyces cerevisiae je nejvíce využívanou kvasinkou ve fermentovaných nápojích na bázi ovoce a zeleniny. *Saccharomyces cerevisiae* fermentuje glukózu i další sacharidy rostlinného původu, jako například sacharózu, maltózu nebo rafinózu. Nedokáže však fermentovat mléčný cukr laktózu. [44]

Saccharomyces cerevisiae mají vyšší odolnost vůči zvýšeným teplotám oproti jiným kvasinkám. Mohou být také mírně odolné proti určitým inhibičním látkám jako jsou kyselina sorbová nebo kyselina benzoová. Kvasinky mohou být zdrojem nežádoucí mikroflóry v nealkoholických nápojích. [45]

Kluyveromyces ssp. vytváří během metabolismu sacharidů oproti kvasinkám rodu *Saccharomyces* ethylacetát. Současně také produkuje relativně malé množství ethanolu ve výsledném produktu, přibližně 4–4,5 %. [47]

Kvasinky *Kluyveromyces marxianus* a *Kluyveromyces lactis* jsou schopné laktózu hydrolyzovat a fermentovat galaktózu. Existuje mnoho druhů kvasinek *Kluyveromyces*, které byly izolovány z fermentovaných mléčných výrobků jako je kumys nebo kefir.

Kluyveromyces marxianus lze izolovat z cukrové řepy, sušených fiků, melasy, sýrů, keřfrových zrn, nebo piva a vína. [44][46][48]

2.2.1 Růstové faktory kvasinek

Teplota

Optimální teplota růstu kvasinek rodu *Saccharomyces* je v rozmezí 33–35 °C. Mohou růst i při nižších (4 °C) nebo vyšších teplotách (až 43 °C). *Kluyveromyces marxianus* je termotolerantní, proto je schopná růst i při teplotách kolem 48–58 °C. Rostou však velmi dobře i při nízkých teplotách kolem 8–10 °C. Tyto kvasinky jsou běžně inhibovány teplotami využívanými pro pasteraci mléka. [46]

pH

Kvasinky rodu *Saccharomyces* rostou při relativně širokém rozmezí hodnot pH. Nejlépe rostou kvasinky v prostředí, které má hodnotu pH 3–7. Minimální hodnota pH, při které jsou schopny kvasinky růst, se pohybuje v rozmezí 1,5–2,5. Maximální hodnota pH by pak neměla překročit hodnotu pH 8,5. *Kluyveromyces marxianus* je schopen růst v prostředí, jehož hodnota pH se pohybuje v rozmezí 3–8. [46]

Vodní aktivita

Saccharomyces nejsou osmo- ani xerotolerantní. Nerostou v prostředí, které má vodní aktivitu nižší než 0,85–0,88. Nejnižší hodnota aktivity vody, při které byl ještě pozorován růst kvasinek, byla 0,89 a_w . K dispozici nejsou konkrétní hodnoty aktivity vody prostředí vhodné pro růst kvasinek *Kluyveromyces* spp. [46]

2.3 Mléčný keřfir

Při fermentaci mléka keřfrovou kulturou vzniká kyselý, mírně alkoholický nápoj, který je oblíbený především ve východní Evropě a střeoasijských zemích. Obliba mléčného keřfiru v posledních letech vzrůstá i díky poptávce po výrobcích s nízkým obsahem laktózy. Mléčný keřfir také obsahuje významné množství bílkovin, probiotik a prebiotik. [49]

Keřfir má řadu zdravotních benefitů. Například napomáhá ke snížení cholesterolu v krvi, má antioxidační, antimikrobiální a protinádorové účinky. Dále je díky procesu fermentace lépe stravitelná laktóza. [50]

Keřfrová zrna jsou tvořena symbiotickým mikrobiálním ekosystémem, který je složený z BMK, bakterií octového kvašení a kvasinek. Kulturey mléčného keřfiru obsahují

mikroorganismy rodů *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Sacharomyces* a *Kluyveromyces*. Jedná se například o *Lactobacillus delbrueckii*, *Lb. acidophilus*, *Lb. brevis*, *Lb. helveticus*, *Lb. paracasei*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis* nebo *Saccharomyces cerevisiae*. Součástí zrn je exopolysacharidová matrice, známá také jako kefiran, která chrání mikroorganismy před nepříznivým prostředím a tvoří až 25 % sušiny kefirového zrna. BMK a kvasinky přítomné v kultuře kefiru fermentují sacharidy za vzniku ethanolu. Ethanol je následně oxidován bakteriemi octového kvašení za vzniku kyseliny octové. [49][50][51][57]

Zrna mléčného kefiru jsou malá, zrnitá, bílé až krémové barvy. Mají polotuhou konzistenci a mohou být i rozeznatelné v produktu. Velikost zrn se pohybuje mezi 0,1–2 cm. Obsah sušiny v zrně mléčného kefiru je v průměru 14 %. [56]

Mléčný kefir se může připravovat přidáním přibližně 5–10 % kefirových zrn do mléka. Využívají se i kultury lyofilizované. Mléko může být odstředěné, polotučné i plnotučné, stejně jako se využívá kozí, ovčí, nejčastěji pak kravské. Fermentace probíhá při pokojové teplotě přibližně 24–72 hodin. Laktóza je během procesu fermentace rozkládána na kyselinu mléčnou, což způsobuje pokles pH na hodnotu 4,0–4,6. Během fermentace dochází ke vzniku CO₂, ethanolu (0,5–2 %) a jiných sensoricky aktivních látek, jako jsou například diacetyl, kyselina octová, aldehydy aj. [49]

2.4 Vodní kefir

Vodní kefir je šumivý, osvěžující, nízkoalkoholický nápoj s lehce kyselou a ovocnou chutí. Jedná se o vhodnou alternativu fermentovaných nápojů pro skupiny obyvatel nekonzumující potraviny pocházející ze zvířat, mající intoleranci laktózy nebo alergii na mléčnou bílkovinu. Zrna vodního kefiru (jinak se může použít i název tibi) slouží pro výrobu fermentovaných nápojů, u kterých je hlavním vodním prostředím roztok sacharózy, do kterého je možné přidat sušené ovoce pro zlepšení chuti. Ve studii z roku 2022 se Meng-Yun Chen *et al.* zabývali možností využití syrovátky jako hlavního substrátu pro výrobu fermentovaných nápojů pomocí zrn vodního kefiru. Během fermentace vzniká kyselina mléčná, ethanol, kyselina octová, CO₂ a další sensoricky aktivní látky, které vznikají symbiotickým působením mikroorganismů přítomných v zrnech vodního kefiru. [52][54][56][58]

Mnoho výzkumů potvrdilo příznivý účinek vodního kefiru na lidský organizmus. Nápoje mají například protizánětlivé, antioxidační, protinádorové účinky a mohou i snižovat hladinu cholesterolu v krvi. Exopolysacharidy, které vodní kefir produkuje, jsou

považovány za prebiotika, která mají příznivý vliv na modulaci metabolismu střevní mikroflóry. [55]

Součástí vodních keřirových kultur jsou BMK, octové bakterie a kvasinky. Například komerčně dostupná kultura vodního keřiru značky Wugi uvádí přítomnost mikroorganismů rodu *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Saccharomyces*, *Acetobacter* a *Kluyveromyces*. Současně kultury vodního keřiru obsahují i polysacharid, většinou dextrózu, jako nosič daných kultur. [53][54]

Zrna vodního keřiru mají rosolovitý vzhled, barva může být různá od průsvitné až po nažloutlou nebo hnědou, ale bývá ovlivněna fermentačním materiálem (např. barvou ovoce nebo zeleniny). Zrna nejsou oproti zrnům mléčného keřiru viditelná ve výsledném produktu. Tvar zrn je nepravidelný a velikost se pohybuje od milimetrů až do několika centimetrů. Na obrázku 6 je porovnání vzhledu zrn mléčného a vodního keřiru. [56]

Fermentace vodního keřiru probíhá za anaerobních podmínek při pokojové teplotě přibližně 24–96 hodin. Koncentrace sacharidů ve výchozí surovině by měla být 6–10 %. Výsledný produkt je pak jemně kyselý šumivý nápoj s lehkým ovocným aroma. Obsah alkoholu v nápoji je obvykle nízký (méně než 1 %). Keřir má velmi univerzální fermentační prostředí, neboť zrna jsou schopná růst v mnoha substrátech. Typickým prostředím je sacharóza, melasa, med, ovocné a zeleninové šťávy a ve vodě rozpustné rostlinné extrakty. Využití dalších substrátů může zvýšit nutriční hodnotu nápoje a obohatit jej o nové chutě a vůně. [52]

Spojení vodního keřiru může být atraktivní v kombinaci s inulinem a kokosovým cukrem, na což se zaměřila ve své studii Alvesová *et al.* (2021). Kokosový cukr má oproti rafinovaným cukrům nižší glykemický index a charakteristické aroma, díky čemuž dodá fermentovanému nápoji atraktivní chuť. Inulin se řadí mezi komplexní sacharidy, který není tráven a má pozitivní účinky na lidský organizmus. Díky svým vlastnostem může také zlepšovat texturu potravin. [52]



Obrázek 6: Zrna mléčného a vodního kefiru, upraveno podle [55]

3 OCHUCUJÍCÍ SLOŽKY VYUŽÍVANÉ PŘI VÝROBĚ NÁPOJŮ

Přídavek aromatizujících látek upravuje nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1334/2008 ze dne 16. prosince 2008 o látkách určených k aromatizaci a některých složkách potravin vyznačujících se aromatem pro použití v potravinách nebo na jejich povrchu. Dané nařízení se nevztahuje na látky přirozeně sladké, kyselé a slané. Stejně tak se nevztahuje na jednosložkové potraviny, jako jsou směsi koření, bylin nebo směsi čajové. Nařízení například definuje termíny „látka určená k aromatizaci“, „aromatická látka“, „aromatický přípravek“ aj. [59]

Ochucující látky se používají pro vytvoření specifické chuti a aroma daných výrobků. Při přídavku látek určených k ochucení a aromatizaci potravin by nemělo docházet k ohrožení zdraví spotřebitele a nesmí spotřebitele uvádět v omyl. [59][60]

Před uvedením na trh se provádí toxikologické testování přídatných látek a potravinářských přísad. Současně je testována bezpečnost těchto látek. Jakmile je zjištěna toxicita anebo nepříznivé účinky na lidské zdraví, jsou tyto látky zakázány nebo je jejich použití omezeno. Seznam povolených látek se v různých zemích liší. Je také určeno maximální povolené množství ochucující složky, které může být pro ochucení do výrobku přidáno. [32][60]

Pro ochucení a aromatizaci se využívají produkty, které se mohou dělit do tří kategorií. Jedná se o látky přírodní, přírodně identické a umělé. Aromatické látky, které se získávají z přírodních zdrojů fyzikálními, enzymatickými nebo mikrobiologickými procesy mohou být označeny jako přírodní. Jestliže jsou látky získány chemickou syntézou, ale jsou totožné s látkami vyskytujícími se v přírodě, používá se termín přírodně identické. Syntetická látka určená k aromatizaci, která nemá v přírodě běžné zastoupení, se pak označuje jako umělá. Tato klasifikace je však velmi zjednodušená. V průmyslu se využívají aromatizující látky chemického/syntetického původu, protože poskytují chuť velmi blízkou přírodním látkám. [32][62]

Pro ochucení nápojů se mimo aromát využívají i různé formy ovoce a zeleniny, například ovocné a zeleninové šťávy, pulpy, polotovary, koncentráty nebo esence. [63][64]

Ovocné a zeleninové šťávy

Ovocné šťávy lze vymačkat přímo z ovoce (u citrusů), dále se získávají z rozdrceného materiálu pomocí lisování (hrozny, jablka, bobuloviny, třešně aj.). V případě mrkve se šťáva získává z rozmělněného materiálu. Při výrobě se dále může uplatňovat filtrace nebo čiření.

Ve šťávách je přibližně 8–15 % rozpustných pevných látek, kde nejvyšší zastoupení mají sacharidy a kyseliny. Pro prodloužení trvanlivosti se využívá tepelné ošetření. [62][65][68]

Přídavek šťáv do výrobku zvyšuje náchylnost výrobku k působení mikroorganismů, které způsobují kažení výrobku, především se jedná o kvasinky a plísně. Pro zabránění kontaminace se využívá tepelné ošetření šťáv, nejčastěji se jedná o pasteraci. Jestliže má šťáva nízkou hodnotu pH, například šťáva z citrusových plodů (citron, limetka aj.), proces pasterace se nemusí využívat. U šťáv, vyrobených z ovoce bohatého na pektin, může v konečném výrobku docházet k tvorbě gelů, jestliže je použita voda bohatá na obsah vápníku. [62]

Pro výrobu fermentovaných syrovátkových nápojů se nejčastěji využívají šťávy z tropického ovoce nebo jablek. Současně se v posledních letech více objevují kombinace se zeleninovou šťávou, například rajčatovou nebo mrkvovou. Nursiwi *et al.* (2017) ve své studii zkoumali nejvhodnější přídavek rajčatové šťávy do fermentovaných syrovátkových nápojů. Pro přípravu šťávy byla použita čerstvá rajčata, která byla nakrájena, rozmixována a filtrována. Na základě provedených analýz se jako nejlepší jeví přídavek 5 % šťávy. Vyšší přídavky sice zvyšovaly antioxidační aktivitu výrobku, nicméně výsledná chuť byla příliš kyselá a senzoricky nepřijatelná. [64][66]

Kombinaci s mrkvovou šťávou sledovali ve své studii Arsić *et al.* (2018). Při výrobě modelových vzorků využili komerčně dostupnou pasterovanou mrkvovou šťávu. Kombinace fermentovaných syrovátkových nápojů a mrkvové šťávy mohou působit jako jeden z prostředků pro doplnění vitamínu A při jeho nedostatku ve stravě. Tyto výrobky navíc obsahují vysoké koncentrace přírodních antioxidantů (vitamin C, β -karoten a antokyaniny) spolu s BMK, které mohou mít i probiotické účinky. Mnoho studií prokázalo příznivé zdravotní účinky spojené právě s probiotiky, přírodními antioxidanty a prebiotiky. [1][64]

Ovocné a zeleninové polotovary

Ovocné polotovary se využívají v mnoha potravinářských odvětvích, aby dodaly výrobkům barvu, chuť a strukturu, kterou by dodalo čerstvé ovoce. Při výrobě je využíván tepelné ošetření, které může způsobovat ztrátu přirozené barvy použitých surovin. Pro zajištění standardizované správné barvy směsi se přidávají barviva. Pro zpracování se využívají vakuové výrobníky, které zajistí zachování správné chuti. Dochází k odpaření vody do

konečné sušiny přibližně 65 %. Aromatické sloučeniny však mohou být nejprve separovány a po odpaření vody opět vráceny do výrobku. [67][69]

Ovocné přípravky se mohou skládat tedy z cukru, ovocné složky (přibližně 20–90 %), kyseliny citronové, konzervantů (například sorban draselný) a barviv. Při výrobě nápojů, které mají žloutooranžové barvy se využívá přídavek mrkve nebo dýně. [63][67][69]

Ovocné a zeleninové koncentráty

Ovocné šťávy se do nápojů mohou přidávat i ve formě koncentrátů. V určité fázi výroby se ovocné/zeleninové šťávy zahustí za účelem prodloužení trvanlivosti pomocí snížení obsahu vody a zvýšením celkového obsahu rozpustných látek. Zakoncentrování šťáv zjednodušuje skladování, přepravu a cenu. Zahuštění se musí provádět pečlivě, aby se zabránilo ztrátě aromatických látek, a tedy zhoršení organoleptických vlastností. [68]

Nejběžnější metodou zahušťování je odpařování. Vzhledem k citlivosti složek ovoce a zeleniny vůči zvýšeným teplotám se využívá vakuové odpařování. Dále je možné využít pro výrobu koncentrátu zmrazování při teplotách nižších než 0 °C. Voda vytváří krystaly ledu, které se oddělují od suspenze pomocí mechanické separace, čímž se zvýší obsah rozpustných látek. Touto metodou se však zahušťují pouze šťávy vyčištěné, jinak by mohlo docházet k vysokým ztrátám koncentrátu. Během zahuštění pomocí zmrazování nedochází ke ztrátám aroma, barvy ani vitaminů. [68]

Esence

Příchutě do nealkoholických nápojů obvykle obsahují velké množství látek, ať už přírodních nebo získaných synteticky. Některé látky určené k ochucení nápojů bývají dodávány ve formě emulze, které jsou rozpustné nebo mírně rozpustné jako jsou například esenciální oleje. Současně mohou být tyto látky náchylné k oxidaci. Nejvíce nestabilní jsou esenciální oleje citrusů. Výrobci esencí pak uvádějí dobu použitelnosti a podmínky skladování. Esence by měly být skladovány v temnu při nízkých teplotách (5–10 °C). Trvanlivost esencí je minimálně 1 rok, nicméně u esencí z citrusových plodů je doba skladování omezena pouze na 6 měsíců. [62]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce byl vývoj nového typu fermentovaného syrovátkového nápoje pomocí kultury vodního a mléčného keříru, který navíc obsahuje jako ochucující složku zeleninovou šťávu. Na základě výsledků získaných sledováním vybraných fyzikálně-chemických, sensorických a reologických vlastností modelových vzorků po dobu 6 týdnů, bylo účelem zjistit, který druh keřirových zrn a poměr zeleninové šťávy a syrovátky se jeví jako nejvhodnější pro výrobu tohoto typu fermentovaného syrovátkového nápoje.

5 METODIKA PRÁCE

5.1 Materiál a metody stanovení

V následujících podkapitolách jsou sepsány suroviny a přístroje, které byly využity pro výrobu modelových vzorků a pro následné stanovení vybraných fyzikálně-chemických, reologických a senzorických vlastností. Následuje technologický postup výroby modelových vzorků.

5.1.1 Suroviny

Mléčné a vodní kefirové kultury Wugi

- výrobce: UNIBIOM s.r.o., Smetanovo nábřeží 956/6, 690 02 Břeclav, Česká republika, vyrobeno v EU
- složení – mléčný kefir: dextróza jako nosič kefirových kultur, kefirové kultury (mikroorganismy z rodů: *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*)
- složení – vodní kefir: hnědý cukr jako nosič kefirových kultur, kefirové kultury (mikroorganismy z rodů *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Saccharomyces*, *Acetobacter*, *Kluyveromyces*)

Sušená syrovátka

- výrobce: Mogador s.r.o., Tř. Tomáše Bati 1664, Otrokovice 765 02, Česká republika
- složení: sušená syrovátka
- výživové údaje, viz tabulka 3:

Tabulka 3: Výživové údaje na 100 g (syrovátka)

energetická hodnota	1532 kJ (361 kcal)
tuky	0,5 g
- z toho nasycené mastné kyseliny	0,3 g
sacharidy	76 g
- z toho cukry	68 g
vláknina	0 g
bílkoviny	13 g
sůl	2,8 g

dmBio mrkvová šťáva

- výrobce: vyrobeno v Německu, dm-drogerie markt GmbH + Co. KG, Am dm-Platz 1, DE-76227 Karlsruhe
- složení: 99,9 % mrkvová šťáva*, 0,1 % citronová šťáva* (*z biodynamického zemědělství)
- výživové údaje, viz tabulka 4:

Tabulka 4: Výživové údaje na 100 g (mrkvová šťáva)

energetická hodnota	167 kJ (40 kcal)
tuky	<0,5 g
- z toho nasycené mastné kyseliny	<0,1 g
sacharidy	8,8 g
- z toho cukry	8,8 g
vláknina	<0,5 g
bílkoviny	1 g
sůl	0,27 g
vitamin A (z provitaminu A)	1100 µg

5.1.2 Přístroje

Alcolyzer Plus Anton Paar (Anton Paar GmbH, Rakousko)

Density meter DMA 4500 Anton Paar (Anton Paar GmbH, Rakousko)

pH meter Foodcare HI 99161 (Hanna Instruments, USA)

Digital refractometer Kern ORF 45BE (Kern & Sohn GmbH, Německo)

Water Activity Meter (AquaLab, Decagon Devices, Inc., USA)

HAAKE RheoStress 1 (Thermo Fisher Scientific, USA)

Konduktometr CyberScan CON 110 (Eutech Instruments, Thermo Scientific, USA)

Centrifuga EBA 21 (Hettich, Německo)

5.2 Výroba modelových vzorků

Bylo vyrobeno celkem 10 modelových vzorků fermentovaných syrovátkových nápojů ochucených mrkvovou šťávou. Jednalo se o dvě sady vzorků po pěti, kdy jedna sada vzorků byla zaočkována mléčným kefirem, druhá pak kefirem vodním.

5.2.1 Surovinová skladba a značení vzorků

Mléčný kefir (5 % zákysu)

- K_100: 100 % mrkvová šťáva
- K_95: 95 % mrkvová šťáva, 5 % syrovátka
- K_85: 85 % mrkvová šťáva. 15 % syrovátka
- K_75: 75 % mrkvová šťáva, 25 % syrovátka
- K_65: 65 % mrkvová šťáva, 35 % syrovátka

Vodní kefir (5 % zákysu)

- V_100: 100 % mrkvová šťáva
- V_95: 95 % mrkvová šťáva, 5 % syrovátka
- V_85: 85 % mrkvová šťáva. 15 % syrovátka
- V_75: 75 % mrkvová šťáva, 25 % syrovátka
- V_65: 65 % mrkvová šťáva, 35 % syrovátka

5.2.2 Výroba modelových vzorků

Výroba zákysu

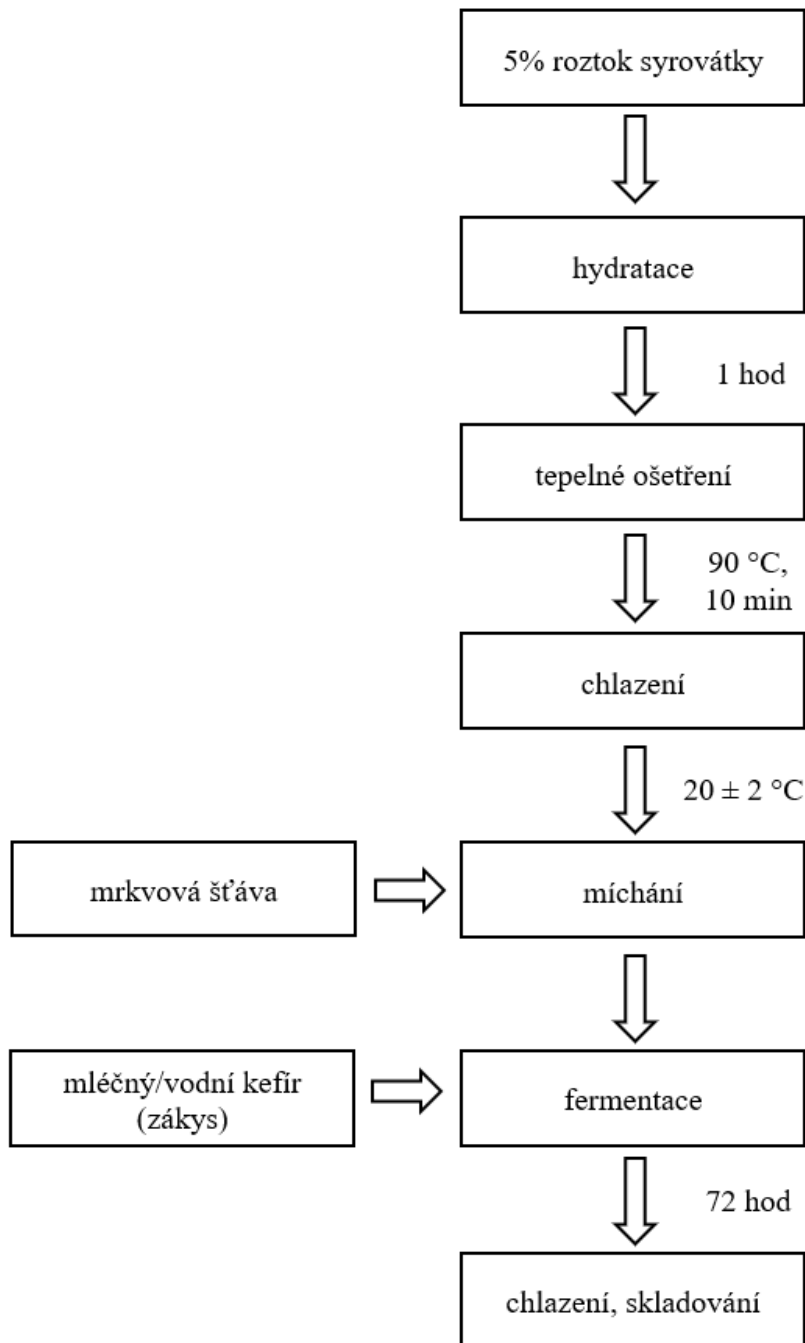
Pro výrobu zákysu byly použity kultury mléčného a vodního kefiru zn. Wugi, ze kterých byly stejným způsobem připraveny matečné zákysy. Do 0,5 l mrkvové šťávy zn. dmBio bylo přidáno 5 g lyofylizované kultury vodního či mléčného kefiru. Matečný zákys byl promíchán a ponechán fermentovat po dobu 48 hodin za účelem vyvinutí aktivního inokulátu.

Výroba modelových vzorků fermentovaných syrovátkových nápojů

Nejdříve byl vyroben 5% roztok syrovátky. Do vody bylo přidáno vypočítané množství sušené syrovátky. Po dobu 1 hodiny probíhala hydratace roztoku syrovátky. Pro tepelné ošetření roztoku byla využita pasterace při dosažení teploty 90 °C po dobu 10 minut.

Následovalo chlazení roztoku syrovátky na teplotu 20 ± 2 °C. Dané množství syrovátky bylo rozlito do čtyř fermentačních nádob a doplněno vypočítaným množstvím mrkvové šťávy do celkového objemu 1,5 litru. Poslední pátý vzorek byl tvořen pouze mrkvovou šťávou.

Všechny vzorky byly zaočkovány zákysem o celkovém množství 5 % (vztaženo na celkový objem vzorku). Fermentace všech vzorků probíhala při $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 72 hodin. Následně byly všechny vzorky přesunuty do chladiřenského prostoru, kde byly skladovány při teplotě $4 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ do 42. dne ode dne výroby. Schéma výroby je zjednodušeně znázorněno na obrázku 7.



Obrázek 7: Schéma výroby nápojů

5.3 Fyzikálně-chemická analýza

U modelových vzorků byly provedeny odběry vzorku během procesu fermentace, další odběry byly provedeny v průběhu skladování. U obou sad modelových vzorků byly provedeny odběry pro fyzikálně-chemické analýzy 0., 1., 2., 3., 7., 14., 21., 28. a 42. den. Sledovanými vlastnostmi byla změna pH, TDS, refraktometrické sušiny, skutečného stupně fermentace, obsahu alkoholu, hustoty a aktivita vody v průběhu fermentace a skladování.

5.3.1 Stanovení pH

Hodnota pH je vyjádřena jako záporně vzatý dekadický logaritmus koncentrace vodíkových iontů. pH nabývá hodnot 0–14, přičemž jako neutrální je dána hodnota $pH = 7$. [70]

$$pH = -\log[H_3O^+]$$

Stanovení hodnoty pH modelových vzorků bylo provedeno pomocí digitálního pH metru viz obrázek 8 (Foodcare HI 99161 (Hanna Instruments, USA)) při laboratorní teplotě 20 ± 2 °C vždy třikrát u každého vzorku ($n = 3$). Výsledné průměrné hodnoty včetně směrodatné odchylky jsou znázorněny graficky na obrázku 14 a 15.



Obrázek 8: pH metr Foodcare HI 99161 [91]

5.3.2 Stanovení TDS

TDS (total dissolved solids) udává celkové množství rozpuštěných organických a anorganických složek v roztoku. Základní jednotkou je ppm – jednotky na milion. [71]

Hodnota TDS u modelových vzorků byla stanovena pomocí konduktometru, viz obrázek 9 (CyberScan CON 110 (Eutech Instruments, Thermo Scientific, USA)). Stanovení bylo provedeno při laboratorní teplotě 20 ± 2 °C vždy třikrát ($n = 3$) u každého vzorku. Průměrné hodnoty jsou uvedeny v jednotkách ppt včetně směrodatné odchylky jsou uvedeny na obrázku 16 a 17.



Obrázek 9: Konduktometr CyberScan CON 110 [92]

5.3.3 Stanovení refraktometrické sušiny

Refraktometry měří index lomu kapaliny, na základě čehož se zjišťuje obsah sacharidů ve vzorku. Jednotkou je například stupeň Brix (°Bx). 1 °Bx odpovídá 1 gramu sacharózy ve 100 g kapaliny. [72][73]

Měření refraktometrické sušiny bylo provedeno pomocí digitálního refraktometru, viz obrázek 10 (Kern ORF 45BE (Kern & Sohn GmbH, Německo)). Stanovení bylo provedeno vždy třikrát ($n = 3$) při teplotě 20 ± 2 °C. Vzorek byl dávkován pomocí kapátka. Hodnota refraktometrické sušiny byla stanovena v jednotkách °Bx. Výsledné průměrné hodnoty jsou uvedeny včetně směrodatné odchylky graficky na obrázku 18 a 19.



Obrázek 10: Digitální refraktometr Kern ORF 45BE [93]

5.3.4 Stanovení aktivity vody

Aktivita vody je definována jako „poměr tlaku vodních par potraviny k tlaku par destilované vody při dané teplotě“. Hodnota aktivity vody se pohybuje v rozmezí 0–1. Hodnota $a_w = 0$ značí dokonale suchou potravinu, hodnota $a_w = 1$ značí destilovanou vodu. [74]

Aktivita vody byla stanovena pomocí přístroje Water Activity Meter (AquaLab, Decagon Devices, Inc., USA). Před samotným měřením byl přístroj kalibrován pomocí kalibračního roztoku o přesné hodnotě aktivity vody $a_w = 0,920$. Vzorky byly měřeny vždy třikrát ($n = 3$). Výsledné hodnoty aktivity vody vzorků jsou graficky znázorněny na obrázku 20 a 21.



Obrázek 11: Water Activity meter [94]

5.3.5 Stanovení alkoholu, hustoty a stupně fermentace

Měření přístroje AlcoLyzer je založeno na NIR (z angl. near infrared spectroscopy). Jedná se o spektrofotometrickou metodu přímého stanovení obsahu alkoholu ve vzorku. Pro zjištění hustoty vzorků slouží přístroj Density meter DMA 4500 Anton Paar (Anton Paar GmbH,

Rakousko). Příklad Alcolyzer je vybaven softwarem pro zjištění doplňujících údajů o vzorku, mezi které patří např. stupeň fermentace, kalorie, extrakt aj. [75][76]

RDF (skutečný stupeň fermentace) lze vypočítat i za pomoci hodnot obsahu alkoholu a skutečného extraktu. Pro výpočet je možné použít Ballingův vzorec [77][78]:

$$V_{m,v} = 100 \frac{p - m, n}{p}$$

Tento vzorec však vyjadřuje zároveň skutečný i zdánlivý stupeň fermentace, proto Analytica ASBC upravila vzorec pro výpočet RDF [78]

$$RDF = 100 \frac{2,0665A}{2,0665A + n}$$

Kde:

A obsah alkoholu [% m/m]

n skutečný extrakt [% m/m]

Před měřením byly vzorky odstředěny a současně zbaveny plynů pomocí centrifugy. Vzorky byly centrifugovány při 6000 ot/min po dobu 10 minut. Pomocí přístroje Alcolyzer viz obrázek 12 (Anton Paar GmbH, Rakousko) byly měřeny hodnoty hustoty a obsahu ethanolu (% v/v), dále byla stanovena hodnota RDF. Výsledky stanovení hustoty jsou graficky znázorněny na obrázku 22 a 23. Obsah ethanolu na obrázku 24 a 25. Hodnoty RDF jsou na obrázku 26 a 27.



Obrázek 12: Density meter DMA 4500 [95]

5.4 Reologická analýza

Reologická analýza byla provedena pomocí reometru HAAKE RheoStress 1 (Thermo Fisher Scientific, USA) v rámci čtyř cyklů měření. První cyklus byl vzestupný ($\gamma = 0-100 \text{ s}^{-1}$) po

dobu 120 s, druhý cyklus byl sestupný ($\dot{\gamma} = 100-0 \text{ s}^{-1}$) po dobu 120 s, třetí cyklus opět vzestupný ($\dot{\gamma} = 0-40 \text{ s}^{-1}$) po dobu 30 s, poslední čtvrtý cyklus byl při konstantní smykové rychlosti ($\dot{\gamma} = 40 \text{ s}^{-1}$) po dobu 60 s.

Pro popis reologických vlastností modelových vzorků byl využit PowerLaw model, který slouží pro látky pseudoplastické a dilatantní. PowerLaw model lze vyjádřit vztahem [79]:

$$\tau = K\dot{\gamma}^n$$

Kde:

τ smykové napětí [Pa]

K součinitel konzistence [Pasⁿ]

$\dot{\gamma}$ smyková rychlost [s⁻¹]

n index tokového chování [-]

Reologická analýza byla zaměřena na sledování smykového napětí a viskozity modelových vzorků při zvyšujícím se gradientu smykové rychlosti. Geometrie, zvolená pro reologickou analýzu, byla válec-válec, štěrbina byla široká 2,1 mm. Dávkovaný objem vzorku byl 1 ml. Měření bylo provedeno vždy dvakrát ($n=2$) při teplotě 19,3 °C.



Obrázek 13: Reometr HAAKE Rheostress 1 [96]

5.5 Senzorická analýza

Všechny vzorky byly v průběhu fermentace i skladování podrobeny sensorické analýze. Sledovanými organoleptickými vlastnostmi byla barva, chuť a vůně, sladkost a kyselost a celkový dojem. Na základě získaných výsledků pak bylo vyhodnoceno, který vzorek byl vnímán jako nejpříjemnější. Sensorická analýza probíhala v úzkém kruhu hodnotitelů. Pro hodnocení organoleptických vlastností byla využita stupnicová a preferenční zkouška. Sensorický dotazník je uveden v příloze I.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Výsledky stanovení pH

Nízké hodnoty pH zabraňují růstu většiny patogenních mikroorganismů a vytvářejí vhodné prostředí pro růst kvasinek a probiotických kmenů BMK. [80] Snížení hodnot pH během fermentace je dáno vznikem CO₂, ethanolu, a jiných senzoryicky aktivních látek, mezi které patří např. organické kyseliny aj. [1] pH v nápojích se snižuje, což je dáno mimo jiné i rozkladem laktózy pomocí β -galaktosidázy, která je produkována BMK, na kyselinu mléčnou. Ta zvyšuje koncentraci H⁺ iontů, což způsobí snížení hodnot pH. Příklad zeleninové šťávy způsobí pokles pH, neboť charakteristickou vlastností je jejich kyselost. Proto čím více zeleninové šťávy je v nápoji obsaženo, tím více poklesne hodnota pH nápoje. [66]

Hodnoty pH byly měřeny ve třech opakováních během procesu fermentace a dále během skladování vždy 0., 1., 2., 3., 7., 14., 21., 28. a 42. den.

Obě sady modelových vzorků vykazují přibližně stejný trend vývoje hodnot pH během celého experimentu. U všech vzorků byla počáteční hodnota pH kolem 6. Konečný 42. den skladování se pohybovalo pH modelových vzorků kolem hodnoty 3,8.

Studie A Nursiwi *et al.* (2016) se zabývala výrobou fermentovaných syrovátkových nápojů s přídatkem tomatové šťávy. pH vzorků ve studii pokleslo během 18 hodin fermentace z počáteční hodnoty 5,6–6,12 na méně než 4,7. [66] Zmíněné výsledky lze srovnat s výsledky této diplomové práce.

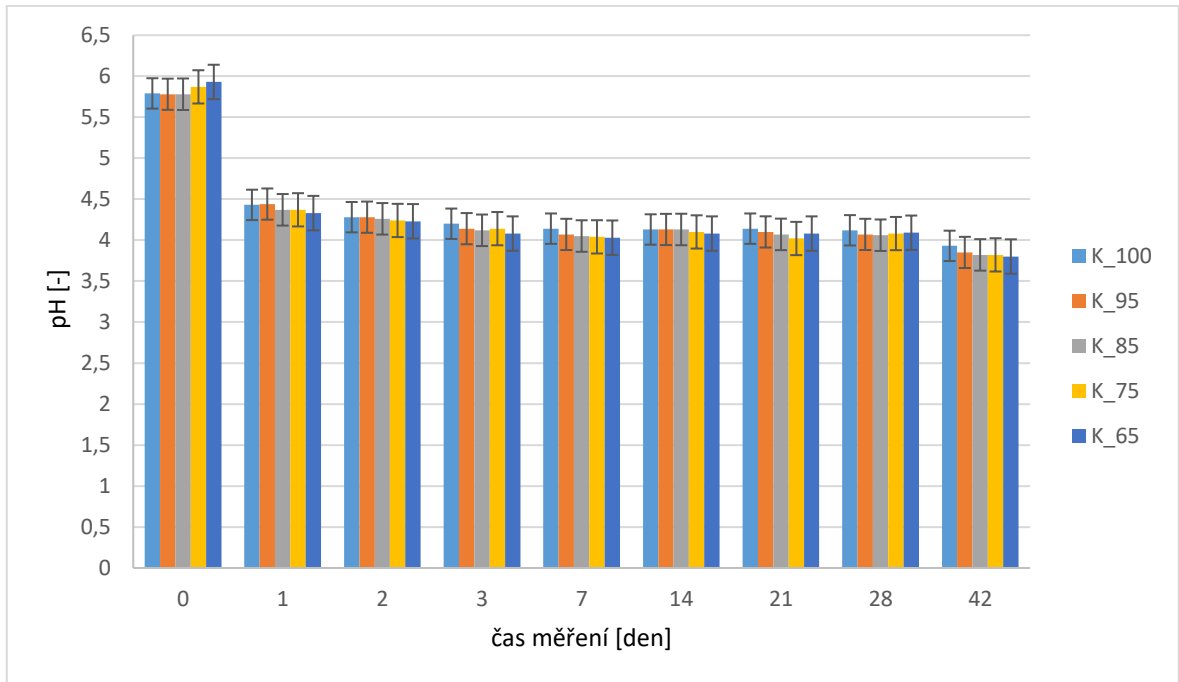
U vzorků s mléčným kefirem byl pokles pH výrazný během prvních 24 hodin fermentace, kdy hodnoty pH klesly na hodnotu pH 4,4. Během následujících dnů bylo pH všech vzorků konstantní, docházelo jen k zanedbatelným změnám hodnot. Další pokles hodnot byl pozorován až mezi 28. a 42. odběrovým dnem, kdy mohlo dojít k naprodukování organických kyselin rozkladem kyseliny mléčné (např. kyselina octová, citronová, nebo jantarová), které mohly hodnotu pH ovlivnit. [1]

U vzorků s vodním kefirem byl pozorován pozvolnější pokles hodnot pH. Pokles hodnot byl pozorován mezi 0. a 2. odběrovým dnem. Pokles hodnot byl oproti vzorkům s mléčným kefirem pozvolnější, nicméně na základě výsledků obsahu ethanolu ve vzorku nebo hustoty lze konstatovat, že procesy fermentace probíhaly u vzorků s vodním kefirem rychleji.

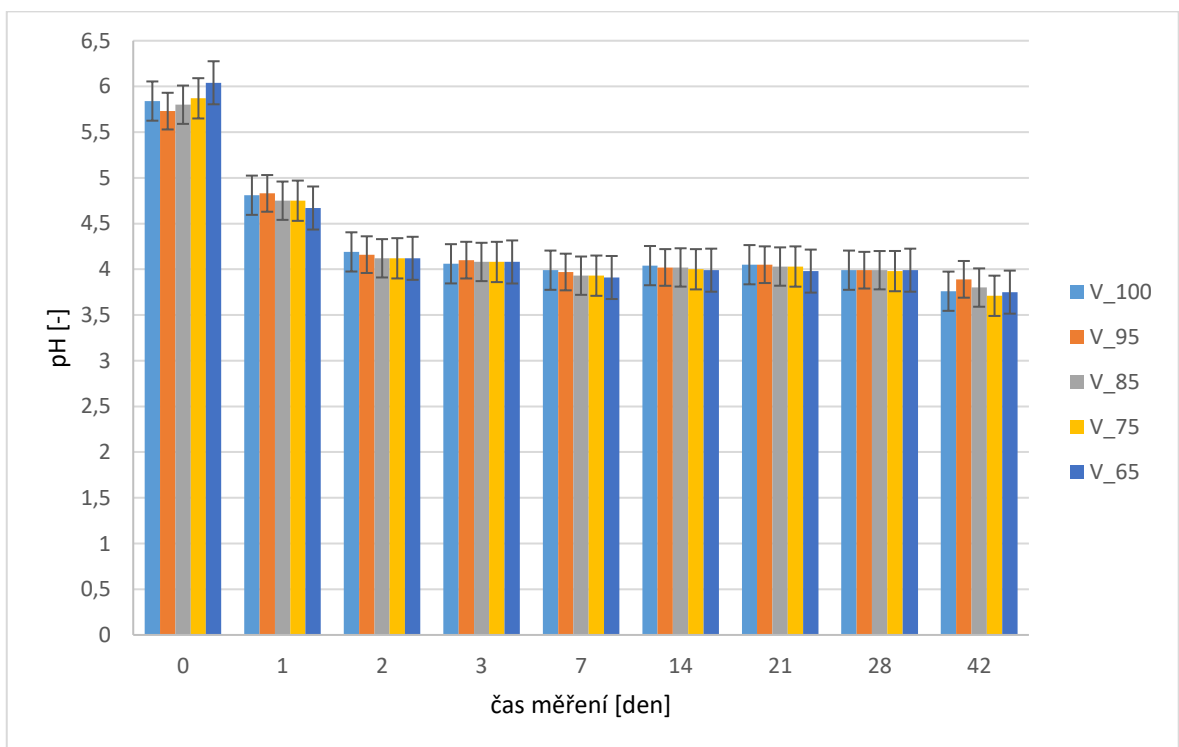
Během následujících odběrových dnů byla hodnota pH stabilní pouze s minimálními změnami hodnot. Pokles hodnoty pH byl až mezi 28. a 42. dnem.

Výrazné rozdíly hodnot pH nebyly pozorovány mezi rozdílnými sadami vzorků ani mezi vzorky samotnými v dané sadě.

Výsledné hodnoty pH jsou znázorněny graficky na obrázku 14 pro vzorky s mléčným kefirem a obrázku 15 pro vzorky s vodním kefirem.



Obrázek 14: Výsledné hodnoty pH u vzorků s mléčným kefirem



Obrázek 15: Výsledné hodnoty pH u vzorků s vodním kefirem

6.2 Výsledky stanovení TDS

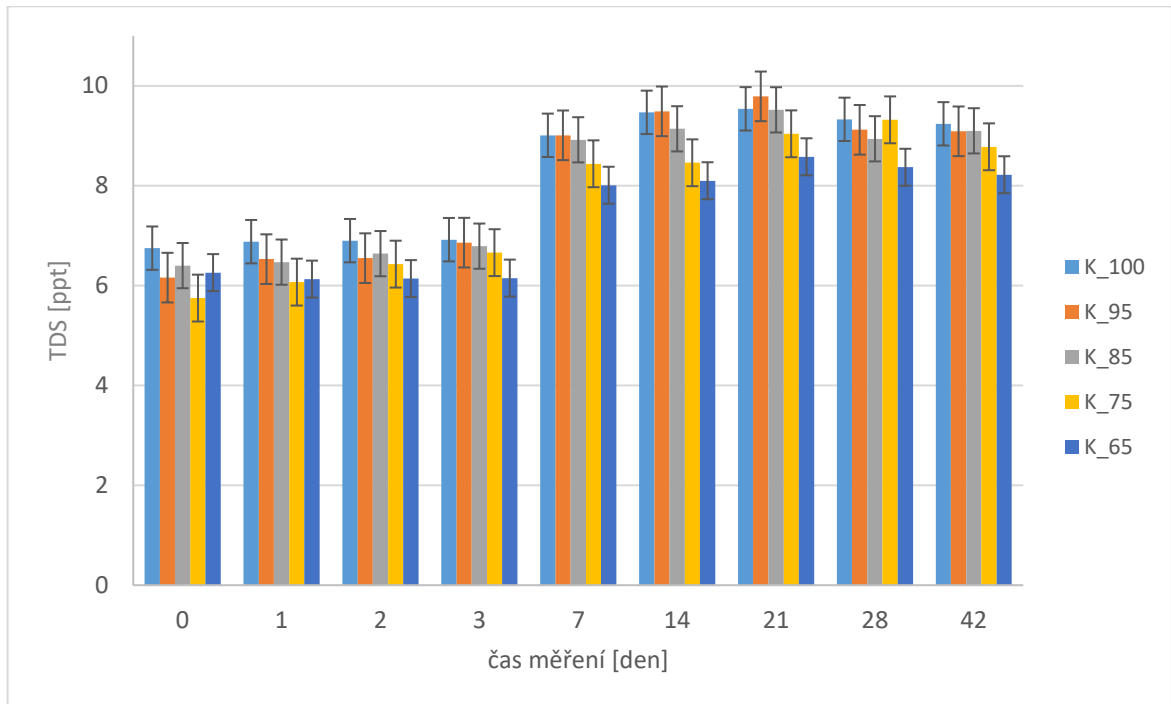
Hodnota TDS udává celkové množství rozpustných částic v daném vodném prostředí. Během fermentace dochází k tvorbě minerálních látek, čímž dochází ke zvýšení hodnoty TDS vzorků. [84] Hodnoty TDS jsou uvedeny v jednotkách ppt (parts per thousand) a jsou znázorněny graficky na obrázcích 16 (mléčný kefir) a 17 (vodní kefir). Odběr vzorků pro stanovení TDS byl proveden ve stejných časových intervalech jako odběr vzorků pro všechna ostatní stanovení, tzn. 0., 1., 2., 3., 7., 14., 21., 28. a 42. den.

U obou sad vzorků byl během pokusu pozorován rostoucí trend. U hodnot TDS lze pozorovat srovnatelný nárůst jako v případě hodnot obsahu ethanolu nebo hodnot RDF vzorků. Jak již bylo zmíněno, během fermentace vznikají látky, které hodnoty TDS navyšují [84], čemuž zmíněné výsledky odpovídají.

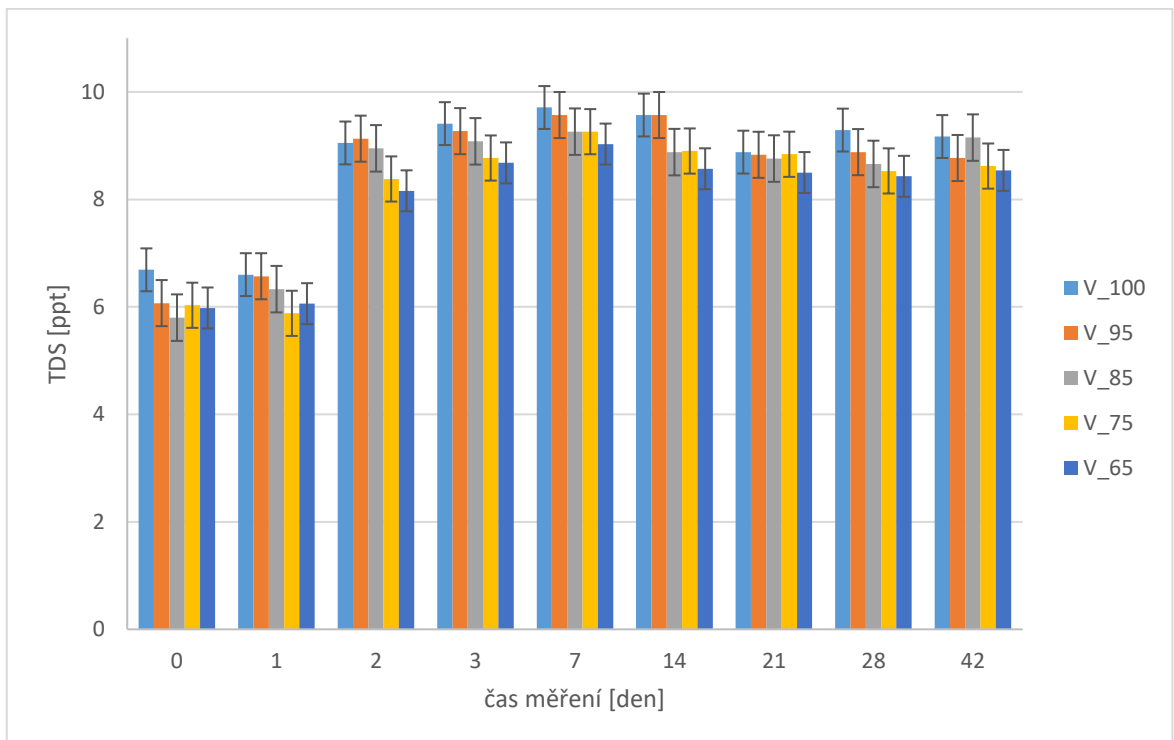
U vzorků s mléčným kefirem byly počáteční hodnoty TDS v rozmezí 5,9–6,9 ppt. Hodnota TDS stoupala první tři dny pozvolna a výraznější nárůst byl u všech vzorků ze sady pozorován až mezi 3. a 7. dnem. Danému nárůstu odpovídaly ve zmíněných dnech i větší změny dalších měřených parametrů, konkrétně se jednalo o nárůst v obsahu ethanolu či snížení hustoty. U všech vzorků byly maximální hodnoty TDS naměřeny již mezi 14. a 21. dnem odběru, kdy následoval do 42. dne mírný pokles. Výsledná hodnota TDS se u vzorků pohybovala v rozmezí 8,2–9,1 ppt. Nejvyšší hodnota byla naměřena u vzorku K_100 a nejnižší u vzorku K_65. Dané výsledky korelují s obsahem refraktometrické sušiny v daných vzorcích v průběhu celého experimentu.

U vzorků s vodním kefirem byl nárůst hodnot TDS rychlejší, což odpovídá i rychlejší tvorbě ethanolu ve vzorcích a hodnotám RDF, které poukazují na stupeň prokvašení vzorku. Počáteční hodnoty TDS byly srovnatelné jako u vzorků s mléčným kefirem, a to v rozmezí 5,9–6,9 ppt. Nárůst hodnot byl pozorován mezi 1. a 2. dnem, tedy ještě v průběhu fermentace vzorků při laboratorních teplotách. Nárůst hodnot pokračoval až do 7. dne, nicméně nebyl již tak výrazný a bylo dosaženo maximálních hodnot TDS ve vzorcích. Od 14. do 42. dne byl u všech vzorků ze skupiny s vodním kefirem sledován mírný pokles. Daný trend koreluje s obsahem refraktometrické sušiny ve vzorcích. Konečná nejnižší hodnota byla naměřena u vzorku V_65, kdy dosahovala hodnoty 8,6 ppt. Nejvyšší hodnota 9,0 ppt pak byla u vzorku K_85, stejně jako hodnota refraktometrické sušiny, která byla u daného vzorku nejvyšší z dané skupiny.

Rozdíly hodnot TDS jsou však téměř zanedbatelné, neboť dané jednotky ppt (částice na sto) jsou velmi malé.



Obrázek 16: Výsledné hodnoty TDS u vzorků s mléčným kefirem



Obrázek 17: Výsledné hodnoty TDS u vzorků s vodním kefirem

6.3 Výsledky stanovení refraktometrické sušiny

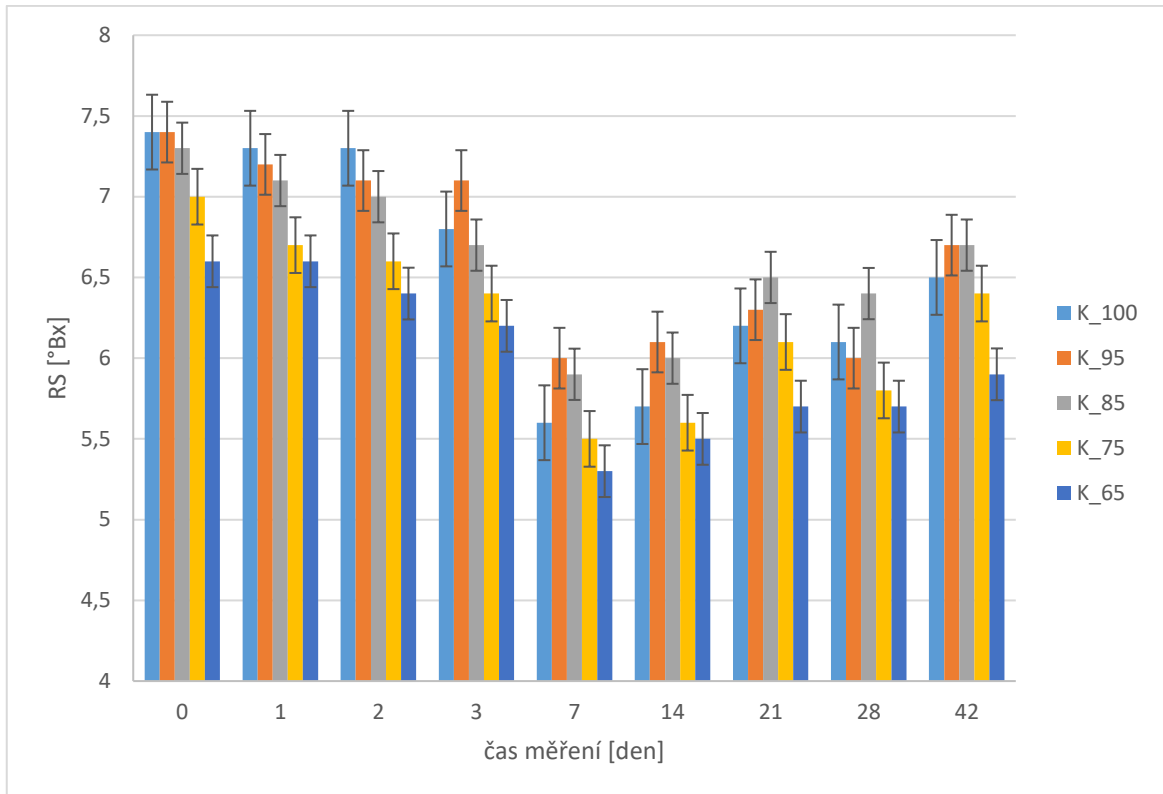
Stanovení obsahu refraktometrické sušiny (RS) bylo u modelových vzorků provedeno vždy třikrát ve stejných časových intervalech jako všechna ostatní stanovení, tedy v průběhu 42 dnů.

Vysoký obsah sacharózy v ovocno-zeleninových šťávách může pravděpodobně stimulovat růst kvasinek rodu *Saccharomyces*, které mohou hydrolyzovat sacharózu na glukózu a fruktózu, čímž zajistí zdroj uhlíku jako zdroj živin pro BMK. [1] Během procesu fermentace dochází k přeměně sacharidů na ethanol, kyselinu mléčnou, CO₂ a další látky. [82] Z tohoto důvodu klesá obsah refraktometrické sušiny ve vzorku.

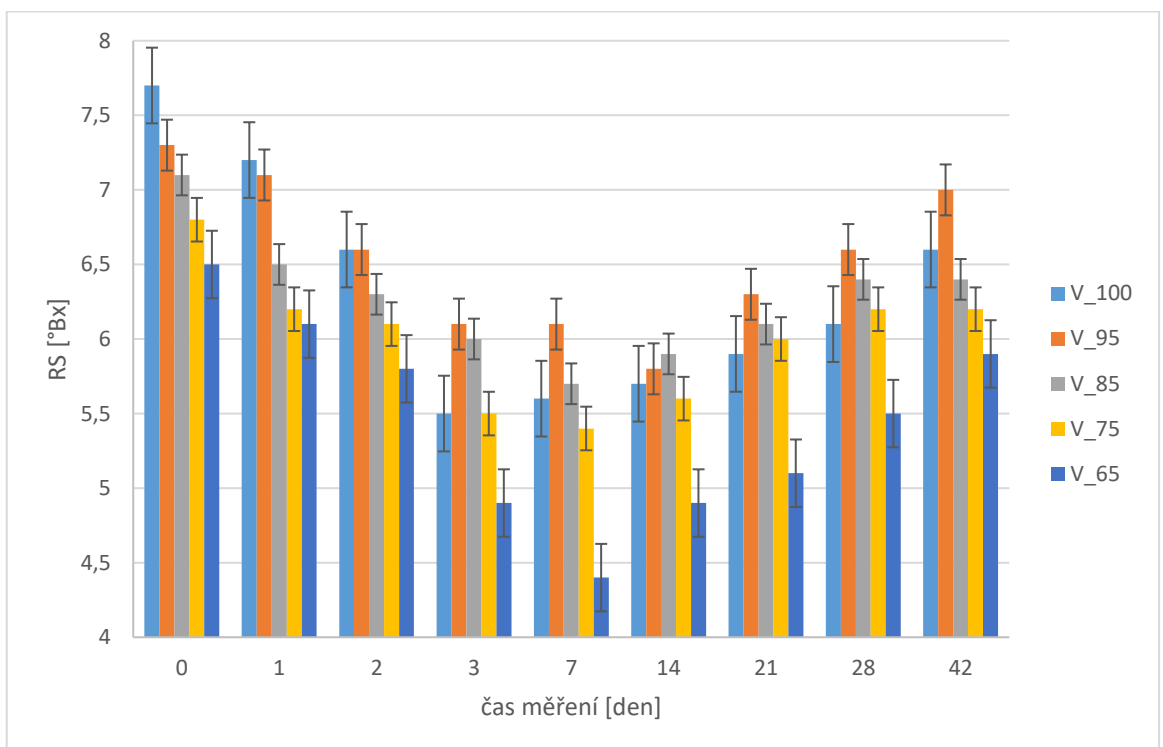
Počáteční hodnota RS u modelových vzorků s mléčným kefirem byla v rozmezí 6,6–7,4 °Bx. Nejnižší hodnota RS byla naměřena u vzorku K_65, protože obsahoval nejvíce vodné složky, nejvyšší pak u vzorků K_100 a K_95, které vodné složky obsahovaly nejméně. Počáteční hodnota RS klesala s narůstajícím obsahem syrovátky ve vzorku. Obsah sacharidů v mrkvové šťávě dle deklarace výrobce činil 8,8 g·100 ml⁻¹, syrovátka pak obsahovala přibližně 4 g·100 ml⁻¹. Hodnota RS v sadě vzorků s kulturou mléčného kefiru vykazovala mírný pokles mezi 0. až 3. dnem, tedy v průběhu fermentace. Výraznější pokles byl mezi 3. a 7. dnem experimentu, kdy u vzorků byla naměřena nejnižší hodnota RS. Následoval mírný nárůst RS až do 42. dne. Daný trend se vyskytoval i u hodnot TDS vzorků s mléčným kefirem. Hustota vzorků a obsah ethanolu koreloval s výsledky RS pouze do 7. dne, následně již nedocházelo k výraznějším změnám hodnot hustoty a obsahu ethanolu, na rozdíl od hodnot RS. Nárůst RS u vzorků mohl být způsoben například vyšším odběrem vodného prostředí během prvních 7 dnů z důvodu špatného promíchání se sedlinou vzorků. Následně vzorky odebrané 14.–42. den obsahovaly vyšší množství sedliny, což mohlo způsobovat nárůst hodnoty RS. Pro stanovení obsahu ethanolu a hustoty bylo provedeno odstředění vzorků, proto vyšší obsah sedliny neměl na výsledné hodnoty vliv. Konečná hodnota RS byla u modelových vzorků s vodním kefirem v rozmezí 6,7–5,9 °Bx. Nejvyšší úbytek obsahu RS v průběhu skladování byl naměřen u vzorku K_100, nejnižší pak u vzorků K_85 a K_75. Dané výsledky odpovídají i výsledkům obsahu ethanolu a hustoty.

Hodnota RS ve vzorcích s kulturou vodního kefiru byla na počátku v rozmezí 6,5–7,7 °Bx, kdy nejvyšší hodnota byla naměřena u vzorku V_100 a nejnižší u vzorku V_65, stejně jako u sady vzorků s mléčným kefirem. Hodnota RS klesala s postupným nárůstem obsahu syrovátky ve vzorku. Hodnoty RS klesaly postupně v průběhu 7 dnů. Stejně jako u vzorků

s mléčným kefirem následoval nárůst hodnot RS až do konce experimentu, tedy do 42. dne. Hodnoty obsahu ethanolu a hustota byla u vzorků s vodním kefirem stabilní již od 3. dne. Pokles hodnot RS až do 7. dne mohl být způsoben vyčeřením vzorku, a tedy odběrem spíše vodného prostředí bez sedimentu. V následujících dnech již byl obsah sedimentu ve vzorku vyšší, což mohlo zapříčinit zvýšení obsahu RS. Konečná hodnota RS vzorků s vodním kefirem byla v rozmezí 5,8–9 °Bx. Nejvyšší úbytek obsahu RS byl pozorován u vzorku V_100, nejnižší pak u vzorku V_95. Tyto výsledky však mohou být zkreslené z důvodu vyššího obsahu sedimentu ve vzorcích 42. den experimentu. Hodnoty obsahu ethanolu a hustoty o probíhající fermentaci vypovídaly u modelových vzorků s vodním kefirem lépe.



Obrázek 18: Výsledné hodnoty refraktometrické sušiny u vzorků s mléčným kefirem



Obrázek 19: Výsledné hodnoty refraktometrické sušiny u vzorků s vodním kefirem

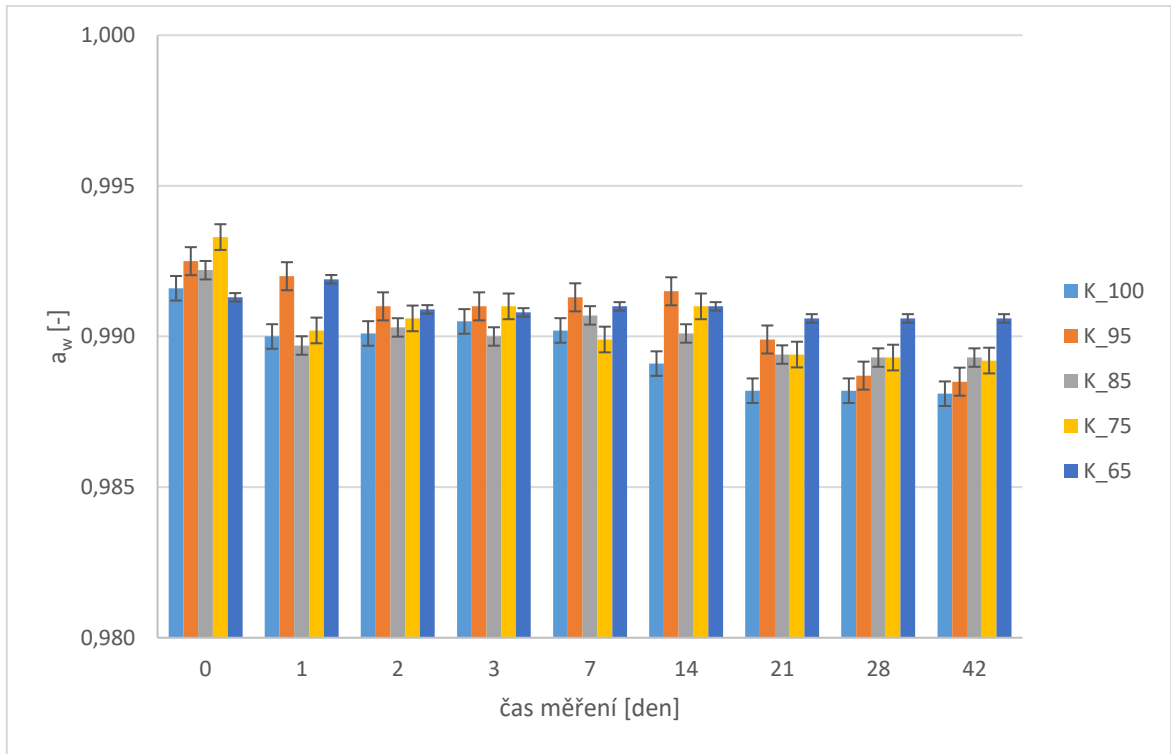
6.4 Výsledky stanovení vodní aktivity

Vodní aktivita během fermentace, tedy během procesu přeměny sacharidů na ethanol, kyselinu mléčnou a jiné sensoricky aktivní látky, klesá. [81]

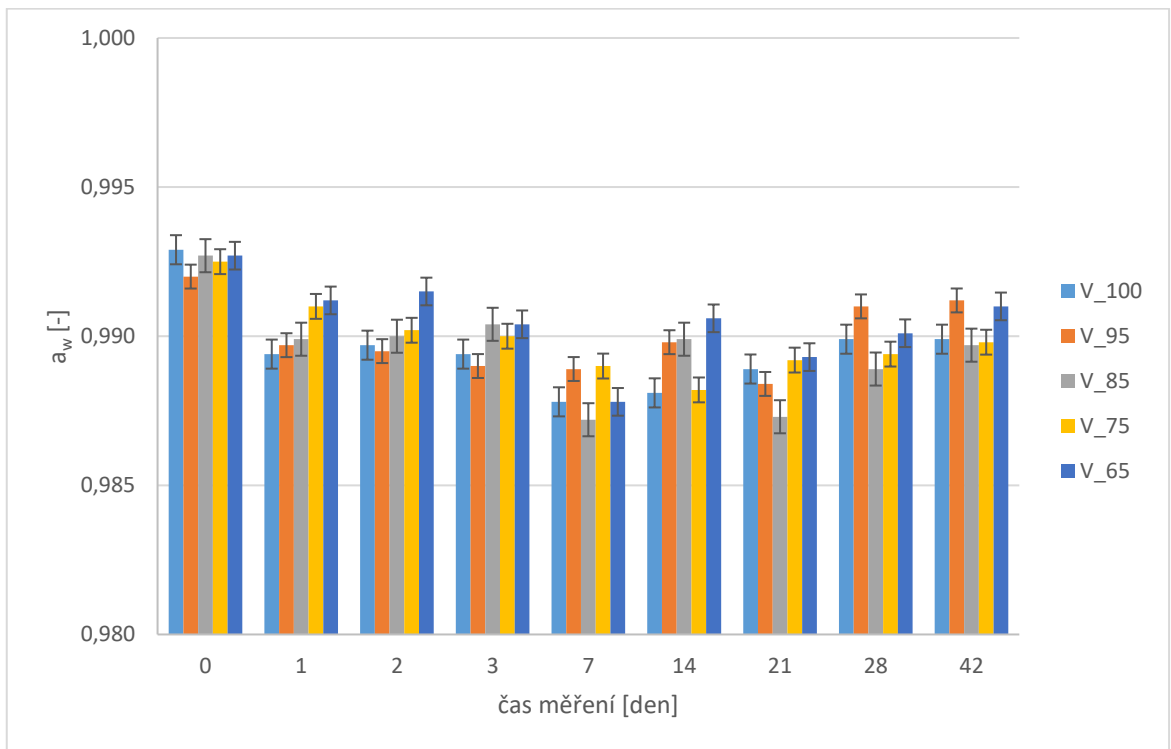
Vodní aktivita vzorků byla měřena pomocí Water activity metru společnosti Aqualab. Měření probíhalo ve stejných časových intervalech jako stanovení dalších fyzikálně-chemických parametrů. Výsledky měření jsou uvedeny graficky na obrázku 20 (mléčný kefir) a 21 (vodní kefir). Rozdíly ve výsledcích aktivity vody jsou však minimální.

Počáteční hodnota vodní aktivity byla u vzorků s mléčným kefirem v rozmezí 0,991–0,993. Pokles hodnot byl pozorován v celém průběhu experimentu u všech vzorků. Nejvýraznější pokles hodnoty aktivity vody byl sledován u vzorku K_100. Hodnota klesla z počáteční hodnoty 0,992 na konečnou hodnotu 0,988. Ze získaných hodnot bylo zjištěno, že fermentace ve vzorku obsahující pouze mrkvovou šťávu probíhala fermentace nejrychleji. Aktivita vody u vzorku K_65 byla po celou dobu skladování téměř konstantní. Na základě změn obsahu ethanolu a hustoty u daného vzorku lze však říci, že fermentace v daném vzorku probíhala dobře.

U vzorků s vodním kefirem byla počáteční hodnota aktivity vody v rozmezí 0,992–0,993. Do 7. dne byl u všech vzorků pozorován pokles hodnot aktivity vody. Od 7. dne do 42. hodnota aktivity vzorků opět stoupala. Daný trend růstu a poklesu byl pozorován i u obsahu refraktometrické sušiny. Výsledné hodnoty mohly být například způsobeny vyšším obsahem sedimentu ve vzorcích a nedokonalému promíchání během průběhu experimentu. První dny mohlo být odebráno pro analýzy větší množství vodného prostředí, což způsobilo zakoncentrování složek ve vzorcích. Konečná hodnota aktivity vody se u vzorků s vodním kefirem byla v rozmezí 0,988–0,991.



Obrázek 20: Vodní aktivita vzorků s mléčným kefirem



Obrázek 21: Vodní aktivita vzorků s vodním kefirem

6.5 Výsledky stanovení hustoty

Počáteční hustota závisí na obsahu rozpustných látek obsažených v nápoji, což odráží mimo jiné hodnota refraktometrické sušiny. Během procesu fermentace hustota klesá, což je dáno spotřebou zkvasitelných sacharidů a vznikem ethanolu a jiných sensoricky aktivních látek, které výslednou hustotu snižují. Rychlost poklesu hustoty závisí na rychlosti fermentace.[82]

Hustota vzorků byla měřena přístrojem density meter DMA 4500 ve stejných časových intervalech jako ostatní fyzikálně-chemické analýzy. Modelové vzorky byly měřeny dvakrát ($n=2$) a výsledky jsou uvedeny graficky na obrázku 22 (mléčný kefir) a 23 (vodní kefir).

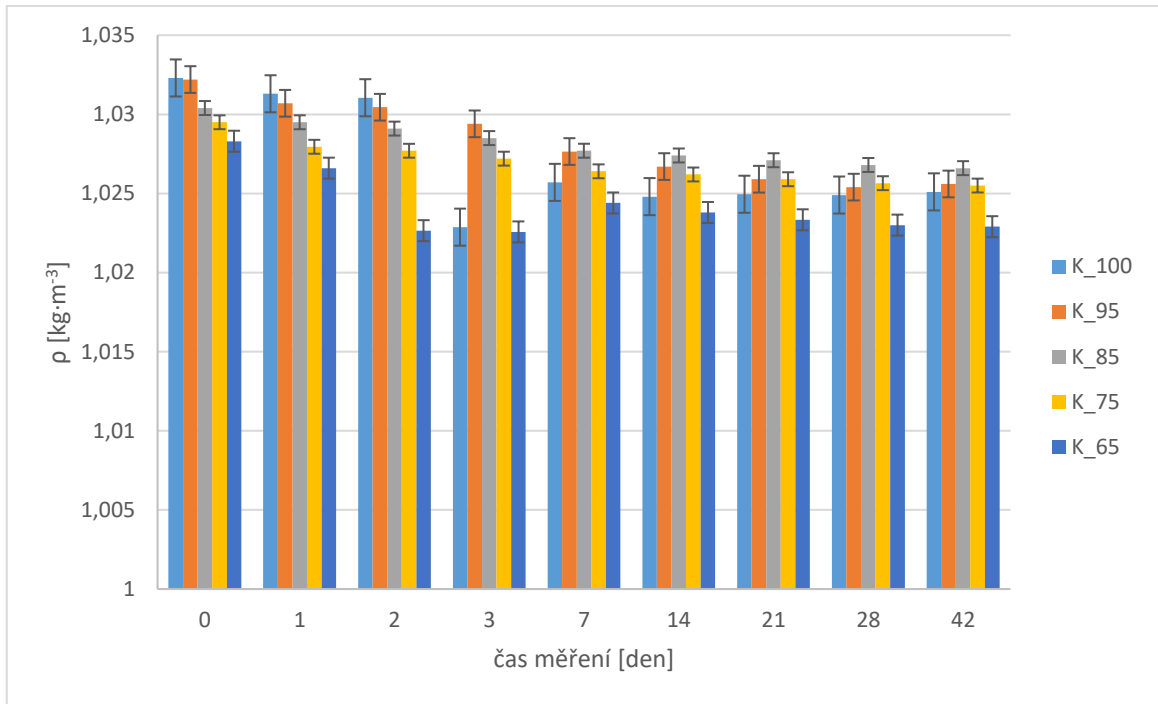
Počáteční hustota všech modelových vzorků se pohybovala v rozmezí $1,027\text{--}1,032\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Hustota u vzorků obsahujících zákys z mléčného kefiru klesala nejvíce mezi 0. a 7. dnem odběru vzorku, což potvrzuje i nárůst obsahu ethanolu, který narůstal až do zmíněného 7. dne. Od 7. dne až do 42. dne hustota klesala velmi mírně. U dvou vzorků, K_100 a K_65, byla naměřena nejnižší hustota již 3. den odběru. Na základě obsahu ethanolu ve vzorku se však spíše jednalo o chybu měření, neboť ten stále vykazoval rostoucí trend. Nejnižší hustotu vykazoval 42. den odběru vzorek K_65 a to $1,023\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, což bylo také dáno i nejnižším počátečním obsahem refraktometrické sušiny ve vzorku. Současně daný vzorek měl nejnižší hodnotu TDS, která poukazuje na celkový obsah rozpustných částic, a byl tvořen vysokým obsahem vody. Nejvyšší konečná hustota byla naměřena u vzorku K_85, kdy hustota vzorku byla $1,027\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Hustota vzorku koreluje s obsahem ethanolu ve vzorku a také hodnotou RDF, které byly u vzorku K_85 nejnižší.

Největší rozdíl mezi počáteční hodnotou hustoty byl zaznamenán u vzorku K_100, nejnižší pak u vzorků K_85 a K_75. Dané rozdíly poukazovaly na rychlost fermentace, kdy u vzorků K_100 probíhala nejrychleji a u vzorků K_85 a K_75 nejpomaleji.

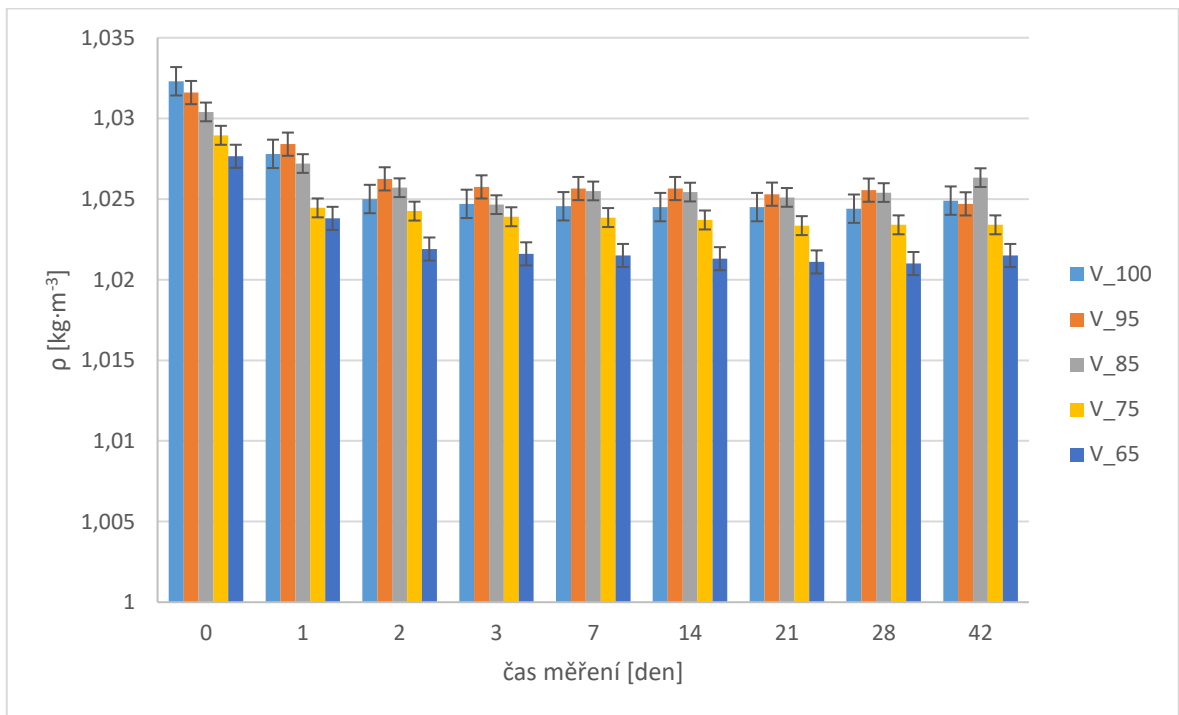
Ze vzorků obsahujících kulturu vodního kefiru měl nejvyšší počáteční hodnotu vzorek V_100 a nejnižší vzorek V_65, což odpovídalo počátečnímu obsahu refraktometrické sušiny ve vzorku. Počáteční hustota se pohybovala v rozmezí $1,027\text{--}1,033\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, což je srovnatelné se vzorky s mléčným kefirem. Hustota nejvíce poklesla mezi 0. a 3. dnem, tedy během procesu fermentace vzorků. Při přemístění vzorků do chladírenského prostředí se zpomalila aktivita mikroorganismů a proces fermentace se tedy zpomalil, díky čemuž nedocházelo ve vzorcích k pozorovatelným změnám hustoty. Hustota vzorků se neměnila až do konce skladovacího pokusu, kterým byl 42. den. Nejnižší hustota byla naměřena u vzorku V_65 a to $1,023\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, což koreluje s obsahem refraktometrické sušiny, která byla u daného

vzorku od počátku pokusu vždy nejnižší. Nejvyšší hustotu vykazoval vzorek K_85, kdy hustota byla $1,026 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$.

Nejvyšší rozdíl mezi počáteční a konečnou hustotou byl naměřen u vzorku V_100, nejmenší pak u vzorku V_85 a V_75. Dané výsledky byly srovnatelné jako u vzorků s mléčným keřfírem, lze tedy říci, že fermentace probíhala nejrychleji u vzorku V_100 a nejpomaleji u vzorků V_85 a V_75.



Obrázek 22: Výsledné hodnoty hustoty u vzorků s mléčným kefirem



Obrázek 23: Výsledné hodnoty hustoty u vzorků s vodním kefirem

6.6 Výsledky stanovení obsahu ethanolu

Obsah ethanolu ve vzorcích byl měřen pomocí přístroje Alcolyzer Plus Beer výrobce Anton Paar, a to vždy ve stejných časových intervalech jako další fyzikálně-chemické parametry vzorků. Výsledky jsou uvedeny graficky na obrázku 24 (mléčný kefir) a 25 (vodní kefir).

Obsah ethanolu v průběhu fermentace roste z důvodu spotřeby sacharidů a jejich přeměny na alkohol, CO₂ a další senzory aktivní látky. Na základě obsahu alkoholu se mohou nápoje, hlavně tedy pivo, dělit na: [83]

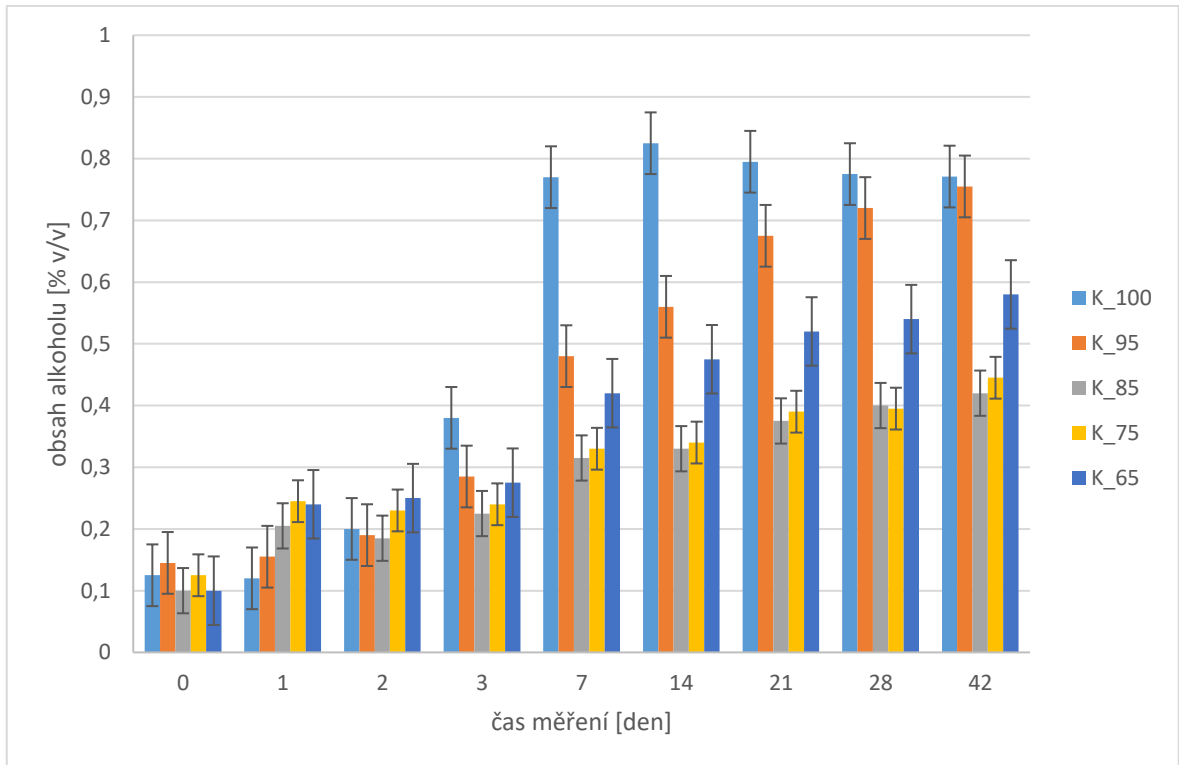
- a. nealkoholické = obsah ethanolu max. 0,5 % v/v,
- b. nízkoalkoholické = obsah ethanolu max. 1,2 % v/v,
- c. alkoholické = obsah ethanolu >1,2 % v/v.

Sada vzorků s mléčným kefirem má v porovnání se vzorky s vodním kefirem celkově nižší obsah ethanolu ve všech vzorcích. U modelových vzorků s mléčným kefirem byl pozorován pozvolnější nárůst obsahu ethanolu, což poukazuje na pomalejší proces fermentace. Daný trend mohl být způsoben netypickým prostředím pro dané mikroorganismy.

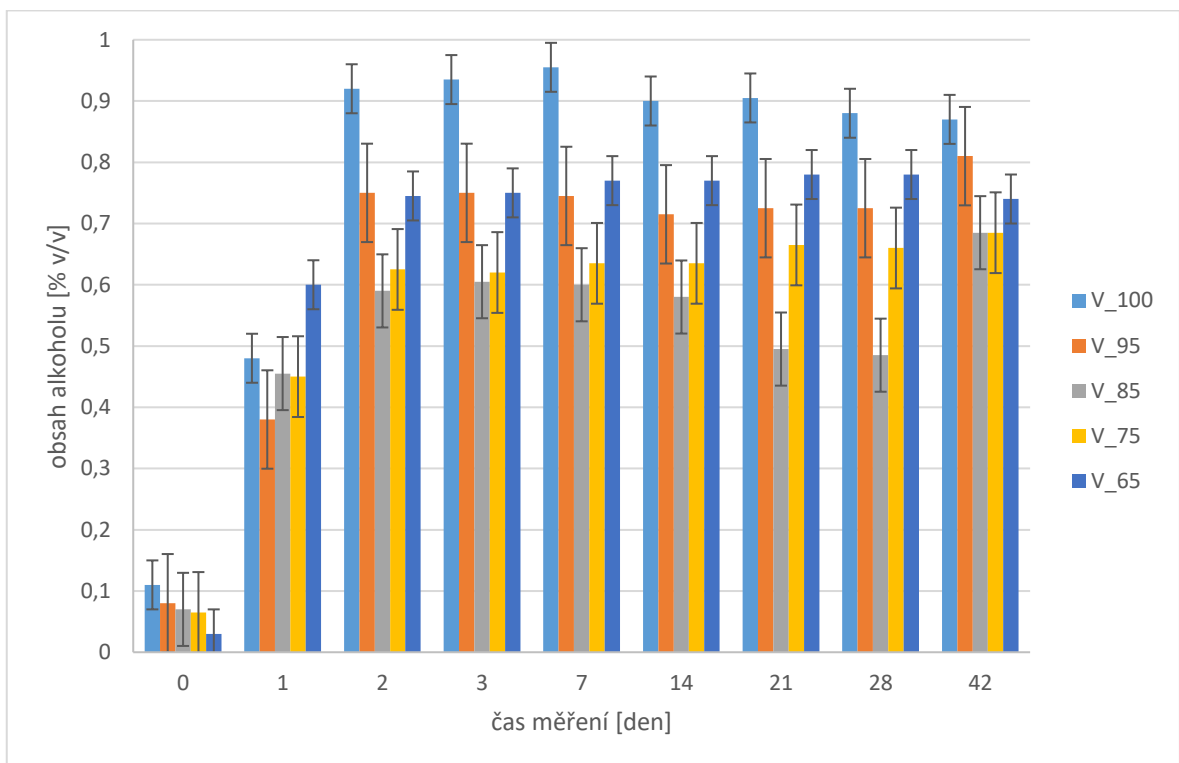
Již 0. den byl u vzorků s mléčným kefirem naměřen obsah ethanolu v rozmezí 0,1–1,5 % v/v, což mohlo být způsobeno přidavkem kyseliny mléčné kefiru, který již určité množství ethanolu obsahoval. Pozvolný nárůst ethanolu byl pozorován mezi 0. a 7. dnem, tedy během fermentace vzorků, čemuž i odpovídá pokles hustoty v daném období. Obsah ethanolu pozvolna narůstal až do 42. dne. U vzorku K_100 byl pozorován nárůst ethanolu pouze do 14. dne, kdy došlo pravděpodobně k maximálnímu prokvašení vzorku a dále do 42. dne se obsah ethanolu snižoval, čemuž odpovídají i hodnoty RDF daného vzorku. Únik ethanolu mohl být způsoben odpařením přes netěsnící uzávěr fermentační nádoby. Konečný obsah ethanolu se pohyboval mezi 0,45–0,78 % v/v. Vzorky K_85 a K_75 se díky konečnému obsahu ethanolu mohou řadit mezi nealkoholické nápoje. Ostatní vzorky obsahují více než 0,5 % v/v, díky čemuž se již řadí mezi nízkoalkoholické nápoje, a tedy nejsou vhodné pro děti nebo těhotné a kojící ženy. U vzorků s mléčným kefirem dochází k tvorbě ethanolu v množství 0,5–2 % [49], což bylo u modelových vzorků téměř potvrzeno, pouze u dvou vzorků fermentace probíhala pomaleji a tvorba ethanolu nedosahovala zmíněných hodnot.

Vzorky s vodním keřirem obsahovaly vyšší množství ethanolu. Důvodem může být vhodnější prostředí pro mikroorganismy dané kultury, které bylo tvořeno především vodou a sacharidy, na které jsou mikroorganismy vodního keřiru lépe přizpůsobeny.

Počáteční hodnota ethanolu byla opět ovlivněna přidavkem kyslíku do vzorku. Obsah ethanolu přímo koreloval s obsahem refraktometrické sušiny ve vzorku. Vzorek V_65 měl nejnižší počáteční obsah ethanolu současně i nejnižší obsah refraktometrické sušiny. Vzorek V_100 pak měl počáteční hodnoty obsahu ethanolu i refraktometrické sušiny nejvyšší z dané sady vzorků. Počáteční hodnota ethanolu ve vzorcích se pohybovala mezi 0,07–0,15 % v/v. Nárůst obsahu ethanolu byl nejvýraznější mezi 0. a 3. dnem, což odpovídá procesu fermentace daných vzorků. Od 3. do 42. dne byl již nárůst obsahu pozvolný, na což i poukazují hodnoty hustoty nebo RDF daných vzorků, které se také výrazně neměnily. Pouze u vzorku V_100 byl maximální obsah ethanolu naměřen již 14. den, kdy hodnota dosahovala 0,95 % v/v. Dále následoval mírný pokles až do 42. dne. Stejně jako v případě vzorku K_100 by tento pokles mohl být způsoben maximálním prokvašením vzorku a vypařováním ethanolu skrz víko fermentační nádoby. Nejvíce ethanolu na konci skladování, tedy 42. den, obsahovaly vzorky V_100, V_95 a také V_65. V daných vzorcích probíhal proces fermentace nejlépe. Nejméně ethanolu obsahovaly vzorky V_75 a V_85. Důvodem mohlo být nedokonalé prokvašení sacharidů, čemuž odpovídají i hodnoty RDF, které jsou u daných vzorků nejnižší. Konečný obsah ethanolu ve vzorcích s vodním keřirem se pohyboval mezi 0,68–0,88 % v/v. Všechny vzorky se tedy na základě obsahu ethanolu řadily mezi nízkoalkoholické nápoje, neboť obsahovaly více než 0,5 % v/v ethanolu. Vodní keřir je řazen mezi nízkoalkoholické nápoje [58], což bylo získanými výsledky potvrzeno.



Obrázek 24: Výsledné hodnoty obsahu alkoholu u vzorků s mléčným kefirem



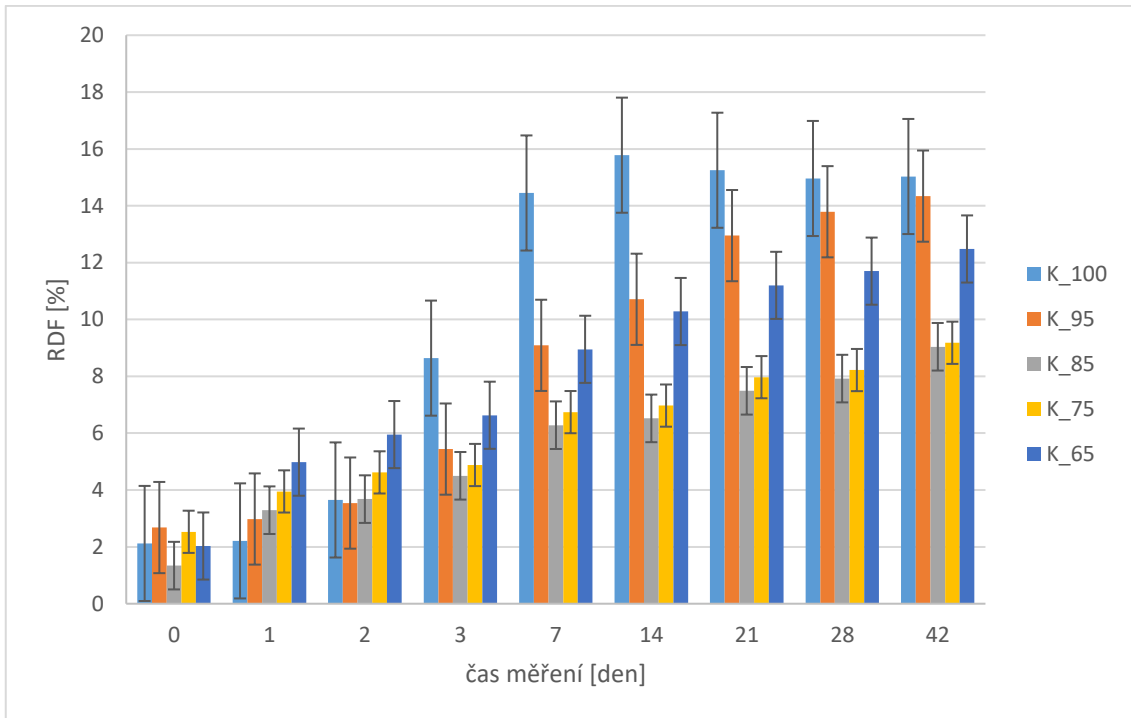
Obrázek 25: Výsledné hodnoty obsahu alkoholu u vzorků s vodním kefirem

6.7 Výsledky stanovení RDF

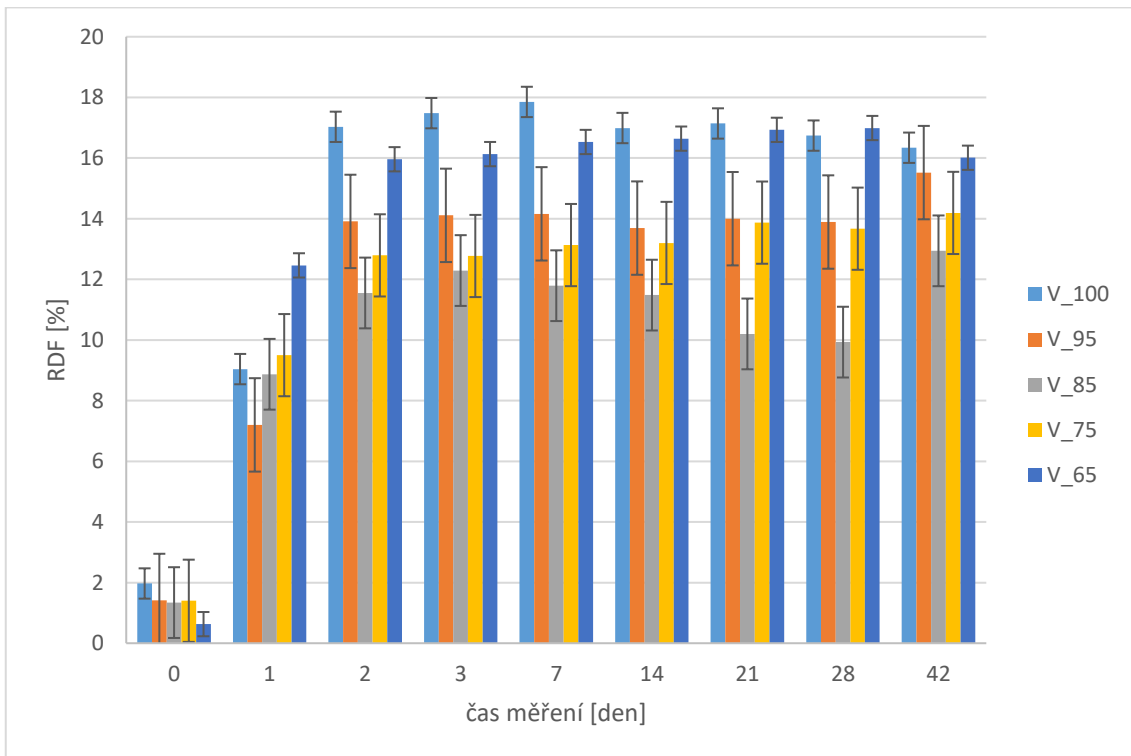
Hodnota RDF značí skutečný stupeň prokvašení (Real Degree of Fermentation). Hodnota vyjadřuje stupeň, do kterého byly sacharidy zkvašeny na alkohol. Pocit v ústech je do jisté míry hodnotou RDF ovlivněn, nápoje s vyšším RDF jsou vnímány jako více suché, kdežto nápoje s nižším RDF jsou sladší a plnější. [85] Výsledky jsou uvedeny graficky na obrázku 26 (mléčný kefir) a 27 (vodní kefir).

Hodnota RDF modelových vzorků koreluje s obsahem ethanolu, což i souvisí s výpočtem hodnoty RDF, která závisí na hustotě vzorku a obsahu ethanolu. [78] Počáteční hodnota RDF byla u modelových vzorků s mléčným kefirem v rozmezí 0,2–0,27 % a během 42 dnů vzrostla na hodnotu 9–15 %. Nárůst hodnoty RDF byl pozorován především mezi 0. a 7. dnem, čemuž i odpovídají klesající hodnoty hustoty a vzrůstající obsah ethanolu v modelových vzorcích v daném časovém rozmezí. Lze tedy říci, že aktivita mikroorganismů byla nejvyšší právě v uvedeném období. Od 7. do 42. dne experimentu docházelo stále k mírnému nárůstu hodnoty RDF vzorků. Fermentace tedy stále probíhala, nicméně aktivita mikroorganismů byla nižší, a to především z důvodu skladování vzorků v chladírenském prostředí při nízkých teplotách. Nejvyšší stupeň prokvašení byl zaznamenán u vzorků K_100, K_95 a K_65. Rozdíl mezi počáteční a konečnou hodnotou RDF u zmíněných vzorků byl nejvyšší, stejně jako i rozdíly počátečních a konečných hodnot obsahu ethanolu a hustoty. Tyto vzorky svým složením představovaly nejvhodnější prostředí pro fermentaci a mikroorganismy, které byly součástí kefirové kultury. Nejnižší hodnota RDF pak byla u vzorků K_75 a K_85. U těchto vzorků lze říci, že fermentace probíhala nejpomaleji. Ovšem tyto vzorky byly nejlépe hodnoceny při sensorické analýze.

U vzorků s vodním kefirem byly počáteční hodnoty RDF v rozmezí 0,7–2 %. Nejvyšší nárůst byl pozorován mezi 0. a 2. dnem fermentace. Od 2. dne pak hodnoty RDF modelových vzorků byly téměř neměnné až do 42. dne experimentu. Konečná hodnota se pohybovala mezi 13–16 %, což je v porovnání se vzorky s mléčným kefirem vyšší. Nejvyšší hodnoty RDF byly zaznamenány u vzorků V_100, V_95 a V_65. U zmíněných vzorků byl také nejvyšší rozdíl mezi počáteční a konečnou hodnotou RDF. Fermentace zde tedy probíhala nejrychleji. Oproti vzorkům s mléčným kefirem byly konečné hodnoty RDF u vzorků s vodním kefirem vyšší. Na základě porovnání fermentační aktivity modelových vzorků lze tedy říci, že vzorky svým složením představovaly vhodnější prostředí pro fermentaci kulturami vodního kefiru.



Obrázek 26: Výsledné hodnoty RDF u vzorků s mléčným kefirem



Obrázek 27: Výsledné hodnoty RDF u vzorků s vodním kefirem

6.8 Výsledky reologické analýzy

V rámci reologické analýzy byla měřena závislost smykového napětí na gradientu smykové rychlosti modelových vzorků mléčného a vodního kefiru. Reologická analýza byla provedena ve stejných časových intervalech jako stanovení fyzikálně-chemických analýz modelových vzorků. Hodnoty smykového napětí jsou uvedeny pouze ve vybraných dnech, 0., 7., 21. a 42. den, především z důvodu lepší přehlednosti výsledků a názornosti změn smykového napětí v průběhu experimentu. Výsledky jsou uvedeny na obrázku 28 (mléčný kefir) a 29 (vodní kefir). Současně jsou v tabulce 5 a 6 uvedeny hodnoty K a n z PowerLaw modelu, který byl využit pro zpracování dat. Hodnota „ n “ vyjadřuje, zda kapalina vykazuje:

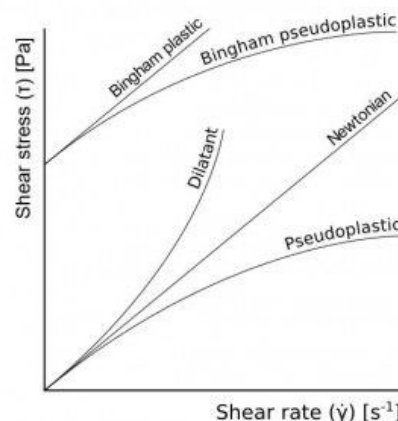
- pseudoplastické chování – je hodnota n v rozmezí 0–1,
- dilatantní chování – hodnota n vyšší než 1. [86]

Viskozita je definována jako [87][88]:

„Fyzikální veličina, která udává poměr mezi tečným napětím a změnou rychlosti v závislosti na vzdálenosti mezi sousedními vrstvami proudící kapaliny. Jedná se o veličinu, která charakterizuje vnitřní tření kapaliny a závisí především na přitažlivých silách mezi částicemi.“

Kapaliny mohou vykazovat Newtonské nebo Neneutonské chování. Do Neneutonských kapalin se řadí látky pseudoplastické, u nichž s rostoucí rychlostí viskozita klesá a kapalina řídne. A dále dilatantní, kde s rostoucí rychlostí roste i viskozita, a nápoj tedy houstne. Současně se vyskytují i další druhy kapalin, nicméně ty nejsou pro vyjádření výsledků diplomové práce důležité. [87][88]

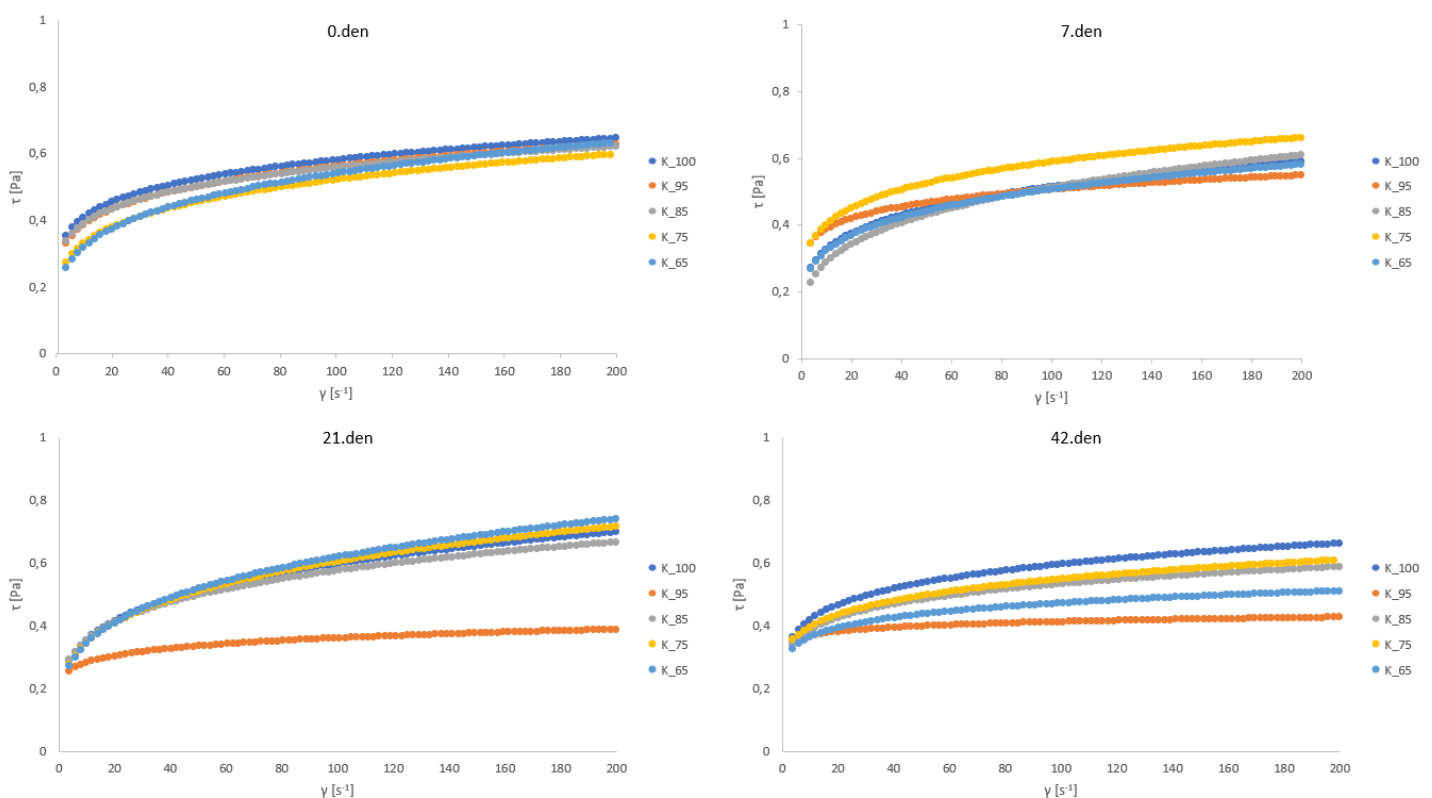
Pro lepší porozumění je závislost smykového napětí na smykové rychlosti znázorněna na obrázku 28.



Obrázek 28: Závislost smykového napětí na gradientu smykové rychlosti [88]

Ze závislosti smykového napětí na gradientu rychlosti bylo zjištěno, že všechny modelové vzorky ze sady obsahující kulturu mléčného kefiru vykazují v průběhu celého experimentu pseudoplastické chování. Během skladování nedošlo k příliš výrazným změnám, nicméně 21. den vzorek K_95 vykazoval nejmenší hodnotu smykového napětí. Daný rozdíl však mohl být způsoben nepřesností v měření. Až 42. den skladování byly rozdíly mezi vzorky výraznější, kdy nejvyšší hodnotu smykového napětí vykazoval vzorek K_100 a nejnižší vzorek K_95. Výsledky pro vzorky s mléčným kefirem jsou uvedeny graficky na obrázku 29.

Hodnota „K“, která vyjadřuje viskozitu vzorku [89], v průběhu skladování roste u všech modelových vzorků s mléčným kefirem. Lze tedy říci, že během skladování se viskozita všech vzorků zvýšila. Hodnota „n“ u všech vzorků nabývala hodnot nižších než 1, proto se jedná o látky pseudoplastické, čemuž odpovídají i grafy závislosti smykového napětí na gradientu smykové rychlosti. Viskozita vzorků tedy klesá s rostoucím gradientem smykové rychlosti. Hodnoty „K“ a „n“ PowerLaw modelu pro vzorky s mléčným kefirem během skladování jsou uvedeny v tabulce 5.



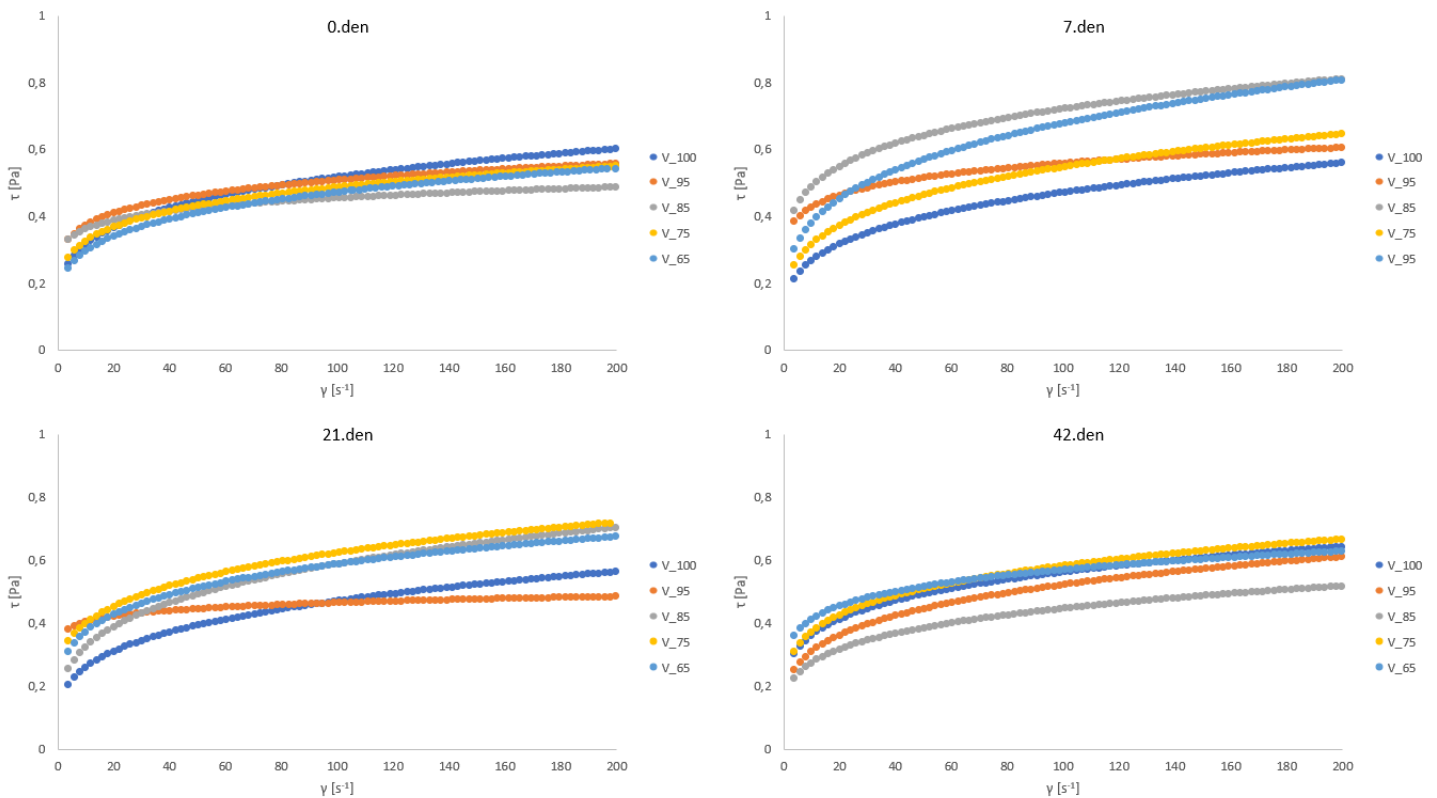
Obrázek 29: Závislost smykového napětí na gradientu smykové rychlosti pro mléčný kefir v průběhu fermentace a skladování

Tabulka 5: Hodnoty PowerLaw modelu pro vzorky s mléčným kefirem

vzorek	čas [den]	K [Pas]	n [-]	R²
K_100	0	0,285	0,154	0,9987
K_100	1	0,340	0,085	0,9957
K_100	2	0,205	0,193	0,9992
K_100	3	0,173	0,280	0,9956
K_100	7	0,205	0,199	0,9999
K_100	14	0,172	0,242	0,9989
K_100	21	0,208	0,228	0,9953
K_100	28	0,163	0,225	0,9964
K_100	42	0,292	0,154	0,9937
K_95	0	0,263	0,164	0,9994
K_95	1	0,177	0,238	0,9969
K_95	2	0,267	0,147	0,9992
K_95	3	0,332	0,100	0,9982
K_95	7	0,293	0,118	0,9941
K_95	14	0,229	0,187	0,9976
K_95	21	0,219	0,107	0,9955
K_95	28	0,194	0,221	0,9981
K_95	42	0,326	0,050	0,9979
K_85	0	0,270	0,157	0,9953
K_85	1	0,230	0,210	0,9955
K_85	2	0,309	0,105	0,9969
K_85	3	0,2	0,232	0,9929
K_85	7	0,159	0,253	0,9952
K_85	14	0,212	0,228	0,9967
K_85	21	0,215	0,213	0,9956
K_85	28	0,145	0,276	0,9966
K_85	42	0,276	0,142	0,9989
K_75	0	0,207	0,200	0,9997
K_75	1	0,246	0,202	0,9918
K_75	2	0,260	0,167	0,9995
K_75	3	0,165	0,253	0,9989
K_75	7	0,271	0,168	0,9992
K_75	14	0,259	0,181	0,9967
K_75	21	0,193	0,247	0,9949
K_75	28	0,26	0,141	0,9984
K_75	42	0,268	0,154	0,9972
K_65	0	0,186	0,231	0,9975
K_65	1	0,257	0,183	0,9983
K_65	2	0,325	0,111	0,9988
K_65	3	0,246	0,173	0,9995
K_65	7	0,202	0,199	0,9967
K_65	14	0,198	0,240	0,9929
K_65	21	0,187	0,259	0,9939
K_65	28	0,231	0,221	0,9994
K_65	42	0,278	0,114	0,9998

Počáteční hodnota smykového napětí byla u všech vzorků obsahujících kulturu vodního kefiru přibližně stejná. V průběhu skladování však byly patrné rozdíly mezi jednotlivými vzorky v dané sadě. Nicméně 42. den skladování došlo k opětovnému ustálení hodnot a rozdíly mezi vzorky nebyly příliš výrazné. Smykové napětí u všech vzorků v závislosti na gradientu smykové rychlosti stouvalo a vykazovalo chování pseudoplastických kapalin. Výsledné závislosti smykového napětí na gradientu smykové rychlosti v průběhu skladování jsou graficky vyobrazeny na obrázku 30.

Hodnoty „K“ u vzorků s vodním kefirem v průběhu skladování klesaly. U všech vzorků se tedy v průběhu skladování viskozita snižovala. Hodnota „n“ se během skladování u vzorků s vodním kefirem pohybovala pod hodnotou 1. Vzorky tedy vykazovaly pseudoplastické chování, což se i potvrdilo z grafické závislosti smykového napětí na gradientu smykové rychlosti. Hodnoty „K“ a „n“ z PowerLaw modelu pro vzorky s vodním kefirem během skladování jsou uvedeny v tabulce 6.



Obrázek 30: Závislost smykového napětí na gradientu smykové rychlosti pro vodní kefir v průběhu fermentace a skladování

Tabulka 6: Hodnoty z PowerLaw modelu pro vzorky s vodním kefirem

vzorek	čas [den]	K [Pa s]	n [-]*	R²
V_100	0	0,228	0,217	0,9986
V_100	1	0,266	0,130	0,9975
V_100	2	0,344	0,09	0,9991
V_100	3	0,137	0,339	0,9982
V_100	7	0,150	0,248	0,9993
V_100	14	0,282	0,113	0,9991
V_100	21	0,140	0,262	0,9999
V_100	28	0,245	0,163	0,9983
V_100	42	0,220	0,195	0,9979
V_95	0	0,272	0,135	0,9973
V_95	1	0,195	0,214	0,9981
V_95	2	0,292	0,114	0,9972
V_95	3	0,276	0,148	0,9993
V_95	7	0,325	0,117	0,9978
V_95	14	0,154	0,264	0,9939
V_95	21	0,349	0,061	0,9972
V_95	28	0,105	0,325	0,9998
V_95	42	0,180	0,230	0,9985
V_85	0	0,286	0,010	0,9974
V_85	1	0,299	0,144	0,9983
V_85	2	0,335	0,117	0,9995
V_85	3	0,208	0,183	0,9969
V_85	7	0,239	0,170	0,9958
V_85	14	0,285	0,186	0,9981
V_85	21	0,140	0,261	0,9976
V_85	28	0,222	0,191	0,9986
V_85	42	0,165	0,215	0,9958
V_75	0	0,216	0,176	0,9937
V_75	1	0,190	0,237	0,9972
V_75	2	0,285	0,151	0,9984
V_75	3	0,229	0,207	0,9961
V_75	7	0,180	0,241	0,9987
V_75	14	0,256	0,182	0,9982
V_75	21	0,234	0,211	0,9999
V_75	28	0,181	0,235	0,9989
V_75	42	0,208	0,196	0,9999
V_65	0	0,183	0,205	0,9899
V_65	1	0,311	0,152	0,9986
V_65	2	0,229	0,174	0,9975
V_65	3	0,169	0,261	0,9967
V_65	7	0,211	0,253	0,9989
V_65	14	0,320	0,118	0,9937
V_65	21	0,233	0,200	0,9959
V_65	28	0,167	0,241	0,9985
V_65	42	0,165	0,142	0,9999

6.9 Výsledky senzorické analýzy

Senzorická analýza byla zařazena jako doplňková analýza. Zařazena byla pro ověření, zda jsou modelové vzorky senzoricky přijatelné, a tedy vhodné pro další výrobu. Modelové vzorky lze vidět na obrázku 31 a 32. Při posouzení jednotlivých modelových vzorků byly hodnoceny následující parametry:

- a. barva,
- b. vnímání sladké a kyselé chuti,
- c. vůně,
- d. celkový dojem.

Součástí byla i preferenční zkouška. Vzhledem k nízkému počtu hodnotitelů jsou výsledky uvedeny pouze slovně, jinak by mohlo dojít ke zkreslení celkových výsledů. Senzorická analýza probíhala ve stejných časových intervalech jako předcházející analýzy, což znamená 0., 1., 2., 3., 14., 21., 28. a 42. den.

Hodnocení barvy

Hodnocení barvy probíhalo po celou dobu experimentu.

Barva všech vyrobených vzorků byla hodnocena před a po promíchání vzorků. Důvodem byl vysoký obsah sedimentu na dnu fermentační nádoby, který se ve vzorcích vyskytoval a strhl s sebou barevný pigment.

Před promícháním byl mezi vzorky pozorovatelný znatelný rozdíl v barvě. Nejvíce intenzivní zabarvení vzorku po výchozí surovině, kterou byla mrkvová šťáva, vykazoval vzorek K_100 a V_100. Současně dané vzorky obsahovaly nejméně sedimentu z obou sad vzorků. U vzorku K_75 a K_65 došlo k největšímu vyčeření vzorku a obsahovaly také nejvíce sedimentu. U vzorků skupiny vzorků s vodním keřem nebyly rozdíly v barvě před promícháním příliš veliké, nicméně i tady platí, že nejméně intenzivní zabarvení bylo pozorováno u vzorků obsahující nejmenší množství mrkvové šťavy, tedy u vzorků V_75 a V_65. Po promíchání vodného prostředí a sedimentu nebyly mezi vzorky pozorovány rozdíly v intenzitě barvy. Barva byla typická pro výchozí surovinu a velmi intenzivní. Po celou dobu experimentu nebyly pozorovány patrné změny barvy. Proto pro lepší vyhodnocení změn během experimentu by bylo vhodné zařadit hodnocení barvy spektrofotometrickou metodou.

Hodnocení vůně

Vůně všech modelových vzorků byla srovnatelná a nebyly zaznamenány výrazné rozdíly. 0. den byla vůně typická pro mrkvovou šťávu. Žádný vzorek nevykazoval nepříjemné pachy. Během procesu fermentace, tedy do 3. dne, byl ve vůni více zaznamenán alkohol a kyselé pachy, které byly způsobeny vznikem sensoricky aktivních látek, především organických kyselin (mléčná, jantarová, citronová nebo octová). Nejvýraznější alkoholová vůně byla u vzorku V_100 a V_65, čemuž i odpovídají výsledky stanovení obsahu ethanolu ve vzorku. Ze vzorků s mléčným kefirem byla alkoholová vůně zaznamenána u vzorku K_100. Nejméně výrazná vůně alkoholu byla u vzorku K_75 a V_75. Zmíněné vzorky byly hodnoceny ve vůni jako nejlepší.

Hodnocení chuti

Hodnocení chuti probíhalo pouze 0. až 2. den. Důvodem předčasného ukončení hodnocení byla příliš intenzivní kyselá chuť, která dále nedovolovala v sensorickém hodnocení pokračovat.

Byla hodnocena intenzita sladké, kyselé chuti, dále také intenzita chuti syrovátky. První den, tedy 0. den experimentu, byla chuť vyrobených modelových vzorků přibližně srovnatelná. Pouze vzorky V_65 a K_65 byly hodnoceny jako nejméně sladké, čemuž i odpovídá obsah refraktometrické sušiny, která byla u daných vzorků nejnižší. Dále byly jako méně sladké, v porovnání s ostatními vzorky, označeny vzorky K_100 a V_100. Tyto vzorky obsahovaly pouze mrkvovou šťávu. Ta je přirozeně i lehce kyselá, čemuž odpovídala i hodnota pH, která byla u těchto vzorků nejvyšší. Chuť syrovátky byla ve všech vzorcích značena jako málo intenzivní.

Již během 24 hodin byly zaznamenány změny v intenzitě sladké a kyselé chuti. Vzhledem k výraznému poklesu hodnot pH již v chuti převažovala kyselá chuť, nicméně bylo možné stále určit vzorek nejvíce a nejméně kyselý. Nejméně kyselé byly vzorky K_75, K_85, V_75 a V_85. Naopak jako vzorky s nejvíce intenzivní kyselou chutí byly označeny vzorky obsahující nejvíce a nejméně mrkvové šťávy. Sladká chuť korelovala s kyselou chutí.

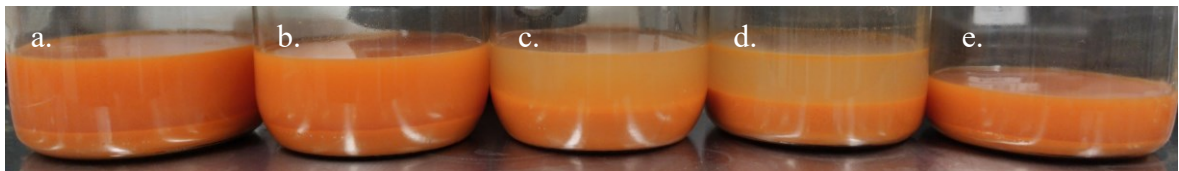
Během 48 hodin fermentace již kyselá chuť ve vzorcích převažovala. Jako nejlepší vzorek byl z každé sady hodnocen vzorek obsahující 75 % mrkvové šťávy, tedy vzorky značené K_75 a V_75. Ostatní vzorky již byly příliš kyselé a byly vyřazeny ze sensorického hodnocení, proto byly pro sensorickou analýzu ponechány pouze dva zmíněné vzorky.

3. den od začátku experimentu již nebylo vzorky možné hodnotit. Kyselá chuť byla příliš intenzivní u všech vzorků. Na základě výsledků hodnocení chuti by bylo vhodné zkrátit proces fermentace na maximálně 48 hodin, kdy bylo možné vzorky hodnotit.

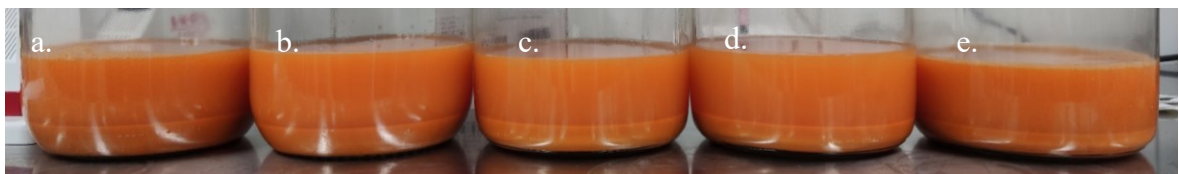
Celkový dojem

Vzorek, který byl hodnocen, v celkovém dojmu nejlépe, byl vždy vzorek obsahující 75 % mrkvové šťávy, tedy vzorek V_75 a K_75. Tyto vzorky již 0. den působily na hodnotitele harmonickým dojmem s vyváženou sladkou i kyselou chutí. Vůně daných vzorků byla po celou dobu jemná, příjemná bez cizích pachů, současně vůně alkoholu byla příjemná. Během 48 hodin u zmíněných vzorků bylo aroma stále přijatelné. Po 72 hodinách od začátku experimentu již vzorky nebylo možné dále hodnotit.

U ostatních vzorků hodnotitelé vytýkali příliš sladkou nebo naopak nevýraznou chuť na začátku experimentu. Současně i vůně vzorků byla buď více intenzivní, nebo příliš jemná. V průběhu 48 hodin u daných vzorků již vzniklo velmi intenzivní kyselé a alkoholové aroma, což bylo vyhodnoceno jako nepříjemné, proto byly vzorky ze sensorické analýzy pro další hodnocení vyřazeny.



Obrázek 31: Modelové vzorky mléčného kefiru
(a. K_95, b. K_85, c. K_75, d. K_65, e. K_100)



Obrázek 32: Modelové vzorky vodního kefiru
(a. V_95, b. V_85, c. V_75, d. V_65, e. V_100)

ZÁVĚR

Teoretická část diplomové práce byla zaměřena na charakteristiku výchozí suroviny pro výrobu fermentovaných syrovátkových nápojů a technologii výroby těchto výrobků. Dále jsou popsány mikrobiální kultury, které jsou pro výrobu fermentovaných nápojů využívány. V neposlední řadě jsou popsány ochucující složky, které mohou být do nápojů přidávány pro dodání požadovaných organoleptických vlastností.

Praktická část diplomové práce se zabývala výřovou nového typu fermentovaných syrovátkových nápojů ochucených zeleninovou šťávou. Dále sledováním jejich fyzikálně-chemických, reologických a senzorických změn v průběhu 42 dnů. Mezi sledovanými fyzikálně-chemickými vlastnostmi byly změny hodnot pH, TDS, RS, obsahu ethanolu, hustoty, stupně fermentace a aktivity vody, a to 0., 1., 2., 3., 7., 14., 21., 28. a 42. den.

Na základě získaných výsledků lze říci, že kombinace syrovátky a mrkvové šťávy je vhodnější médium pro kultury vodního kefiru. Fermentace u dané sady vzorků probíhala rychleji, kdy již během 48 hodin byl u všech vzorků dosažen maximální obsah ethanolu ve vzorcích, čemuž i odpovídaly hodnoty RDF.

Obsah refraktometrické sušiny klesal do 14. dne u obou sad vzorků, následně byl zaznamenán nárůst hodnot. Daný trend mohl být způsoben vyčerením vzorků již během prvních dnů a odběru spíše vodného prostředí pro analýzy, což mohlo v následujících dnech způsobit odběr vyššího obsahu sedimentu. Z daného důvodu by bylo vhodné v dalších studiích modelové vzorky rozdělit do více fermentačních nádob pro každý odběrový den a před samotnou analýzou vzorky promíchat.

Na základě výsledků reologické analýzy bylo zjištěno, že všechny modelové vzorky vykazují pseudoplastické chování, kdy se jejich viskozita se zvyšujícím se gradientem rychlosti snižuje, a tedy vzorky řídnu.

Diplomová práce byla doplněna i senzorickou analýzou, která měla za úlohu vyhodnotit, zda organoleptické vlastnosti vyrobených modelových vzorků splňují požadavky spotřebitelů a zvolená technologie výroby se jeví jako optimální. Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že vzorky tyto požadavky nesplňovaly již od 2. dne experimentu. Vzorky byly pro hodnotitele příliš kyselé, což bylo způsobené vysokou aktivitou mikroorganismů za daných podmínek.

Zvolená technologie výroby modelových vzorků byla vyhodnocena jako nevhodná pro daný typ fermentovaného nápoje. Pro další studie by bylo vhodné využít například kratší dobu fermentace, tedy místo 72 hodin fermentace zvolit pouze 48 hodin. Dalším možným řešením úpravy technologie výroby by mohla být fermentace pouze syrovátky a následné míchání se zeleninovou šťávou. Současně by bylo možné využít i tepelného ošetření po procesu fermentace, např. termizace nebo pasterace daných modelových vzorků, aby ve vyrobených nápojích již dále neprobíhal proces fermentace, a tedy vzorky nebyly ze sensorického hlediska příliš kyselé.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PAREDES, Jorge Luís, 2022. A new functional kefir fermented beverage obtained from fruit and vegetable juice: Development and characterization. *LWT* [online]. **154** [cit. 2022-04-29]. ISSN 0023-6438. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112728>
- [2] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1924/2006 ze dne 20. prosince 2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin, 2006. In: *Úřední věstník Evropské unie*. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1924&from=SV>
- [3] ARSIĆ, Slavica et al., 2018. Functional fermented whey carrot beverage – qualitative, nutritive and techno-economic analysis. *Romanian Biotechnological Letters* [online]. Romania: University of Bucharest, 23(2) [cit. 2022-04-03]. Dostupné z: <https://core.ac.uk/download/pdf/250081271.pdf>
- [4] Vyhláška č. 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. In: *Sbírka zákonů České republiky* [online]. [cit. 2022-04-03]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-397>
- [5] GÉSAN-GUIZIOU, Geneviève, 2014. Integrated membrane operations in whey processing. *Integrated Membrane Operations in the Food Production* [online]. 2014. Germany: De Gruyter, s. 133-146 [cit. 2022-04-03]. ISBN 978-3-11-028566-6. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt010R8362/integrated-membrane-operations/whey-types-composition>
- [6] MILLER D. Gregory, Judith K. JARVIS, Lois D. MCBEAN. *Handbook of Dairy Foods and Nutrition*. Third Edition. London: CRC Press, 2006. ISBN 978-0-8493-2828-2.
- [7] BYLUND Gösta. *Dairy Processing Handbook*. Lund: Tetra Pak Processing Systems AB, 1995. ISBN 978-91-631-3427-2.
- [8] SUKOVÁ Irena. *Syrovátka v potravinářství*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2006. ISBN 80-7271-173-3
- [9] KILARA, Arun, 2014. *Whey and Whey Products*. *Dairy Processing and Quality Assurance (2nd Edition)* [online]. 2016. USA: Wiley Blackwell, s. 349-366 [cit. 2022-04-03]. Dostupné z:

- <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011NBWD1/dairy-processing-quality/whey-whey--introduction>
- [10] KADLEC Pavel a kol. Technologie potravin II. Praha: VŠCHT v Praze, 2008. ISBN 978-80-7080-510-7.
- [11] DE RUUD, Boer, 2014. Milk Specifics. From Milk By-Products to Milk Ingredients - Upgrading the Cycle [online]. 2014. USA: Wiley Blackwell, s. 27-68 [cit. 2022-04-03]. ISBN 978-0-470-67222-8. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011B99L3/from-milk-by-products/palette-ingredients>
- [12] STATHOPOULOS, Constantinos E., 2008. Dairy-based ingredient. Gluten-Free Cereal Products and Beverages [online]. 2008. UK: Elsevier, s. 217-236 [cit. 2022-04-03]. ISBN 978-0-12-373739-7. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00BJH891/gluten-free-cereal-products/dairy-base-introduction>
- [13] KUMAR, Narendra, 2015. Fermented and Non Fermented Whey Beverages. BEVERAGE & FOOD WORLD [online]. 42(4), 28-31 [cit. 2022-04-03]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/289326629_Fermented_and_Non_Fermented_Whey_Beverages/link/568b8c1708ae1e63f1fd53e3/download
- [14] JELEN, P., 2009. Whey-based functional beverages. *Functional and speciality beverage technology* [online]. UK: Woodhead, s. 259-280 [cit. 2022-04-07]. ISBN 978-1-84569-556-9. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt006B3P83/functional-speciality/introduction-definition>
- [15] JEANTET, Romain et al., 2016. *Handbook of food science and technology*. Hoboken, NJ. Food science and technology series (London, England). ISBN 978-184-8219-342
- [16] Popović-Vranješ I., Vujičić, A. (1997): Tehnologija surutke, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Novi Sad.
- [17] JELIČIĆ, Irena, et al., 2008. Whey-based beverages - a new generation of dairy products. *Mljekarstvo* [online]. 58(3), 257–274 [cit. 2022-04-26]. Dostupné z:

- https://www.researchgate.net/publication/228631581_Whey-based_beverages-a_new_generation_of_diary_products
- [18] HOLSINGER, V. H., et al., 1974. Whey Beverages: A Review. *Journal of Dairy Science* [online]. **57**(8), 849-859 [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030274849763>
- [19] Syrovátka ve výživě. *Bezpečnost potravin* [online]. [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92085.aspx>
- [20] BATISTA, M. A., et al., 2018. Whey and protein derivatives: Applications in food products development, technological properties and functional effects on child health. *Cogent Food & Agriculture* [online]. **4**(1), 1-17 [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: doi:10.1080/23311932.2018.1509687
- [21] BARUKČÍČ, Irena, 2019. Valorisation of Whey and Buttermilk for Production of Functional Beverages – An Overview of Current Possibilities. *Food Technology and Biotechnology* [online]. **57**(4), 448–460 [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: doi:10.17113/ftb.57.04.19.6460
- [22] Magalhães KT, Dragone G, de Melo Pereira GV, Oliveira JM, Domingues L, Teixeira JA, et al. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. *Food Chem.* 2011;126(1):249–53.
- [23] ROUX-DE BALMANN, Hélène, 2014. Food applications. *Integrated Membrane Operations in the Food Production* [online]. Berlin/Boston: DE GRUYTER, s. 345-352 [cit. 2022-04-07]. ISBN 978-3-11-028566-6. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt010R86Y6/integrated-membrane-operations/membranes-and-stacks>
- [24] JELEN, P., 2009. Dried Whey, Whey Proteins, Lactose and Lactose Derivative Products. *Dairy Powders and Concentrated Products* [online]. UK: Wiley Blackwell, s. 254-267 [cit. 2022-04-07]. ISBN 978-1-4051-5764-3. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011NBBS1/dairy-powders-concentrated/types-composition-raw>
- [25] CHAVAN, R. S., et al., 2015. Whey Based Beverage: Its Functionality, Formulations, Health Benefits and Applications. *Journal of Food: Processing &*

- Technology* [online]. 6(10) [cit. 2022-04-26]. ISSN 2157-7110. Dostupné z: doi:10.4172/2157-7110.1000495
- [26] CASSANO, Alfredo, 2016. Integrated Membrane Processes in the Food Industry. *Integrated Membrane Systems and Processes* [online]. UK: John Wiley, s. 35-60 [cit. 2022-04-07]. ISBN 978-1-118-73908-2. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011HIDU3/integrated-membrane-systems/integrated-introduction>
- [27] PERREIRA, Carlos, 2015. Novel Functional Whey-Based Drinks with Great Potential in the Dairy Industry. *Food Technology and Biotechnology* [online]. 53(3), 307–314 [cit. 2022-04-26]. ISSN 1330-9862. Dostupné z: doi:10.17113/b.53.03.15.4043
- [28] AUDIC, J. L. a B. CHAUFER, 2016. Applications of milk components in products other than foods. *Improving the Safety and Quality of Milk: Improving Quality in Milk Products* [online]. Volume 2. UK: Woodhead Publishing, s. 475-489 [cit. 2022-04-07]. ISBN 978-1-84569-943-7. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0094C0V2/improving-safety-quality-2/applications-introduction>
- [29] ATHANASIADIS, I., 2004. Development of a Novel Whey Beverage by Fermentation with Kefir Granules. *Biotechnology Progress* [online]. 20(4), 1091 - 1095 [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1021/bp0343458>
- [30] MEGANATHAN, R., 2007. Lactic acid fermentation. *Methods for General and Molecular Microbiology* [online]. 3rd Edition. Washington, DC: American Society for Microbiology (ASM), s. 562-563 [cit. 2022-04-07]. ISBN 978-1-61344-274-6. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0090KHJ1/methods-general-molecular/carbohydrate-fermentations>
- [31] PESCUA, M., Hebert, E. M., Mozzi, F., Font de Valdez, G., 2008. Whey fermentation by thermophilic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. *Food Microbiology* 25: 442-451.
- [32] TAMIME, A.Y. ROBINSON, R. K. 2007. Biochemistry of fermentation. *Tamime and Robinson's Yoghurt: Science and Technology* [online]. 3rd Edition. UK: Woodhead Publishing [cit. 2022-04-07]. ISBN 978-1-84-569261-2. Dostupné z:

- <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt007DDNV5/tamime-robinsons-yoghurt/carbohydrate-metabolism>
- [33] BUŇKOVÁ, Leona, 2019. *Metabolismus mikroorganismů: přednáška*. FT UTB ve Zlíně
- [34] VLKOVÁ, Eva, Vojtěch RADA a Jiří KILLER. *Potravinářská mikrobiologie*. 2. vyd. V Praze: Česká zemědělská univerzita, 2009. ISBN 978-80-213-1988
- [35] KŮCK, Ulrich; FRANKENBERG-DINKEL, Nicole. 2015. *Biotechnology* [online]. Germany: De Gruyter [cit. 2022-03-14]. ISBN 978-1-5231-0449-9. Dostupné z: https://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpB0000011/viewerType:toc//root_slug:biotechnology/url_slug:alcohol-fermentation?issue_id=kt010ZJBZ1
- [36] JANDEROVÁ B., BENDO VÁ O., 1999: Úvod do biologie kvasinek. Nakladatelství Karolinum, Praha, 108 s. ISBN 80-7184-990-1
- [37] BAMFORTH, Charles W. a David J. COOK. *Food, fermentation and microorganisms* [online]. Second edition. Hoboken, NJ : John Wiley & Sons, 2019, 1 UTB ve Zlíně, Fakulta technologická 94 online zdroj. ISBN 9781119557456. Dostupné z: <https://proxy.k.utb.cz/login?url=https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9781119557456> [cit. 2022-02-08].
- [38] KADLEC, Pavel, Karel MELZUCH a Michal VOLDŘICH, 2012. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-145-0.
- [39] BAEK, Young Jin, 2009. *Probiotics and Prebiotics as Bioactive Components in Dairy Products*. *Bioactive Components in Milk and Dairy Products* [online]. USA: John Wiley, 287–310 [cit. 2022-04-27]. ISBN 978-1-5231-1859-5. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011NB1B8/bioactive-components/history>
- [40] STEVENS, M., 2011. *The potential of reuterin produced by Lactobacillus reuteri as a broad spectrum preservative in food*. *Protective Cultures, Antimicrobial Metabolites and Bacteriophages for Food and Beverage Biopreservation* [online]. UK: Woodhead Publishing, 129–160 [cit. 2022-04-27]. ISBN 978-0-85709-052-2. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt009276S2/protective-cultures-antimicrobial/origin-characteristics>

- [41] MCAULIFFE, Olivia, 2017. Genetics of Lactic Acid Bacteria. *Cheese – Chemistry, Physics & Microbiology* [online]. 4th Edition. UK: Elsevier, 227–247 [cit. 2022-04-27]. ISBN 978-0-12-417017-9. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00CX8ZU1/cheese-chemistry-physics/lactococcus-lactis>
- [42] ROBINSON, Richard K., 2000. *Encyclopedia of Food Microbiology: Volumes 1–3* [online]. UK: Elsevier [cit. 2022-04-27]. ISBN 978-0-08-052359-0. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0051MHK5/encyclopedia-food-microbiology/saccharomyces-introduction-3>
- [43] FERNANDES, Rhea, 2009. Fermented milk. *Microbiology Handbook – Dairy Products* [online]. 3rd Edition. Royal Society of Chemistry (RSC), 77–91 [cit. 2022-04-27]. ISBN 978-1-62198-172-5. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00AC6T3G/microbiology-handbook-3/traditional-or-natural>
- [44] ADAMS, Martin R., 2016. Fermented and Microbial Foods. *Food Microbiology* [online]. 4th Edition. Royal Society of Chemistry (RSC), 341 - 409 [cit. 2022-04-27]. ISBN 978-1-5231-1940-0. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011OF4L1/food-microbiology-4th/yeasts>
- [45] BOEKHOUT, T., 2003. *Saccharomyces cerevisiae and Saccharomyces bayanus. Yeasts in Food - Beneficial and Detrimental Aspects* [online]. Elsevier [cit. 2022-04-27]. ISBN 978-1-84569-848-5. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00C7JV62/yeasts-in-food-beneficial/saccharomyces-cerevisiae>
- [46] WAREING, Peter, 2010. Food spoilage yeasts. *Micro-Facts - The Working Companion for Food Microbiologists* [online]. 7th Edition. Royal Society of Chemistry (RSC), 341 - 368 [cit. 2022-04-27]. ISBN 978-1-62198-175-6. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00ACJUM1/micro-facts-working-companion/micro-facts-introduction>
- [47] KOČKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ A., 1990: Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov. Alfa, Bratislava, 699 s. ISBN 80-05-00644-6
- [48] *Encyclopedia of Food Microbiology* [online], 2014. Second Edition. USA: Elsevier [cit. 2022-04-26]. ISBN 978-0-12-384733-1.

- [49] BRIANDA, D., 2022. Invited review: Milk kefir microbiota—Direct and indirect antimicrobial effects. *Journal od Dairy Science* [online]. [cit. 2022-04-26]. ISSN 0022-0302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2021-21382
- [50] KESENKAS, H., 2017. Kefir. *Fermented Foods in Health and Disease Prevention* [online]. Elsevier, 339 - 362 [cit. 2022-04-27]. ISBN 978-0-12-802549-9. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0112TW42/fermented-foods-in-health/kefir-introduction>
- [51] *Wugi: mléčné kefirové kultury na zkoušku* [online]. [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: <https://www.wugi.cz/p/mlecne-kefirove-kultury-na-zkousku>
- [52] ALVES, Vanessa, Thamaris SCAPINI, Aline Frumi CAMARGO, et al. Development of fermented beverage with water kefir in water-soluble coconut extract (*Cocos nucifera* L.) with inulin addition. *LWT* [online]. 2021, (145) [cit. 2021-04-21]. ISSN 0023-6438. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364382100517X>
- [53] *Wugi: mléčné kefirové kultury na zkoušku* [online]. [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: <https://www.wugi.cz/p/vodni-kefirove-kultury-na-zkousku>
- [54] MORETTI, Ana Florencia, 2022. *Water kefir, a fermented beverage containing probiotic microorganisms: From ancient and artisanal manufacture to industrialized and regulated commercialization* [online]. 5 [cit. 2022-04-26]. ISSN 2666-8335. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666833522000119>
- [55] MENG-YUN, Chen. Characterization of Tibetan kefir grain-fermented milk whey and its suppression of melanin synthesis. *Journal of Bioscience and Bioengineering* [online]. [cit. 2022-04-26]. ISSN 1389-1723. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S138917232200041X>
- [56] GUZEL-SEYDIM, Zeynep B., 2021. A comparison of milk kefir and water kefir: Physical, chemical, microbiological and functional properties. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 113, 42–53 [cit. 2022-04-26]. ISSN 0924-2244. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224421003010#tbl1>
- [57] AHMED, Rania F., et al., 2020. Biological, chemical and antioxidant activities of different types Kombucha. *Annals of Agricultural Sciences* [online]. 65(1), 35–41

- [cit. 2022-04-26]. ISSN 0570-1783. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S057017832030018X?via%3Dihub>
- [58] DE ROOS, Jonas, 2018. Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. *Current Opinion in Biotechnology* [online]. **49**, 115–119 [cit. 2022-05-04]. ISSN 0958-1669. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.08.007>
- [59] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1334/2008 ze dne 16. prosince 2008 o látkách určených k aromatizaci a některých složkách potravin vyznačujících se aromatem pro použití v potravinách nebo na jejich povrchu a o změně nařízení Rady (EHS) č. 1601/91, nařízení (ES) č. 2232/96 a č. 110/2008 a směrnice 2000/13/ES. In: Úřední věstník Evropské unie. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1334&qid=1648797472494&from=EN>
- [60] SURBURG, Horst, 2016. Safety Evaluation and Regulatory Aspects. *Common Fragrance and Flavor Materials - Preparation, Properties and Uses* [online]. 6th Edition. John Wiley, 267 - 270 [cit. 2022-04-27]. ISBN 978-1-5231-1011-7. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011B6OM3/common-fragrance-flavor/safety-eva-flavoring-substances>
- [61] TAMINE, A.Y. a R.K. ROBINSON, 2007. Flavouring Agents. *Tamime and Robinson's Yoghurt: Science and Technology* [online]. 3rd Edition. Woodhead Publishing [cit. 2022-04-28]. ISBN 978-1-84-569261-2. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt007DDGJ1/tamime-robinsons-yoghurt/flavouring-agents>
- [62] ASHURST, Philip R. a Robert HARGITT, 2009. Ingredients in soft drinks and fruit juices. *Soft Drink and Fruit Juice Problems Solved* [online]. Woodhead Publishing [cit. 2022-04-28]. ISBN 978-1-84-569706-8. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt006RAAR1/soft-drink-fruit-juice/how-much-does-water-quality>
- [63] JANIASKI, D. R., 2016. Strawberry-flavored yogurts and whey beverages: What is the sensory profile of the ideal product?. *Journal of Dairy Science* [online]. **99**(7), 5273-5283 [cit. 2022-04-26]. ISSN 0022-0302. Dostupné z: doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10097>

- [64] EL-ABASY, Amany E., 2012. Mixes of Carrot Juice and Some Fermented Dairy Products: Potentiality as Novel Functional Beverages. *Food and Nutrition Sciences* [online]. 233-239 [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: doi: <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2012.32034>
- [65] PARISH, Mickey E. Juices and Juice-containing Beverages. *Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods* [online]. 2015. [cit. 2022-04-26]. ISBN 087553175X. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/282890670_Juices_and_Juice-Containing_Beverages
- [66] NURSIWI, A. Characteristic of Fermented Whey Beverage with Addition of Tomato Juice (*Lycopersicum esculentum*). *Materials Science and Engineering* [online]. **193** [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: doi: doi:10.1088/1757-899X/193/1/012009
- [67] CARLE, Reinhold, 2016. Specific Industrial and Industrial Applications of Natural Colorants. *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages: Industrial Applications for Improving Food Color* [online]. Elsevier [cit. 2022-04-28]. ISBN 978-0-08-100392-3. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt010Y8V27/handbook-natural-pigments/coloring-a-introduction>
- [68] VATAI, G., 2010. Separation technologies in the processing of fruit juices. *Separation, Extraction and Concentration Processes in the Food, Beverage and Nutraceuical Industries* [online]. Woodhead Publishing [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00950DJ1/separation-extraction/separation-introduction>
- [69] TAGGART, P., 2009. Fruit Preparations. *Handbook of Hydrocolloids* [online]. 2nd Edition. Woodhead Publishing [cit. 2022-04-28]. ISBN 978-1-84-569587-3. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt006R7KM5/handbook-hydrocolloids/starch-introduction>
- [70] FENNA, Donald, 2002. pH. *Dictionary of Weights, Measures, and Units* [online]. Oxford University Press [cit. 2022-04-28]. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0093ZT61/dictionary-weights-measures/p-pyron-ph>

- [71] SCHASCHKE, Carl, 2014. *Dictionary of Chemical Engineering - trial and error* [online]. Oxford university Press [cit. 2022-04-29]. ISBN 978-1-62870-844-8. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00TW7502/dictionary-chemical-engineering/trial-and-error>
- [72] *Refraktometr: K čemu se používá refraktometr* [online]. [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <https://www.refraktometr.cz/vyuziti-refraktometru>
- [73] *Refraktometr: Stupnice pro měření cukernatosti Brix, Balling, Plato, ČNM, KMW, Oechsle, Baumé* [online]. [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <https://www.refraktometr.cz/stupnice-pro-mereni-cukernatosti>
- [74] Aktivita vody. *Bezpečnost potravin* [online]. [cit. 2022-04-26]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76457.aspx>
- [75] *Measuring Instruments for Analyzing Beer Products* [online]. [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: https://www.craftbrewersconference.com/wp-content/uploads/2012_ebag/Anton_Paar.pdf
- [76] Beer Analysis: Overview, 2021. *Anton Paar* [online]. [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <https://www.anton-paar.com/?eID=documentsDownload&document=68006&L=0>
<https://www.anton-paar.com/?eID=documentsDownload&document=68006&L=0>
- [77] Real Degree of Fermentation of Beer, 2018. *BrewUp* [online]. [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <https://brewup.eu/ebc-analytica/beer/real-degree-of-fermentation-of-beer/9.5>
- [78] Šavel, J., Košin, P., Brož, A., & Vlček, J., 2020. Interpolation formulas for Balling's alcohol factors. *KVASNY PRUMYSL*, 66(2), 239-244. <https://doi.org/10.18832/kp2019.66.239>
- [79] Online Rheology Model Fitting. *Rheology Applications: An Online Resource for Rheology & Its Applications* [online]. [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <https://rheologyapplications.com/online-rheology-model-fitting.php>
- [80] ANTON, Dea, et al., 2016. Comparative study of microbiological, chemical and sensory properties of kefir produced in Estonia, Latvia and Lithuania. *Journal of Dairy Research* [online]. Cambridge University Press, **83** (1), 89–95. Dostupné z: doi:10.1017/S0022029915000710

- [81] JONES, R. P., 1986. Role of water activity in ethanol fermentation. *Biotechnology and Bioengineering* [online]. **28**(1), 29 - 40 [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: [doi:10.1002/bit.260280106https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18553839/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18553839/)
- [82] AVIRA-REYES, Sandra V., et al., 2022. Comparative Analysis of Fermentation Conditions on the Increase of Biomass and Morphology of Milk Kefir Grains. *Applied Sciences* [online]. **12**(5), [cit. 2022-04-29]. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2076-3417/12/5/2459>
- [83] Vyhláška č. 248/2018 Sb., o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí. In: Sbíрка zákonů České republiky [online]. [cit. 2022-04-20]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2018-248>
- [84] [SHENG-DUN, Lin, Yang JOAN-HWA, Hsieh YUN-JUNG, Liu EN-HUI a Mau JENG-LEUN. Effect of Different Brewing Methods on Quality of Green Tea. *Journal of Food Processing and Preservation* [online]. 38. 2013, (3), 1234-1243 [cit. 2022-4-11]. Dostupné z: <https://doi-org.proxy.k.utb.cz/10.1111/jfpp.12084>]
- [85] CHLUP, Paul H. The Oxford Companion to Beer definition of real degree of fermentation (RDF). *Beer and Breewing: dictionary* [online]. [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://beerandbrewing.com/dictionary/gaKDNn0yxE/>
- [86] BERKER, A., 2002. Rheology for adhesion science and technology. *Adhesion Science and Engineering* [online]. Elsevier, 443 - 498 [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444511409500391>
- [87] Viskozita. *Labicom* [online]. [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://www.labicom.cz/cogwpspogd/uploads/2016/07/Viskozita-definice.pdf>
- [88] Power Law Model: glossary. *Analyzing and Testing* [online]. [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://analyzing-testing.netzsch.com/en/training-knowledge/glossary/power-law-model>
- [89] HANSON, Cort, 2021. Non-Newtonian Fluids - How to Model the Soap, Silly-Putty, or Shampoo in Your Pipe Network. *Applied Flow Technology* [online]. [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://www.aft.com/support/product-tips/non-newtonian-fluids-how-to-model-the-soap-silly-putty-or-shampoo-in-your-pipe-network>
- [90] Making Use Of Models: The Power Law (or Ostwald) Model. *Centre for Industrial Rheology* [online]. [cit. 2022-04-30]. Dostupné z:

<http://www.rheologyschool.com/advice/rheology-tips/35-making-use-of-models-the-power-law-or-ostwald-model>

- [91] Hanna HI99161 Waterproof Portable Food and Dairy pH Meter. In: *Itm* [online]. [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://www.itm.com/product/hanna-instruments-hi99161-waterproof-portable-ph-meter-for-dairy-products>
- [92] *Handheld conductivity meter* [online]. In: Archiexpo. [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://www.archiexpo.com/prod/thermo-scientific-eutech-instruments/product-79819-680776.html>
- [93] Digital refractometer. In: *Farnell* [online]. [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://cz.farnell.com/kern/orf-45be/digital-refractometer/dp/3850415>
- [94] Aqualab 4TE. In: *Insulab* [online]. [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://comercializadorainsulab.com/catalogo/aqualab-4te>
- [95] *Anton Paar: Density Redefined* [online]. [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://www.anton-paar.com/cz-cs/density-redefined/>
- [96] *Haake series 1* [online]. [cit. 2022-04-30]. Dostupné z: <https://www.pragolab.cz/reologie-viskozita-a-extruze/reometry/haake-series-1>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BCAA	Branched Chain Amino Acids
BMK	bakterie mléčného kvašení
EMP	Embden-Mayerhof-Parnasova dráha
HAMLET	Human alpha-La made lethal to tumor cells
PEP	fosfoenolpyruvát
RDF	Real Degree of Fermentation
RS	refraktometrická sušina
TAG	triacylglycerol
TDS	Total Dissolved Solid
WPC	Whey Protein Concentrate
WPI	Whey Protein Isolate

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Schéma výroby fermentovaných syrovátkových nápojů, upraveno podle [26]	22
Obrázek 2: Schéma homolaktické fermentace [33]	25
Obrázek 3: Schéma heterolaktické fermentace [33]	27
Obrázek 4: Metabolizmus glukózy EMP drahou, [35]	28
Obrázek 5: Vznik ethanolu [35]	28
Obrázek 6: Zrna mléčného a vodního kefiru, upraveno podle [55]	35
Obrázek 7: Schéma výroby nápojů	44
Obrázek 8: pH metr Foodcare HI 99161 [91]	45
Obrázek 9: Konduktometr CyberScan CON 110 [92]	46
Obrázek 10: Digitální refraktometr Kern ORF 45BE [93]	47
Obrázek 11: Water Activity meter [94]	47
Obrázek 12: Density meter DMA 4500 [95]	48
Obrázek 13: Reometr HAAKE Rheostress 1 [96]	49
Obrázek 14: Výsledné hodnoty pH u vzorků s mléčným kefirem	53
Obrázek 15: Výsledné hodnoty pH u vzorků s vodním kefirem	53
Obrázek 16: Výsledné hodnoty TDS u vzorků s mléčným kefirem	55
Obrázek 17: Výsledné hodnoty TDS u vzorků s vodním kefirem	55
Obrázek 18: Výsledné hodnoty refraktometrické sušiny u vzorků s mléčným kefirem	58
Obrázek 19: Výsledné hodnoty refraktometrické sušiny u vzorků s vodním kefirem	58
Obrázek 20: Vodní aktivita vzorků s mléčným kefirem	60
Obrázek 21: Vodní aktivita vzorků s vodním kefirem	60
Obrázek 22: Výsledné hodnoty hustoty u vzorků s mléčným kefirem	63
Obrázek 23: Výsledné hodnoty hustoty u vzorků s vodním kefirem	63
Obrázek 24: Výsledné hodnoty obsahu alkoholu u vzorků s mléčným kefirem	66
Obrázek 25: Výsledné hodnoty obsahu alkoholu u vzorků s vodním kefirem	66
Obrázek 26: Výsledné hodnoty RDF u vzorků s mléčným kefirem	68
Obrázek 27: Výsledné hodnoty RDF u vzorků s vodním kefirem	68
Obrázek 28: Závislost smykového napětí na gradientu smykové rychlosti [88]	69
Obrázek 29: Závislost smykového napětí na gradientu smykové rychlosti pro mléčný kefir v průběhu fermentace a skladování	70
Obrázek 30: Závislost smykového napětí na gradientu smykové rychlosti pro vodní kefir v průběhu fermentace a skladování	72
Obrázek 31: Modelové vzorky mléčného kefiru (a. K_95, b. K_85, c. K_75, d. K_65, e. K_100)	76

Obrázek 32: Modelové vzorky vodního kefíru (a. V_95, b. V_85, c. V_75, d. V_65, e. V_100)76

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Složení sladké a kyselé syrovátky [12][13]	14
Tabulka 2: Koncentrace mikronutrientů v syrovátce [9]	16
Tabulka 3: Výživové údaje na 100 g (syrovátka)	41
Tabulka 4: Výživové údaje na 100 g (mrkvová šťáva).....	42
Tabulka 5: Hodnoty PowerLaw modelu pro vzorky s mléčným kefirem.....	71
Tabulka 6: Hodnoty z PowerLaw modelu pro vzorky s vodním kefirem	73

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Senzorický dotazník

barva

- 1 – zcela nevyhovující, nepřijatelná
- 2 – neuspokojivá, nedostatečná, téměř nevyhovující
- 3 – dobrá, ještě vyhovující
- 4 – velmi dobrá, vyhovující
- 5 – výborná

vůně

- 1 – nepříjemná, neharmonická, zcela nevyhovující
- 2 – téměř nepříjemná, téměř nevyhovující
- 3 – dobrá, příjemná, ještě vyhovující
- 4 – dosti příjemná, harmonická, vyhovující
- 5 – velmi příjemná, výborná, harmonická, velmi vyhovující

sladká chuť

- 1 – nesladká
- 2 – málo sladká
- 3 – středně sladká
- 4 – více sladká
- 5 – přeslazená

kyselá chuť

- 1 – nekyselá
- 2 – málo kyselá
- 3 – středně kyselá
- 4 – více kyselá
- 5 – kyselá

celkový dojem

- 1 – nedostatečný
- 2 – uspokojivý
- 3 – dobrý
- 4 – velmi dobrý
- 5 – výborný