

Fermentované mléčné nápoje

Karolína Horáková

Bakalářská práce
2023



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická
Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Karolína Horáková
Osobní číslo: T19401
Studijní program: B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin
Specializace: Technologie potravin
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Fermentované mléčné nápoje

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

Základní charakteristika mléka.

Fermentované mléčné nápoje a princip jejich výroby.

Čisté mlékárenské kultury využívané při výrobě fermentovaných nápojů.

Trendy ve výrobě fermentovaných mléčných nápojů.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] BYLUND, G. (2015). Dairy processing handbook. Second edition. Tetra Pak Processing Systems AB, Lund, Sweden.
- [2] SHIBY, V. K. & MISHRA, H. N. (2013). Fermented Milks and Milk Products as Functional Foods-A Review [Online]. *Critical Reviews In Food Science and Nutrition*. 53(5), 482-496. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.547398>
- [3] SARKAYA, P., AKAN, E., & KINIK, O. (2021). Use of kombucha culture in the production of fermented dairy beverages [Online]. *Lwt*, 137. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110326>

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Vendula Kůrová**
Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **19. května 2023**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2023

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou 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 – bakalářskou 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 bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské 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 na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Cílem této bakalářské práce bylo vytvořit rešerši na téma fermentované mléčné nápoje. Konkrétně se práce zabývá základní charakteristikou mléka, čistými mlékařskými kulturami, výrobou a jednotlivými druhy fermentovaných mléčných nápojů. Dále práce popisuje novodobé trendy ve výrobě fermentovaných mléčných nápojů, které by mohly v budoucnu ovlivnit stále rostoucí trh s fermentovanými mléčnými nápoji. Jsou zde popsány také legislativní požadavky na mléko a fermentované mléčné nápoje. Bakalářská práce se také dotýká problematiky mléka a mléčných výrobků jako funkčních potravin.

Klíčová slova: mléko, fermentované mléčné nápoje, čisté mlékařské kultury, kombucha, vodní kefir

ABSTRACT

The aim of this bachelor's thesis was to create research on the topic of fermented dairy beverages. Specifically, the thesis deals with the basic characteristics of milk, starter cultures, production and individual types of fermented dairy beverages. It also deals with modern trends in the production of fermented milk drinks, which could affect the ever-growing market for fermented milk drinks in the future. There are also described legislative requirements for milk and fermented dairy beverages. The bachelor's thesis also concerns the issue of milk and dairy products as functional foods.

Keywords: milk, fermented milk beverages, dairy starter culture, kombucha, water kefir.

Ráda bych poděkovala vedoucí práce Ing. Vendule Kůrové za odborné vedení, cenné rady a věcné připomínky, které mi poskytla v průběhu vypracování bakalářské práce.

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

OBSAH

ÚVOD	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA MLÉKA	10
1.1 SLOŽENÍ KRAVSKÉHO MLÉKA	10
1.1.1 Mléčný tuk	12
1.1.2 Mléčné proteiny	13
1.1.3 Mléčný cukr	14
1.1.4 Minerální látky a vitamíny	15
1.1.5 Enzymy	16
1.1.6 Voda	17
2 MLÉKÁRENSKÉ KULTURY VYUŽÍVANÉ PŘI VÝROBĚ FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH NÁPOJŮ	18
2.2 ČISTÉ MLÉKAŘSKÉ KULTURY	20
3 FERMENTOVANÉ MLÉČNÉ NÁPOJE	24
3.1 VÝŽIVOVÉ BENEFITY	24
3.2 PRINCIP VÝROBY FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH NÁPOJŮ	25
3.2.1 Výběr mléka	25
3.2.2 Filtrace.....	26
3.2.3 Deaerace a dezodorace	26
3.2.4 Odstředování mléka	26
3.2.5 Standardizace a homogenizace.....	26
3.2.6 Pasterace.....	27
3.2.7 Fermentace	27
3.2.8 Skladování.....	28
3.2.9 Další úpravy	28
3.3 DRUHY FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH NÁPOJŮ	28
3.3.1 Acidofilní mléko	29
3.3.2 Kefir	30
3.3.3 Kefírové mléko.....	33
3.3.4 Kysané podmáslní	34
3.3.5 Jogurt a jogurtové mléko.....	36
4 TRENDY VE VÝROBĚ FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH NÁPOJŮ	39
4.1 POUŽITÍ KOMBUCHY PŘI VÝROBĚ FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH NÁPOJŮ	39
4.2 POUŽITÍ VODNÍHO KEFÍRU PŘI VÝROBĚ FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH NÁPOJŮ	42
ZÁVĚR	45
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	46
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	53
SEZNAM OBRÁZKŮ	54

ÚVOD

Mléko má pro člověka z hlediska výživy velký význam, jelikož je vysoce cenným zdrojem živočišných bílkovin a dalších složek. Proto je také důležitou součástí jídelníčku u dětí i dospělých [3].

Kysaný mléčný výrobek je souhrnný název pro produkty jako jogurt, kefír, kysaná smetana, kysané podmásli a acidofilní mléko. Kysané mléčné výrobky obsahují všechny důležité složky, které jsou součástí mléka. Díky sníženému obsahu laktózy jsou vhodné pro lidi trpící intolerancí na laktózu. Společnou vlastností kysaných mléčných produktů je inokulace startovací kulturou, která přeměňuje část laktózy na kyselinu mléčnou, oxid uhličitý, kyselinu octovou, diacetyl, acetaldehyd a další látky typické pro jednotlivé výrobky, které dávají produktům jejich charakteristickou chuť a vůni. Existují důkazy, že kysané mléčné výrobky jsou vyráběny nejméně po dobu 8000 let. První jogurt byl nejspíše spontánně fermentován divokými bakteriemi vyskytujícími se na vacích vyrobených z koží kůže, které nosili kočovní lidé. V současné době spousta zemí prohlašuje jogurt za svůj vlastní výrobek, avšak nejstarší zaznamenaná informace o jogurtu se nachází ve středověkých tureckých knihách, napsaných v jedenáctém století. První zmínky o použití jogurtu v Evropě se objevují ve francouzské historické klinické studii. V roce 1908 držitel Nobelovy ceny Elie Metchnikov ve své knize „The Prolongation of Life“ píše, že tajemství dlouhověkosti tkví v udržení zdravého mikrobiomu střev. Fermentované mléčné nápoje pochází z blízkého východu a následně se rozšířily až do východní a střední Evropy. První fermentované mléko bylo nejspíše vyrobeno náhodně nomády, kdy se mléko srazilo a zkysalo vlivem blíže neurčeného mikroorganismu [3,29,34].

Fermentované mléčné nápoje jsou ve světě velice oblíbené zejména díky své trvanlivosti a dobré stravitelnosti [29]. V nabídce najdeme široké množství produktů spadajících do skupiny fermentovaných mléčných nápojů, které se liší zejména zemí původu a použitou kvasnou kulturou [30]. Mezi nejznámější fermentované mléčné nápoje patří jogurtové mléko, acidofilní mléko a kefirové mléko [29].

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA MLÉKA

Codex Alimentarius definuje mléko jako mléčný sekret dojících zvířat získaný z jednoho nebo více dojení bez přídavku nebo extrakce, které je dále určeno ke spotřebě jako tekuté mléko anebo se dále zpracovává [1].

Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, v platném znění, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, stanovuje syrové mléko jako mléko produkované sekrecí mléčné žlázy hospodářských zvířat, které nebylo podrobena ohřevu nad 40 °C a nebylo ani ošetřeno žádným způsobem s rovnocenným účinkem [31].

Podle vyhlášky č. 397/2016 Sb. v platném znění se mléko označuje názvem druhu a skupiny, dále názvem podskupiny podle obsahu tuku, který je pro jednotlivé výrobky stanoven nařízením o společné organizaci trhů se zemědělskými produkty (nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 1308/2013) a dále obsahem tuku. Tekuté kravské mléko se označí pouze jako mléko. Značí se také způsob tepelného ošetření. Jako „čerstvé“ lze označit tekuté mléko, které nebylo ošetřeno teplotou vyšší než 125 °C. Názvem trvanlivé mléko lze označit pouze tekuté mléko, u kterého bylo dosaženo prodloužení doby trvanlivosti vysokoteplotním ošetřením nebo sterilací [2].

Obecně může být mléko definováno jako bílá, neprůhledná tekutina vylučovaná mléčnými žlázami savců s typickou vůní a lehce nasládlou chutí, která slouží novorozencům jako jediná potrava v prvních měsících jejich života. Látky obsažené v mléce poskytují energii a stavební materiál nezbytný pro růst mláďat. Mléko mimo jiné obsahuje protilátky, které chrání mládě proti infekci [3].

Během léta se můžeme setkat s mírně nažloutlou barvou mléka. Tento jev je způsoben pastvou krav na loukách, kde se mění složení jejich stravy. Strava dojníc nemá vliv pouze na barvu mléka, ale také na jeho složení. Konzistence mléka by měla být homogenní, bez tvorby sraženiny a vločkování [4]. Můžeme ho také definovat jako emulzi oleje ve vodě [3].

1.1 Složení kravského mléka

Mléko je z největší části tvořeno vodou (přibližně 87 % w/w), zbylých 13 % w/w pak tvoří sušina, kam jsou zahrnovány sacharidy, mléčný tuk, dusíkaté látky a ostatní organické a anorganické látky. Mezi hlavní složky mléka jsou tedy řazeny mléčný tuk, bílkoviny, laktóza

a minerální látky. Mléko také obsahuje stopové množství jiných látek, jako jsou pigmenty, enzymy, vitaminy, fosfolipidy a plyny. pH mléka se pohybuje v rozmezí 6,5 až 6,7 [3].

Čerstvé mléko vykazuje určitou variabilitu ve složení a vlastnostech, což je způsobeno vícero faktory, jako například genetickými, kdy záleží na plemenu a individualitě dojnice. Dalším faktorem je také aktuální zdravotní stav dojnice, například zda netrpí záněty vemene neboli mastitidou [5]. Mastitidní mléko se vyznačuje zvýšeným množstvím leukocytů a také změnami ve složení, což negativně ovlivňuje vhodnost mléka k technologickým úpravám jako je sýření a také jeho vlastnosti (tepelnou stabilitu a kysací schopnost) [6]. Zánět mléčné žlázy způsobuje patogen (bakterie, plísně, kvasinky) z vnějšího prostředí. Důvodem tohoto onemocnění mohou být také neinfekční vlivy, jako jsou např. poranění vemene, nekvalitní zaplísňené krmění, stres a metabolické onemocnění. Po rozpoznání mastitidy a její příčiny se nasazují vhodná léčiva především z řad antibiotik a sulfonamidů. Rizikem takovéto léčby je možný výskyt reziduí inhibičních látek v mléce, které způsobují problémy jak zdravotní, tak technologické (inhibují růst mikroorganismů v mléce). U léčených dojnic je stanovena ochranná lhůta, kdy může znovu dojít k dodávání mléka do mlékárny. Doba ochranné lhůty se liší v závislosti na použitém léku [7]. Dalším faktorem ovlivňujícím kvalitu složení mléka jsou různá stadia laktace. Ke konci laktačního cyklu dochází k poklesu obsahu kaseinu a ke zvýšení množství syrovátkových bílkovin. Během laktačního cyklu se mění množství enzymů a hmotnostní poměry mezi minerálními látkami. Stejně tak mají na množství a složení mléka vliv environmentální faktory. Mezi environmentální faktory řadíme kvalitu krmiva, ustájení, stres, vyčerpanost zvířete, extrémní počasí, frekvenci a způsob dojení. Pokud dojíme pouze jednou denně, snižuje se množství mléka a obsah laktózy, naopak se zvyšuje obsah tuků a proteinů [5].

Podle nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu, musí provozovatelé potravinářských podniků zajistit, aby syrové kravské mléko splňovalo tyto kritéria:

- Celkový obsah mikroorganismů při 30 °C na ml musí být $\leq 100\,000$ CFU. Stanovuje se jako klouzavý geometrický průměr za dobu dvou měsíců při alespoň dvou vzorcích za měsíc.
- Obsah somatických buněk na ml musí být $\leq 400\,000$ CFU. Stanovuje se jako klouzavý geometrický průměr za dobu tří měsíců při alespoň jednom vzorku za měsíc [31].

1.1.1 Mléčný tuk

Kravné mléko obsahuje 3,5–5 % w/w mléčného tuku. Mléčný tuk se v mléce nachází v podobě tukových kuliček, které jsou jemně rozptýleny v mléčném séru. Tukové kuličky se tvoří v endoplazmatickém retikulu epitelových buněk mléčných alveol. Jejich průměr se pohybuje od 0,1 do 20 μm , nejčastěji však ve v průměru 3–4 μm , kdy v jednom mililitru mléka může být až 15 miliard tukových kuliček. Tukové kuličky jsou největší částice v mléce, zároveň mají nejmenší měrnou hmotnost a díky tomu mají tendenci stoupat k povrchu. Tento jev je označován jako vyvstávání smetany. Tukové kuličky jsou pokryty tukovou membránou, která zajišťuje jejich celistvost a schopnost integrovat s vodným prostředím mléka [3,5].

Membrána tukových kuliček je dvojvrstvá. Skládá se z proteinů, lipidů, fosfolipidů, glykosfingolipidů, hexózy, hexozaminů, esterů, RNA a mukopolysacharidů. Více jak 90 % sušiny membrány tvoří proteiny a lipidy. Membrána obsahuje také enzymy, přičemž nejvíce zastoupeným enzymem je hydroláza, dále se v menším množství v membráně nachází enzym transferáza a oxidoreduktáza. Membrána zajišťuje, že tuk zůstane rozptýlený ve vodné fázi mléka [5].

Mléčný tuk je složen z 98 % triacylglyceroly, zbytek tvoří monoacylglyceroly, diacylglyceroly, volné mastné kyseliny, fosfolipidy, steroly, estery sterolů, uhlovodíky a vitamíny rozpustné v tucích. Jejich složení je značně ovlivněno krmnou dávkou, ročním obdobím, zdravotním stavem a plemenem dojnice [3].

Mléčný tuk taje v širokém rozsahu teplot, což je způsobeno odlišným složením mastných kyselin. Teplota tání je přitom závislá na délce řetězce a počtu nenasycených vazeb v mastných kyselinách. Čím má mastná kyselina delší řetězec, tím vyšší bod tání bude mít. Naopak čím bude mít více dvojných vazeb, tím bude mít nižší bod tání. Při teplotách nad 40 °C je mléčný tuk kapalný, při teplotách pod 40 °C se část tuku vyskytuje ve formě kapalné a část ve formě pevné [4].

Pokud není mléko správně skladováno, může dojít k degradaci tuku díky hydrolytickému enzymu lipáze. Tento enzym je buď nativního (sekreční buňky mléčné žlázy) nebo mikrobiálního původu. Jeho činností dochází ke zvyšování obsahu volných mastných kyselin, což může způsobit sensorické vady mléka (máselná, žluklá, hořká nebo mýdlová chuť) [4].

1.1.2 Mléčné proteiny

Mléčné proteiny jsou nutričně bohatou součástí mléka, jelikož obsahují všechny esenciální aminokyseliny (valin, leucin, izoleucin, threonin, methionin, lysin, fenylalanin, tryptofan). Bílkoviny v mléce se dělí na kaseiny a syrovátkové bílkoviny, rozdíl je dán jejich rozpustností při pH 4,6 a teplotě 20 °C. Kromě těchto dvou hlavních skupin najdeme v mléce také malé množství bílkovin, které jsou součástí membrán tukových kuliček, enzymů a hormonů. Po strukturní stránce jsou proteiny polypeptidické řetězce složené z molekul aminokyselin, které jsou propojené peptidovou vazbou [3,5].

1.1.2.1 Kasein

Kasein je nejvíce zastoupenou bílkovinou v mléce, tvoří asi 80 % z celkového obsahu proteinů. Kasein má zásadní vliv na technologické vlastnosti mléka, hraje významnou roli při srážení mléka, ať už sladkého či kyselého. Kasein lze rozdělit do čtyř hlavních frakcí na α_{s1} -kasein, α_{s2} -kasein, β -kasein a κ -kasein. Kasein vytváří tzv. kazeinové micely jejichž stavební jednotkou je submicela o průměru přibližně 10–15 nm. Submicely jsou navzájem propojeny fosforečnanem vápenatým. α_s -kasein a β -kasein se nacházejí uvnitř submicely a jsou vysoce citlivé na přítomnost vápníku (v přítomnosti vápenatých iontů se vysráží), zatímco κ -kasein najdeme na jejím povrchu, kde slouží jako ochranný koloid a chrání tak α_s -kasein a β -kasein před vysrážením v mléce. Z toho vyplývá, že kazeinová micela je stabilní, dokud nedojde k odštěpení κ -kaseinu pomocí enzymu (při sladkém srážení) nebo dokud se nepřiblížíme k izoelektrickému bodu kaseinu (přídavkem kyseliny anebo činností mikroorganismů produkujících kyselinu mléčnou při srážení kyselým). Této vlastnosti se využívá při výrobě značného množství mléčných produktů. Kaseiny nejsou náchylné k denaturaci působením vyšších teplot, jelikož se vyskytují v primární struktuře [3,5].

1.1.2.2 Surovátkové bílkoviny

Po vysrážení kaseinu dochází ke vzniku syrovátky, jejíž součástí jsou syrovátkové bílkoviny (α -laktalbumin, β -laktoglobulin, sérový albumin, imunoglobuliny). Surovátkové bílkoviny jsou při pH 4,6 stále rozpustné tedy se nesráží. Taktéž se nesráží působením syřidla [3]. Surovátkové proteiny mají globulární strukturu. Díky disulfidovým vazbám tvoří řetězce s charakteristickým sférickým tvarem. Při porušení disulfidových vazeb vyššími teplotami dojde k denaturaci syrovátkových proteinů. Takový protein je schopný na sebe vázat více vody, a tím zlepšit strukturní a funkční vlastnosti určitých výrobků jako je například jogurt, u kterého je důležité, aby v průběhu skladování nedocházelo k velkému odlučování

syrovátky [3,5]. Konkrétně při teplotách nad 70 °C, kdy dojde ke ztrátě rozpustnosti a změně jejich vlastností. Syrovátkové bílkoviny mají vysokou nutriční hodnotu [4].

Syrovátkové bílkoviny:

- β -laktoglobulin
- α -laktalbumin
- Sérový albumin
- Imunoglobuliny

β -laktoglobulin je nejvíce zastoupenou syrovátkovou bílkovinou v kravském mléce. Denaturuje při teplotě 74 °C. Polypeptidový řetězec β -laktoglobulin se skládá ze 162 aminokyselin a jeho molekulová hmotnost je 18,277 kDa. Izoelektrický bod β -laktoglobulin je při pH 5,1 [5].

α -laktalbumin je druhým nejvíce zastoupeným syrovátkovým proteinem. Denaturuje při teplotě 80 °C. Polypeptidový řetězec α -laktalbumin se skládá ze 123 aminokyselin a jeho molekulová hmotnost je 14,186 kDa. Izoelektrický bod α -laktalbumin je v pH 5,8 [5].

Sérový albumin je fyzikálně a imunologicky shodný s albuminem krevní plazmy. Představuje jednoduchý polypeptid, který tvoří 582 aminokyselin s molekulovou hmotností 66,433 kDa. V mléku se vyskytuje ve velmi nízkých koncentracích [5].

Mezi syrovátkové bílkoviny se řadí také **imunoglobuliny**, které se vyskytují zejména v mlezivu (zajišťují přenos imunity z matky na mládě) a v mastitidním mléce při zánětlivých onemocněních dojnice. Mezi ostatní bílkoviny mléka řadíme enzymy, lipoproteiny, sérové albuminy, proteózo-peptony. Lipoproteiny jsou součástí ochranné vrstvy tukových kuliček. Sérové albuminy se stejně jako imunoglobuliny vyskytují v mléce ve zvýšeném množství při zánětlivých onemocnění [3].

1.1.3 Mléčný cukr

Hlavním a nejvíce zastoupeným cukrem v mléce je laktóza. Laktóza je disacharid tvořený galaktózou a glukózou, které jsou propojeny glykosidickou vazbou. Laktóza slouží jako zdroj energie pro mládě a dává mléku jeho typickou nasládlou chuť. Při srážení mléka největší část laktóza přechází do syrovátky [8].

Pro bakterie mléčného kvašení (BMK) je laktóza hlavním zdrojem uhlíku. BMK produkují enzym laktáza, který dokáže štěpit glykosidickou vazbu laktózy za vzniku jednotlivých

monosacharidů (galaktózy a glukózy), které jsou následnými reakcemi BMK přeměňovány na kyselinu mléčnou, která dává kysaným mléčným výrobkům (KMV) charakteristickou nakyslou chuť a krémovou konzistenci. Díky přeměně laktózy na kyselinu mléčnou mohou kysané mléčné výrobky konzumovat i lidé s deficiencí laktázy [3,9].

1.1.3.1 Laktózová intolerance

Laktáza je enzym produkovaný v tenkém střevě lidského těla. Tento enzym je potřebný k rozštěpení laktózy na příslušné monosacharidové jednotky, které jsou následně resorbovány z tenkého střeva do krve. Pokud dojde ke snížení nebo úplnému vymizení produkce tohoto enzymu dochází k laktózové intoleranci [10]. Klinickými projevy intolerance na laktózu jsou nadýmání, kyselé vodnaté průjmy, plynatost, bolesti hlavy a svalů. Nadýmání je způsobeno fermentací laktózy střevními bakteriemi, za vzniku plynů a mastných kyselin s krátkým řetězcem [11]. V dospělosti trpí intolerancí na laktózu okolo 75 % světové populace, z toho nejvíce postižení jsou obyvatelé Asie a Afriky [12]. Mlékárenský průmysl reagoval na laktózovou intoleranci zavedením výrobků s nízkým obsahem laktózy (jako například fermentované mléčné výrobky) a bezlaktózovými výrobky (delaktózované). Laktóza se odstraňuje buď fyzikálně pomocí membránové technologie, nebo přímou enzymatickou hydrolyzou [13].

Dalším problémem při konzumaci mléka může být alergie na kravské mléko, což je imunologicky zprostředkovaná reakce na proteiny kravského mléka. Tato alergie postihuje gastrointestinální trakt, kůži, dýchací trakt a může způsobit až systémovou anafylaxi [16].

1.1.4 Minerální látky a vitamíny

Mléko obsahuje minerální látky, které mohou být přítomny v podobě anorganických solí a iontů, nebo jako součást organických sloučenin (tuky, sacharidy a bílkoviny). Minerální látky se do mléka dostávají přechodem z krve dojnice. Jednotlivé zastoupení solí v mléce má vliv na zpracování mléka, ovlivňují totiž stabilitu proteinů.

Největší procento v mléce tvoří makroprvky (Ca, P, K, Cl, Mg a Na), které jsou považovány za esenciální ve výživě člověka. Například vápník je důležitou součástí zubů a kostí. Při intoleranci na laktózu může dojít k nedostatečnému příjmu vápníku, což může vést k nemoci zvané osteoporóza (poškození kostní hmoty a následné řídnutí kostí). Koloidní fosforečnan vápenatý hraje důležitou roli ve struktuře a stabilitě kaseinové micely. Fosforečnan vápenatý se při fyziologickém pH mléka nachází částečně v rozpustné formě a částečně ve formě

nerozpustné, kdy je ve formě koloidu navázaný na micelu kaseinu. V mléce se nachází také pestrá škála stopových prvků (Cu, Fe, Mn, Co, Se, Zn, Cr, I, F, Mo, As, Ni, B a Si), které jsou taktéž esenciální pro člověka [5,9,14,15].

Mléko je zdrojem vitamínů rozpustných ve vodě i v tucích. Obsahuje vitaminy skupiny B především B₁ a B₂ (riboflavin), jehož bohatým zdrojem jsou mléko a sýry. Riboflavin také přispívá ke zbarvení mléka. Jeho nejdůležitější biologicky aktivní formy jsou flavinadenindinukleotid a flavinmononukleotid. Dále je v mléce obsažen vitamin A, který podporuje normální funkci zraku. V malém množství je zde zastoupen také vitamin D, který reguluje funkci vápníku v těle. Mezi nejvíce zastoupené vitaminy patří vitamin C, ten se však v mléce v porovnání s rostlinnými variantami vyskytuje v malém množství. Vliv na obsah vitamínu má roční období a výživa dojnic. Vitaminy jsou poměrně náchylné a může docházet k jejich ztrátám například při nešetrném tepelném ošetření, dlouhodobém skladování nebo při zpracování mléka [3,4,5,17].

1.1.5 Enzymy

Enzymy se řadí mezi proteiny a do mléka se dostávají nejen z krve dojnic (endogenní enzymy), ale také činností mikroorganismů (exogenní enzymy). Enzym může být složen pouze z bílkoviny nebo na bílkovinu může být navázána nízkomolekulární nebílkovinná molekula (kofaktor). Bílkovinná část enzymu je tvořena monomerními nebo oligomerními globulárními bílkovinami. Reakce enzymů jsou velmi specifické a závisí především na teplotě a pH prostředí. Při teplotách nad 70 °C dochází k inaktivaci některých méně odolných enzymů (laktoperoxidáza, kataláza, alkalická fosfatáza). Mezi důležité enzymy mléka patří laktoperoxidáza, kataláza, fosfatáza, lipáza, proteáza a amyláza [4,5], které jsou popsány dále.

Alkalická fosfatáza je endogenní enzym vyskytující se v mléce [10]. Alkalická fosfatáza štěpí určité estery kyseliny fosforečné na kyselinu fosforečnou a odpovídající alkoholy. Alkalická fosfatáza je inaktivována při pasterační teplotě 72 °C po dobu 15–20 sekund, díky čemuž je průkaz aktivity tohoto enzymu používán jako velmi rychlý a efektivní průkaz správně provedené šetrné pasterace [3].

Laktoperoxidáza je prvním enzym, který byl v mléce objeven. Tento enzym katalyzuje rozštěpení peroxidu vodíku, působí antimikrobiálně a má také technologický význam. Laktoperoxidáza je více odolná vůči tepelnému záhřevu nežli alkalická fosfatáza. K její inaktivaci dochází při záhřevu mléka na teplotu 75 °C po dobu 30 minut nebo při záhřevu

na 80 °C po 30 sekundách. Na základě její aktivity je tedy stanovena správnost provedení vysoké pasterace [5].

Kataláza byl jeden z prvních enzymů, který byl v mléce prokázán. Zapříčiňuje rozklad peroxidu vodíku na vodu a kyslík. Také v mléce přeměňuje dusitany na dusičnany [18]. Mléko s vysokým obsahem katalasy pochází od dojnice se zánětem vemene (detekce mastitidy). Mléko zdravé dojnice obsahuje pouze nepatrné množství tohoto enzymu. K inaktivaci katalázy dochází při teplotě 75 °C s dobou působení 60 sekund [3].

Lipáza je enzym štěpící tuk na glycerol a volné mastné kyseliny. Přebytek volných mastných kyselin v mléce má za následek jeho žluknutí. Tento enzym je poměrně stabilní i při vyšších pasteračních teplotách [3].

1.1.6 Voda

Voda tvoří majoritní složku mléka a slouží hlavně jako rozpouštědlo všech složek které mléko obsahuje. Kravské mléko obsahuje 85–87 % vody. Voda se v mléce nachází volná nebo chemicky vázaná na některé jeho složky. Volnou vodu lze z mléka odstranit odpařováním nebo sušením [5]. Obsah vody je důležitý zejména u mléčných výrobků, kde ovlivňuje především jejich fyzikálně-chemické a mechanické vlastnosti. S obsahem vody ve výrobcích je také spojena aktivita vody, která je úzce spjatá s mikrobiální stabilitou mléčných výrobků [4].

2 MLÉKÁRENSKÉ KULTURY VYUŽÍVANÉ PŘI VÝROBĚ FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH NÁPOJŮ

2.1 Bakterie mléčného kvašení

Na začátku 20. století byl položen základ dnešní klasifikace BMK prof. Orla-Jensenem, který tuto skupinu bakterií poprvé popsal a získal za svou práci Nobelovu cenu. Jako kritéria pro klasifikaci použil morfologii buněk, teplotní rozmezí růstu, způsob fermentace glukosy a rozmanitost fermentovaných sacharidů, tyto kritéria pro klasifikaci se používají doposud. Původně byly uváděny pouze čtyři rody, které odpovídaly zmíněnému popisu (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*), tento počet však časem rozrostl na základě znalostí o vlastnostech BMK, včetně molekulárně biologické charakteristiky. BMK lze obecně charakterizovat jako gram-pozitivní, nesporulující, katalasa-negativní koky nebo tyčinky postrádající cytochromy, anaerobní, ale aerotolerantní, náročné na prostředí a dostupnost živin, acidotolerantní, striktně fermentativní. Jako hlavní produkt fermentace sacharidů produkují kyselinu mléčnou. BMK vyžadují pro svůj růst prostředí bohaté na živiny, které jim neposkytuje pouze mléko, ale i maso nebo potraviny rostlinného původu. Takové prostředí musí obsahovat zkvasitelné sacharidy, vitaminy, nukleoidy, peptidy a aminokyseliny.

Řadě z nich můžeme také přisoudit probiotické vlastnosti, a to hlavně kmenům rodů *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus*. Některé rody však mohou být patogeny jak pro člověka, tak zvířata. BMK jsou přirozenou součástí gastrointestinálního traktu [19,20].

BMK se podle taxonomického rozdělení řadí do kmene *Firmicutes*, třídy *Bacilli* a řádu *Lactobacillales*. Kam řadíme šest čeledí *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcaceae*, které obsahují rody *Aerococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Oenococcus*, *Weissella* a rody využívající se v potravinářství *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* a *Streptococcus*. Rody mezi sebou rozlišujeme podle toho, jaký mají tvar, jaký typ kyseliny mléčné produkují (L-, D-, DL-), jestli rostou při 10 °C nebo 45 °C, při koncentraci 6,5 nebo 18 % NaCl, nebo při pH 4,4 a 9,6 [19,20].

BMK mají tři hlavní funkce při výrobě potravin, a to funkci technologickou, protektivní a probiotickou [19].

- **Technologická funkce** BMK je spojená především s metabolismem sacharidů. Fermentace hexózu může probíhat po dvou metabolických drahách. U homofermentativních BMK probíhá glykolýza po Embden-Meyerhof-Parnasově dráze a jediným produktem by teoreticky měla být kyselina mléčná. U heterofermentativních BMK dochází ke glykolýze dle pentoso-fosfoketolasové dráhy, která poskytuje kromě kyseliny mléčné také CO₂, etanol nebo acetát. Důležitý je také metabolismus bílkovin a lipidů. Bílkoviny jsou rozštěpeny proteázami BMK na aminokyseliny. Proteolytický proces je důležitý pro rychlý růst bakterií a organoleptické vlastnosti potravin, kde byly BMK aplikovány. BMK nedisponují významnou lipolytickou aktivitou. Dochází k enzymové hydrolýze triacylglycerolů za vzniku volných mastných kyselin, které jsou dále přeměňovány na sensorické látky. Vybrané kmeny BMK jsou schopny syntetizovat texturně významné látky, jako jsou exopolysacharidy, které ovlivňují texturní vlastnosti FMV a chrání buňky BMK před bakteriofágy [19]. Homofermentativní BMK se běžně používají jako mléčné startovací kultury kvůli rychlejšímu dosažení a udržení nižšího pH díky čemuž mohou potlačovat růst škodlivých bakterií. Naproti tomu heterofermentativní BMK se v mléčných výrobcích uplatňují v menší míře, protože dosahují vyššího pH a produkují oxid uhličitý, který může způsobovat nadýmání obalu výrobku. Jejich výhodou však spočívá v produkci četných chuťových vedlejších produktů, které dodávají výrobku chuť a vůni [21].
- **Protektivní funkcí** je myšlena produkce organických kyselin, které účinně potlačují růst hnilobných bakterií, bakterií způsobujících alimentární onemocnění a růst toxinogenních mikroorganismů. Kromě organických kyselin BMK produkují také peroxid vodíku, enzymy (lysozym, peroxidáza), nízkomolekulární látky, mastné kyseliny, deriváty aminokyselin, peptidy a bakteriociny. Všechny tyto látky inhibují růst nežádoucích mikroorganismů. Mezi tradiční protektivní kmeny BMK řadíme *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (produkuje nisin), pediokoky (pediociny) a laktobacily (*Lactocaseibacillus rhamnosus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactocaseibacillus casei*) [19]. Také bylo zjištěno, že použití BMK může působit proti růstu *Escherichia coli* řadou mechanismů, jako jsou např. anti-*E. coli* metabolity, detoxikace enterotoxinů, prevence syntézy toxických aminů a jejich

adheze na tlusté střevo, čímž se zabrání jeho kolonizaci patogenními bakteriemi [20]. BMK vytvářejí také redukující látky, které zabraňují autooxidaci tuku. Dále produkují antibiotika, která potlačují vývin nežádoucí mikroflóry. BMK jsou schopny inhibice některých druhů salmonel a stafylokoků, a to snížením obsahu laktózy a hodnot pH a oxidoredukčního potenciálu, dále dochází k tvorbě speciální inhibiční látky antibiotické povahy jako nisin, acidofilin, lactocidin, acidin, lactolin aj. [22].

- Probiotika jsou definována jako živé mikroorganismy, které při konzumaci v dostatečném množství mají prokazatelně příznivý vliv na zdraví konzumenta, jelikož snižují pH v tlustém střevě a díky tomu potlačují růst negativních bakterií, snižují emise škodlivých plynů a zvyšují imunitu střev. Probiotický kmen musí být bezpečný, funkční a technologicky vhodný. Nejčastěji bývá studováno, jestli mikroorganismus přežije v gastrointestinálním traktu a jestli má zdravotní benefity pro konzumenta. Mléčné výrobky vytváří ochranné prostředí pro probiotika, stejně tak prebiotika, které napomáhají růstu mikroorganismů [23,24]. Prebiotika jsou zkrasitelné, nestravitelné sacharidy s různým počtem cukerných skupin od dvou po několik stovek (laktulóza, fruktooligosacharidy, rezistentní škrob atd.) [25].

2.2 Čisté mlékařské kultury

Čisté mlékařské kultury (ČMK) jsou vybrané účelově zaměřené druhy specifických mikroorganismů, využívané jako klíčové výrobní prostředky, které jsou aplikovány do suroviny předem zbavené všech nežádoucích mikroorganismů. Účelem ČMK je vyvolat a zajistit správný průběh výrobního procesu a dosáhnout žádoucí jakosti hotového výrobku. Kvalita konečného výrobku tak není závislá na složení přírodní mikroflóry syrového mléka [22].

Pojem ČMK není zcela výstižný, protože se nejedná o čisté kultury v pravém slova smyslu. ČMK jsou složeny ze známých a žádoucích druhů mikroorganismů, avšak ve směsné čisté kultuře může být obsaženo i několika kmenů mikroorganismů různých druhů bakterií mléčného kvašení nebo jiných žádoucích bakterií, kvasinek a plísní [22].

ČMK je možné dělit dle [26]:

1. Druhové a kmenové skladby na:

- Jednodruhové – každá kultura obsahuje pouze jeden čistý kmen kultury. Tyto kultury jsou význačné svou dlouhodobě neměnnou aktivitou a produkcí kyseliny mléčné. Nevýhodou těchto kultur je jejich náchylnost k napadení bakteriofágy. K vyhnutí se tomuto nebezpečí se využívají kmeny odolné vůči bakteriofágům a tyto kmeny se pravidelně mění. Riziko lze také snížit použitím lyofilizovaných kultur a hluboko zmrazených kultur, které jsou určeny k přímé inokulaci do výrobku, čímž se eliminují propagační stupně jako místa možné fágové kontaminace [22].
- Vícekmenové – obsahují definovanou směs ČMK (stejněho kmene), z nichž některé kmeny mají odlišné specifické vlastnosti.
- Směsné vícekmenové – nedefinovaná směs bakteriálních kmenů s různou specifitou. Jedná se o různé definované kmeny různých druhů. Směsné (vícekmenové) kultury se skládají ze dvou nebo i více kmenů buď stejného druhu nebo ze dvou či více druhů. Předností těchto kultur oproti monokulturám je menší citlivost k bakteriofágům. Při napadení jednoho kmene směsné kultury ČMK bakteriofágy převezme jeho funkci jiný kmen. Směsné kultury dodávají výrobkům plnější chuť a vůni. Nevýhodou těchto kultur je že při častějším přeočkování v kolísavé jakosti mléka se těžko udržuje jejich původní složení. Obvykle dochází k převaze jednoho kmene a u kultury složené z několika druhů se mění jejich poměrové zastoupení [22].
- Tradiční kultury – obsahují druhy a kmeny částečně nebo zcela neznámé.

2. Jejich funkce:

- Kysací – kysací funkce spočívá v tvorbě kyseliny mléčné účinkem bakterií ČMK, čímž vzniká kyselé prostředí [22]. Srážení bílkoviny (kaseinu) kyselinou nazýváme kyselé srážení. U fermentovaných výrobků je kyselé srážení zapříčiněno činností bakterií produkujících kyselinu mléčnou. Přítomná kyselina způsobí pokles pH a tím změnu prostředí kaseinových micel. V první řadě dojde k rozpuštění koloidního fosforečnanu vápenatého, který je přítomný v kaseinové micelle, a tím k vyvazování vápenatých iontů z pevné vnitřní vápnickové vazby. Při normálním pH mléka má molekula kaseinu pouze záporný náboj a díky tomu zůstávají molekuly odděleny (navzájem se odpuzují). Přidáním vodíkových iontů (kyselina) dojde k jejich absorpci molekulami kaseinů a některé z nich změni svůj náboj na kladný. Jakmile se kladný náboj proteinu rovná zápornému náboji, je celkový náboj

proteinu nulový. Molekuly bílkovin se již nadále neodpužují, ale přitahují a dochází ke vzniku velkých proteinových shluků (tzv. agregaci) a vzniku koagulátu. K tomuto dochází v izoelektrickém bodě kaseinů. Oba tyto jevy působení iniciují změnu v micelách. Praktická hodnota pro vysrážení kaseinu z mléka je pH 4,6 [3].

- Protektivní – protektivní funkce ČMK spočívá v tvorbě ochranných látek, kterými zabráňují rozvoji typických škůdců mléka a mléčných výrobků. Tuto funkci rozlišujeme podle druhu kultur. BMK a tvorba ochranných látek viz kapitola 2.1. Bakterie mléčného kvašení. ČMK zajišťují převahu a rychlý rozvoj BMK, které zabráňují vývinu a nepříznivému působení škodlivé mikroflóry mléka. Součástí ČMK jsou také kvasinky a plísňe, které stejně jako BMK mají ochrannou funkci. Kvasinky tvoří redukující látky, které zamezují oxidaci tuku a potlačují vývin některých plísňí, které by mohly být původcem enzymových vad výrobku. Pak kvasinky svou životní činností spotřebovávají organické kyseliny, čímž zvyšují pH výrobku a chrání ho tak proti chemickým vadám. Plísňe mají významný ochranný účinek hlavně při výrobě sýrů [22].
- Zrací – zrací funkce ČMK působí na mléčné výrobky chemickými změnami, změnami koloidního stavu a vytvářením žádoucí struktury. V průběhu zrání výrobků se vytváří jejich chuť, vůně, vzhled a konzistence [22]. Dochází také k biokonzervaci výrobku [26].
- Dietetická – dietetický účinek kysaných mléčných výrobků je zajištěn především bifidobakteriemi, některými ušlechtilými enterokoky (*E. faecium*) a laktobacily (*L. acidophilus*, *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *Lactocaseibacillus casei* a další). Nejvhodnější jsou vysoce aktivní kultury s intenzivní fyziologickou činností a takové, které tvoří polysacharidová pouzdra [27].

3. Optimální teploty růstu:

- Mlékařské kultury využívané pro výrobu fermentovaného mléka můžeme zařadit do mezofilní, termofilní a směsné (BMK a kvasinky nebo BMK a plísňe) kultury. Toto rozdělení je vytvořeno na základě jejich optimální růstové teploty [26].

- Mezofilní kultury rostou v teplotách kolem 26 až 32 °C, kultury jsou široce využívané ve výrobě fermentovaných mlék. Optimální teplota růstu mezofilních kultur se pohybuje v rozmezí 30–35 °C. Jsou však schopné růstu i při minimální teplotě okolo 10 °C a maximální asi 50 °C [3]. U fermentovaných mléčných výrobků se používají zejména rody *Lactococcus* a *Leuconostoc*. Laktokoky jsou grampozitivní, nepohyblivé, homofermentativní bakterie ve tvaru koku, které produkují L (+) kyselinu mléčnou [26]. Bakterie rodu *Leuconostoc* jsou grampozitivní, obligátně heterofermentativní koky. Jejich fermentačními produkty jsou zejména D (-) kyselina mléčná, etanol, oxid uhličitý a také mohou vytvářet kyselinu octovou. Mezofilní kultury se využívají například při výrobě podmáslí, zakysané smetany a kefiru [28].
- Termofilní kultury rostou při optimální teplotě kolem 37 až 44 °C, jsou velmi důležité a využívané ve výrobě fermentovaných mléčných výrobků. Mezi významné zástupce této kultury patří *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*. Obě tyto bakterie rostou při teplotě 45 °C, pokud však teplota klesne po 15 °C je jejich růst ukončen [26]. Termofilní kultury jsou používány především pro výrobu jogurtů, podmáslí, acidofilního mléka (*Lactobacillus acidophilus*) a celou škálu dalších produktů. Součástí této kultury bývají také bifidobakterie [28]. Kromě toho mají tyto kultury různou citlivost na osmotický stres a úroveň aktivity vody [26].

4. Druhu kysaného mléčného výrobku:

- Smetanová kultura
- Jogurtová kultura
- Acidofilní kultura
- Kefírová kultura
- Kultura s obsahem probiotických mikroorganismů [26]

3 FERMENTOVANÉ MLÉČNÉ NÁPOJE

Vyhláška č. 397/2016 Sb., v platném znění, definuje kysaný nebo zakysaný mléčný výrobek, jako mléčný výrobek získaný kysáním mléka, smetany, podmáslí, syrovátky nebo jejich směsi za použití mikroorganismů uvedených v příloze č. 1 této vyhlášky, tepelně neošetřený po kysacím procesu [2].

Codex Alimentarius definuje fermentované mléko jako mléčný výrobek získaný fermentací mléka nebo mléčných produktů u kterých došlo ke snížení pH působením vhodných mikroorganismů. Výsledkem je snížení pH s koagulací nebo bez koagulace. Startovací mikroorganismy musí být životaschopné, aktivní a hojné ve výrobku do data minimální trvanlivosti. Pokud je produkt po fermentaci tepelně opracován požadavek na životaschopné mikroorganismy neplatí [1].

Fermentované mléčné nápoje (FMN) jsou ve světě velmi oblíbené díky své trvanlivosti a dobré stravitelnosti, což má za následek jejich stále rostoucí spotřebu. V dávných dobách neměli lidé dostatečné znalosti o řízené fermentaci, proto vznikali kysané nápoje kvašením syrového mléka spontánní cestou, zejména pak bakteriemi, které tvořili přirozenou mikrofóru syrového mléka. Mohlo také docházet ke kysání, které bylo způsobeno sekundární kontaminací [29].

FMN řadíme do kategorie fermentovaných výrobků mezofilními bakteriemi. V této skupině najdeme široké množství produktů lišící se hlavně zemí původu a použitou zákysovou kulturou (kysaná mléka a kysané podmáslí). Další kategorií jsou FMN bakteriemi a kvasinkami, zde spadá kefir a kumys, které jsou mléčně a alkoholicky zkvašené [30].

Mezi nejznámější FMN patří jogurtové mléko, acidofilní mléko, kefir, kefirové mléko, kumys a (kyška). Fermentované mléčné nápoje mají lahodnou a osvěžující chuť díky přítomnosti kyseliny mléčné a CO₂ [29].

3.1 Výživové benefity

Kysané mléčné výrobky (KMV) obsahují všechny důležité složky obsažené v mléce. Jsou sytivé, ale i přes to nepřetěžují trávicí ústrojí, jelikož jsou snadno stravitelné. Příznivě stimulují trávicí sekreci. Díky sníženému obsahu laktózy jsou KMV vhodné pro lidi trpící intolerancí na laktózu, jak již bylo zmíněno v kapitole o mléčném cukru [29].

Do FMN a celkově do KMV se díky svým zdravotním přínosům přidávají probiotické bakterie, nejčastěji laktobacily a bifidobakterie. Potraviny obsahující probiotika a prebiotika

působí pozitivně na mikrobiální flóru střev spotřebitele, a tak zlepšují jeho zdraví. Existují vědecké důkazy, že udržování zdravé střevní mikroflóry může poskytnout ochranu proti gastrointestinálním poruchám včetně gastrointestinálních infekcí, zánětlivým onemocněním střev a dokonce rakoviny [25].

Mléko a mléčné výrobky poskytují nezbytné nutriční, funkční a fyziologické hodnoty pro udržení zdraví a pohody lidského těla. Na základě těchto skutečností jsou považovány za funkční potraviny. V Evropské unii zatím neexistuje žádná právní definice pojmu funkční potravina. Funkční potravinou se dá však nazvat každá potravina, která obsahuje biologicky aktivní sloučeniny zajišťující fyziologické funkce (antioxidační aktivita, snížení cholesterolu, imunitní modulace, snížení krevního tlaku). Mezi funkční potraviny patří také ty, které jsou obohaceny o probiotika a prebiotika [32]. Pojem „funkční potravina“ se vztahuje na potraviny s téměř léčivými vlastnostmi, které podporují zdraví spotřebitele [3].

Podle publikace Bakterie mléčného kvašení, probiotika a fermentované mléčné výrobky z roku 2019 je doporučována konzumace KMV všem populačním skupinám zejména pak dětem, těhotným a kojícím ženám, jelikož se jedná o bohatý zdroj kvalitních bílkovin, vápníku, vitamínů a probiotik. Každý by měl zkonsumovat alespoň jeden KMV denně [30].

3.2 Princip výroby fermentovaných mléčných nápojů

Výroba FMN se v mnohém neliší od výroby KMV. Principiálně jsou vyráběny kysáním mléka, smetany, podmáslí nebo jejich směsí za použití BMK. Velmi důležitým krokem pro výrobu KMV je výběr mléka se správnými vlastnostmi a složením, tak aby byly vytvořeny vhodné podmínky pro růst ČMK. Následujícími kroky jsou filtrace, deaerace, odstředování, standardizace a homogenizace mléka. Mléko také prochází tepelným ošetřením nejčastěji vysokou pasterací. Pasterované mléko je schlazeno a zaočkováno vhodnými ČMK pro vybraný druh KMV a ponecháno fermentaci [23].

3.2.1 Výběr mléka

Jakost KMV ovlivňuje především kvalita použitého mléka jako suroviny. Syrové mléko musí být čerstvé s normální chutí, vůní a chemickým složením, musí být prosté inhibičních látek, nemělo by také obsahovat bakteriofágy anebo bakterie, které by mohly bránit rozvoji BMK. Jednotlivé komponenty mléka a jejich vzájemný poměr ovlivňují růst BMK a také jejich fyziologickou činnost [29]. Mezi technologické požadavky patří dobrá kysací schopnost mléka [5]. Podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 nesmí

být celkový počet mikroorganismů v 1 ml syrového kravského mléka při 30 °C větší než 100 000 a somatické buňky nesmějí překročit počet 400 000 v 1 ml [31].

3.2.2 Filtrace

Cílem filtrace je odstranit mechanické nečistoty z mléka, které nebyly zachyceny v prvovýrobě [23]. K zachycení hrubých nečistot jsou využívány filtry zabudované v potrubí pro příjem mléka. K dalšímu odstranění nečistot slouží odstředivka [3].

3.2.3 Deaerace a dezodorace

Mléko použité na výrobu KMV by mělo mít nízký obsah vzduchu čehož je dosaženo deaerací. **Deaerace** je provedena vstříknutím teplého mléka do komory s nízkým vakuem. Pomocí deaerace dochází také ke zlepšení stability a viskozity výsledného produktu, zajištění kratší doby fermentace, zvýšení účinnosti homogenizátoru a sníží se rizika nápeků při tepelném ošetření mléka. Dále také dochází k odstranění těkavých pachů, tedy **dezodoraci** [3,23,32].

3.2.4 Odstředování mléka

K odstředování mléka dochází na talířové odstředivce, kde je odděleno odstředěné mléko a smetana díky odstředivé síle a rozdílné měrné hmotnosti tuku a mléčné plazmy. Tukové kuličky se shromažďují ve formě smetany (cca 40 % obsah tuku) u středu odstředivky, po obvodu se hromadí odstředěné mléko (cca 0,05 % obsahu tuku). Odstředivka zachycuje také částice s větší měrnou hmotností (nečistoty, mikroorganismy apod.), které se usazují ve formě odstředivkového kalu [23].

3.2.5 Standardizace a homogenizace

Dalším důležitým kokem při výrobě KMV je standardizace a homogenizace mléka. **Standardizace** je proces, kdy je smícháním určitého množství mléka a smetany získáno mléko o požadované tučnosti. Při standardizaci lze upravit množství tukuprosté sušiny. Pokud zvýšíme obsah tukuprosté sušiny dojde ke zvýšení pevnosti koagulátu a také ke snížení rizika oddělování syrovátky.

Cílem **homogenizace** je zmenšit velikost tukových kuliček, tak aby nedocházelo k oddělování smetany ve fermentačním tanku. Homogenizace je provedena při tlaku 20–25 MPa (vysokotlaká homogenizace) a optimální teplotě 60–75 °C. Druhá homogenizace se

provádí po fermentaci, čímž je zajištěno zvýšení stability výrobku během skladování [3,29,32].

3.2.6 Pasterace

Významným krokem je **tepelné ošetření** mléka, které zajišťuje nejen zničení nežádoucí mikroflóry a enzymů, ale také zlepšení technologických vlastností mléka pro výrobu KMV. Při použití vyššího záhřevu (vysoké pasterace - 138 až 150 °C po dobu 1 až 2 sekund) dojde k významné denaturaci sérových (syrovátkových) bílkovin, hlavně β -laktoglobulinu, který se propojuje s κ -kaseinem pomocí disulfidových můstků. Díky této reakci dochází k vyšší vaznosti vody, což snižuje vylučování syrovátky během skladování výrobku a zaručuje také vyšší viskozitu gelu. UHT ošetření není vhodné pro výrobu KMV, jelikož toto ošetření mléka vede k nižší viskozitě a vařivé chuti finálního výrobku. Po tepelném ošetření musí dojít k ochlazení mléka na teplotu vhodnou pro inokulaci vybraných mlékařských kultur [3,29,32,20].

3.2.7 Fermentace

Mléko je převedeno do fermentačního tanku a je inokulováno vhodnou startérovou kulturou BMK. V závislosti na typu použité kultury BMK vzniká při fermentaci CO_2 , kyselina octová, diacetyl, acetaldehyd a další látky, které dodávají výrobkům charakteristickou vůni a chuť. Pro tekuté KMV je vhodná kultura s tvorbou méně viskózního produktu. V současnosti většina výrobců využívá kultury lyofilizované nebo hluboko zmrazené, které mohou být přidány rovnou do fermentačního tanku. Při použití tekuté kultury je nutná příprava provozního zákysu, čímž je zvýšeno riziko kontaminace bakteriofágy. Dále je nutné dodržet očkovací dávku, jelikož vyšší dávky mohou mít za následek rychlejší koagulaci, příliš rychlé snížení kyselosti a intenzivní odlučování syrovátky. Zaočkované mléko je nutné promíchat, aby došlo k rovnoměrnému rozptýlení BMK. Při samotném zrání je však mléko ponecháno v klidu, aby nedocházelo k destabilizaci koagulátu. Ve fermentačním tanku probíhá tzv. kyselé srážení, kdy dochází k jemnému srážení bílkovin. Po dosažení vhodné konzistence a kyselosti koagulátu je zrání přerušeno ochlazením přibližně na 5 °C. Touto teplotou je zastaveno další snižování pH činností ČMK. Před chlazením se u tekutých KMV provádí druhá homogenizace při nižších tlacích, která zajistí jemnou konzistenci výrobků a stabilizaci vazby vody [3,29,32].

3.2.8 Skladování

KMV se skladují při teplotě 2–5 °C, při vyšších teplotách by mohlo dojít k překysání výrobku. Přeměna laktózy na kyselinu mléčnou zajistí konzervační účinek, snížením pH dochází k inhibici růstu nežádoucí mikroflóry a tím k prodloužení trvanlivosti výrobku [3,29]. Prodloužené trvanlivosti je dosaženo také aseptickou výrobou a aseptickým plněním výrobku do spotřebitelského obalu. Při vhodných podmínkách výroby je možno KMV skladovat po dobu až 4 týdnů. Pro prodloužení trvanlivosti až na několik měsíců může být použita i tzv. termizace (typ tepelného ošetření), tímto procesem, ale dochází k zahubení užitečné mikroflóry a tím i ke snížení dietetického účinku výrobku [23]. Podle vyhláška č. 397/2016 Sb. se termizací rozumí tepelné ošetření mléčných výrobků po ukončení kysacího procesu a před balením k potlačení nebo zastavení aktivity přítomné mléčné mikroflóry až do teploty 80 °C. KMV ošetřeny termizací se poté řadí do skupiny mléčných výrobků tepelně ošetřených po kysacím procesu. Po termizaci může být výrobek obohacen přídavkem mikroorganismů [2].

3.2.9 Další úpravy

Při výrobě KMV je možný také přídavek stabilizátorů, cukru, zahušťovadel, ovocných sirupů, dření, džemů nebo aromat a barviv, které jsou přidávány buď před fermentací nebo až do hotového výrobku. Mohou být přidávány také dochucující složky jako ořechy, káva, čokoláda a ovesné vločky. Stabilizátory a zahušťovadla jsou přidávány pro zlepšení výsledné konzistence výrobku, mohou například zabraňovat uvolňování syrovátky. Jedná se o látky, které na sebe navazují vodu (například škroby, želatina, karagenany, pektin a jiné). Ovocné sirupy nebo pyré mohou být však zdrojem kontaminace, proto se využívají sterilované složky [3,32,23].

3.3 Druhy fermentovaných mléčných nápojů

Na světě existuje velká spousta FMN nepřeberných chutí, vůní a konzistencí. V této kapitole jsou uvedeny pouze ty, které se běžně vyskytují v české tržní síti a ty které uvádí vyhláška č. 379/2016 Sb., v platném znění:

- Acidofilní mléko
- Kefír
- Kefírové mléko

- Kysané podmáslí
- Jogurtové mléko

3.3.1 Acidofilní mléko

Acidofilní mléko je podle vyhlášky č. 397/2016 Sb., v platném znění, zařazeno do kysaných nebo zakysaných mléčných výrobků, k jehož zakysání byl použit *Lactobacillus acidophilus* a další mezofilní, případně termofilní kultury BMK. Počet živých mikroorganismů v 1 g tohoto výrobku musí být 10^6 *L. acidophilus* [2].

Acidofilní mléko má vhodné složení bílkovin, vitamínů, lipidů, minerálů a mikroprvků. Díky fermentačnímu procesu dochází ke zlepšení nutriční hodnoty, k tvorbě nových funkčních sloučenin a k produkci základních vitamínů jako jsou vitamin B₁, B₂, B₆, B₁₂, A a E [21].

Charakteristika *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus se vyskytuje v gastrointestinálním traktu a pochvě lidí a zvířat. Po morfologické stránce se jedná o grampozitivní, nesporotvorné tyčinky se zaoblenými konci, které se vyskytují jednotlivě nebo v párech či krátkých řetězcích. *L. acidophilus* je homofermentativní BMK, která roste za anaerobních podmínek, některé mohou být fakultativně anaerobní a heterofermentativní. *L. acidophilus* produkuje organické kyseliny, diacetyl, amoniak a bakteriociny. Mnoho kmenů rodu *Lactobacillus* je přijímáno jako lidská probiotika. Jeho probiotické vlastnosti vyplývají z toho, že dokáže přilnout ke střevní flóře a nahradit tak patogenní bakterie.

L. acidophilus má mnoho zdravotních výhod snižuje biosyntézu cholesterolu, léčí gastrointestinální onemocnění (zácpa a průjem), je schopný konkurence vůči patogenním bakteriím, inhibuje střevní bakteriální enzymy, které přeměňují prekarcinogeny na aktivní karcinogeny a mají antimikrobiální působení proti *Helicobacter pylori*, *Candida albicans* a různým druhů plísní [33].

Výroba acidofilního mléka

Acidofilní mléko se vyrábí za použití kultury *Lactobacillus acidophilus* v kombinaci se smetanovým zákysem. Mléko je fermentováno a poté zraje při 38–40 °C, 4–6 hodin. Hotový výrobek se zchladí pod 10 °C, rozmíchá a plní do obalů [26].

Bylo prokázáno, že použitím kombinace probiotických kultur je dosaženo požadovaných vlastností u tohoto produktu [21]. U mléka, které je inokulováno pouze kulturou *L.*

acidophilus byly zjištěny technologické problémy. Po fermentaci až do doby spotřeby docházelo ke snižování jeho počtu, také dochází ke vzniku senzorických vad dlouhou dobou fermentace, k překonání tohoto trendu se část kultury *L. acidophilus* nahrazuje směsí *Streptococcus thermophilus* a *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus* [34].

Na výrobu acidofilního mléka se používá mléko, které je standardizováno a homogenizováno. Poté je tepelně ošetřeno při 95 °C po dobu 1 h nebo při 125 °C po dobu 15 min. Vysoké teplota je důležitá pro denaturaci proteinů a uvolnění peptidů, jelikož *L. acidophilus* má nízkou proteolytickou aktivitu. Vysokotepeelné ošetření mu poskytuje živiny, které jsou nezbytné pro jeho růst. Mléko je schlazeno na 37 °C a při této teplotě se udržuje 3–4 h, aby mohli vyklíčit případné spory poté se mléko opět tepelně ošetří. Po tepelném ošetření dochází k inokulaci kultury při 37 °C, naočkované mléko je fermentováno, dokud nedosáhne pH 5,5–6 což může trvat 18–24 h. Po fermentaci je produkt zchlazen na teplotu pod 7 °C, promíchán a přečerpán do zásobníků odkud je plněn do spotřebitelských obalů [34].

Sladké acidofilní mléko

V západních zemích se fermentované acidofilní mléko netěší velké oblibě, a tak byly učiněny pokusy přeměnit ho na produkt chutnější a přitažlivější pro spotřebitele. Jako výsledek těchto pokusů vzniklo sladké acidofilní mléko, které se vyrábí inokulací *L. acidophilus* do pasterovaného mléka o teplotě 5 °C, který při této teplotě neroste a ani není schopný snižovat jeho pH. V těchto podmínkách *L. acidophilus* udrží svou životaschopnost po dobu až 14 dnů [34].

3.3.2 Kefír

Kefír má svůj původ v kavkazských horách, kde se nechával fermentovat v pytlích vyrobených ze zvířecích kůží. V druhé polovině devatenáctého století se jeho výroba rozšířila do východní a střední Evropy a odtud do jiných částí světa. Ve značném množství se vyrábí v Polsku, Německu, Švédsku, Rumunsku a dalších zemích. Stále se vyrábí tradičním způsobem pod různými názvy jako např. kefer, kaiphur, knapon, kepi nebo kippi [35].

Kefír je podle vyhlášky č. 397/2016 Sb., v platném znění, zařazen do kysaných nebo zakysaných mléčných výrobků, jehož zákys je připravený z kefírových zrn nebo kefírové kultury, jehož mikroflóra se skládá z kvasinek zkvašujících i nezkvašujících laktózu a

mezofilních a termofilních BMK, rostoucí ve vzájemném společenství. Obsah mléčné mikroflóry v 1 g výrobku musí být 10^7 [2].

Konzistence kefiru by měla být viskózní a homogenní s lesklým vzhledem. Jeho chuť by měla být svěží a kyselá, s mírnou chutí kvasnic a šumivým pocitem v ústech. pH kefiru by se mělo pohybovat v rozmezí 4,3 – 4,4 [3]. Výsledná chuť, viskozita, mikrobiální a chemické složení mohou být ovlivněny množstvím inokula přidaného do mléka, rychlostí a teplotou fermentace, teplotou a dobou chlazení a zrání po fermentaci [36].

Kefírová zrna

Kefírová zrna díky svému nepravidelnému tvaru a nažloutlé barvě mohou připomínat růžičku kvěťáku (Obr. 1). Zrna jsou nerozpustná ve vodě i ve většině rozpouštědel, po namočení do mléka zrna nabobtnají a zbělají [3].



Obrázek 1 Kefírová zrna [54]

Obecně se kefirové zrno skládá z tuku, popela, mukopolysacharidů, bílkovin, vitamínu B a K, tryptofanu, vápníku, fosforu a hořčíku. Propojení mezi mikroorganismy v kefirových zrnech zajišťuje D-glukóza a D-galaktóza v komplexní struktuře polysacharidů jinak také kefiran [37]. Kefírová zrna jsou symbiotická společenství mikroorganismů a jejich mikrobiální složení se může lišit v závislosti na jejich zdroji [36].

Na povrchu kefirového zrna se nachází hlavně BMK. Uprostřed je potom kvasinková houba a různé druhy bakterií [3]. Rychlé zvýšení kyselosti během prvních hodin fermentace je způsobeno mezofilními homofermentativními mléčnými streptokoky (*Lactococcus*

cremoris a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*). Za charakteristickou chuť a vůni kefiru jsou zodpovědné především mezofilní heterofermentativní streptokoky (*Leuconostoc mesenteroides* a *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*). Kvasinky jsou zodpovědné za tvorbu CO₂ a alkoholu, také přispívají k vytvoření specifické chuti a vůni kefiru [35].

Výroba startovací kefirové kultury

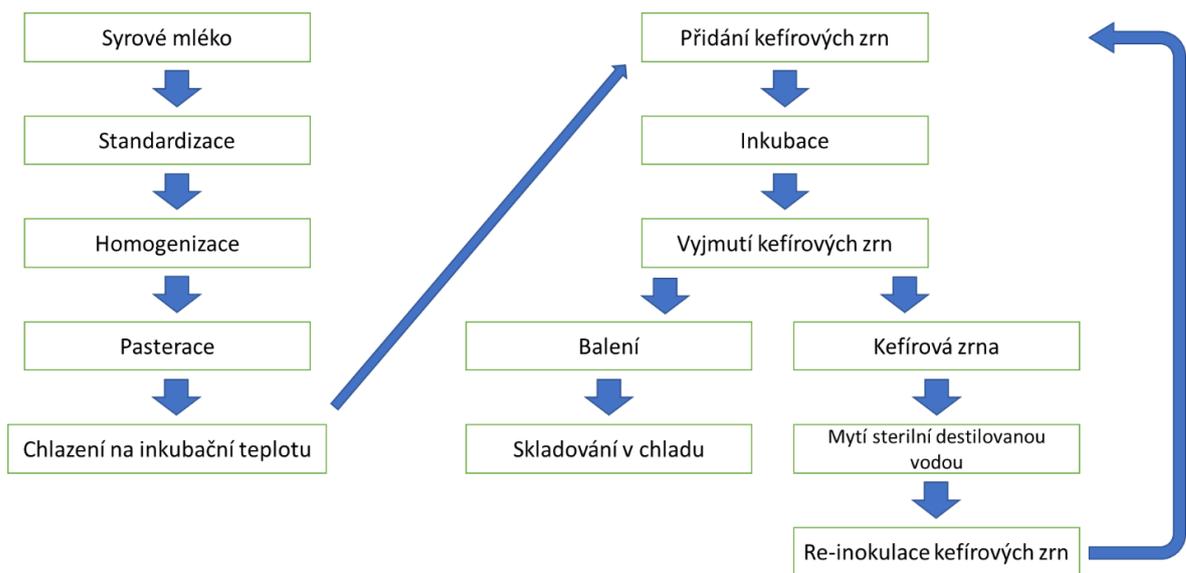
Prvním krokem je výroba startovací kefirové kultury, ta je běžně vyráběna z mléka o různém obsahu tuku, avšak v poslední době pro lepší kontrolu mikrobiálního složení kefirových zrn je využíváno mléko odstředěné a rekonstituované odstředěné mléko. Mléko využívané pro výrobu startovací kultury je důkladně tepelně zpracováno, aby došlo k inaktivaci bakteriofágů. Hlavním důvodem výroby startovací kefirové kultury je špatná manipulace a poměrně objemná velikost kefirových zrn, zatímco relativně malé objemy mateřské kultury se snadněji kontrolují. První fází výroby startovací kefirové kultury je inokulace kefirových zrn do upraveného mléka. Je inokulováno 3,5–5 % w/w kefirových zrn. Inkubace probíhá při teplotě 20 °C a trvá přibližně 20 hodin. Během fermentace se doporučuje přerušované míchání, jelikož kefirová zrna mají tendenci klesat ke dnu. Když je dosaženo požadované hodnoty pH (4,5) kultura je promíchána a přeceděna přes síto, takto je získána mateřská kultura. Kefirová zrna v sítu jsou promyta převařenou a vychladlou vodou a mohou být znovu použity k inokulaci nové mateřské kultury. V druhé fázi výroby je mateřská kultura buď ochlazená na cca 10 °C, pokud je nutné ji před použitím několik hodin skladovat nebo je okamžitě naočkována (3–5 % objemu substrátu) do předem upraveného mléka, které je určeno jako substrát pro předkrm. Předkrm je inkubován po dobu cca 20 hodin při 23 °C, takto nachystaný objemový startér je připraven k naočkování do kefirového mléka [3].

Výroba kefiru

- Standardizace
- Homogenizace
- Pasterace a chlazení
- Inokulace
- Fermentace
- Chlazení

- Balení

Obsah tuku v kefiru má široké rozpětí (0,5–6 %), jelikož je na jeho výrobu často využito syrové mléko s původním obsahem tuku. Nejčastěji je však mléko standardizováno na obsah tuku 2,5–3,5 %. Po standardizaci je mléko homogenizováno při teplotě 65–70 °C a tlaku 17,5–20 MPa. Dále následuje pasterace při 90–95 °C po dobu 5 minut. Po tepelném záhřevu je mléko ochlazeno na inokulační teplotu 23 °C a inokulováno 2–3 % startéru. Fermentační doba je rozdělena do dvou fází, a to na fázi okyselení a zrání. Fáze okyselení trvá do doby, než je dosaženo pH 4,5 což trvá přibližně 12 hodin. Koagulum je následně mícháno a chlazeno na 14–16 °C v této teplotě je míchání přerušeno. Typická chuť pro kefir se začne rozvíjet během následujících 12–14 hodin. Kefir se začne chladit na konečnou teplotu, jakmile dosáhne pH 4,4. produkt je ochlazen na teplotu 5–8 °C čímž se zastaví další snižování pH. Při chlazení a balení je důležité, aby se s kefirem zacházelo co nejopatrněji a nedocházelo k mechanickému míchání [3].



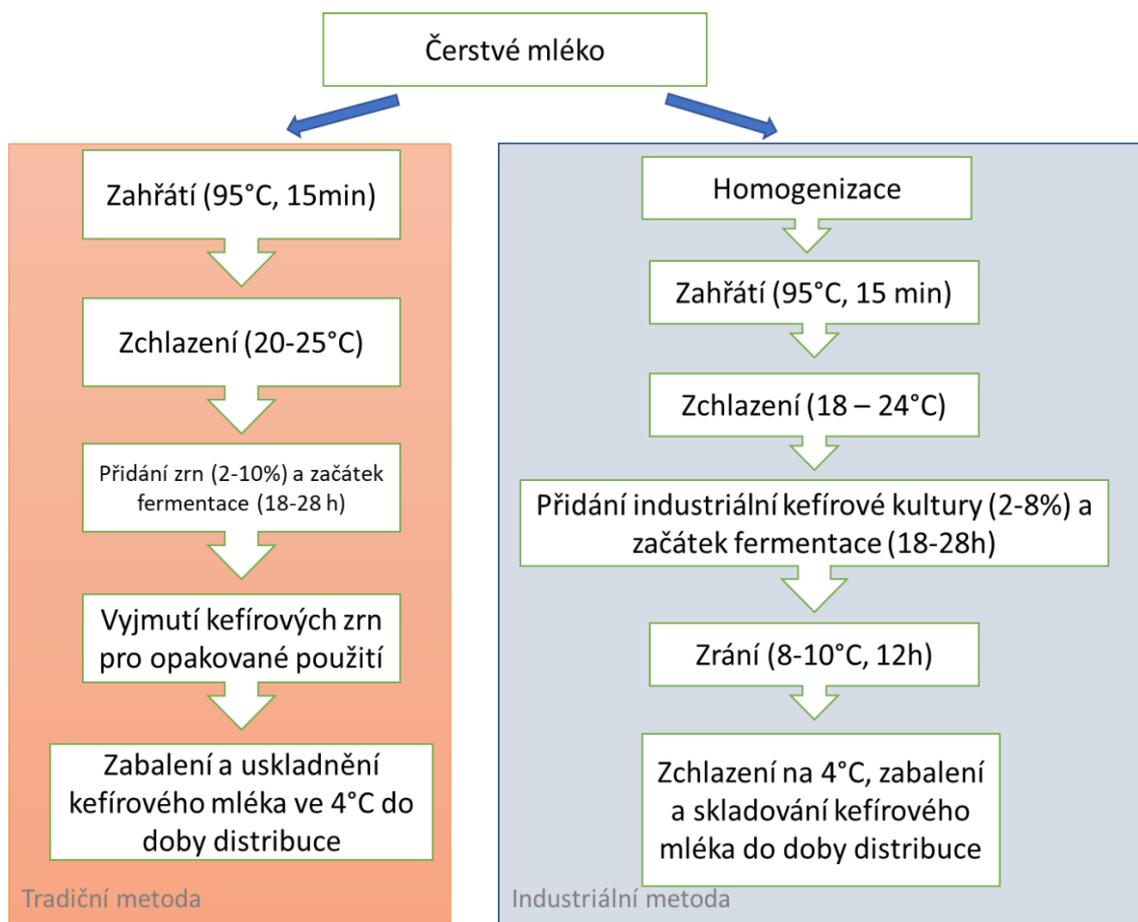
Obrázek 2 Schéma tradiční výroby kefiru [55]

3.3.3 Kefírové mléko

Kefírové mléko je typ výrobku, který není vyroben tradičním způsobem za použití kefirových zrn, ale mléko je inokulováno kefirovou lyofilizovanou kulturou [3].

Kefírové mléko je podle vyhlášky č. 397/2016 Sb., v platném znění, zařazeno do kysaných nebo zakysaných mléčných výrobků, jehož zákys se skládá z kvasinkových kultur a mezofilních a termofilních kultur BMK rostoucích ve vzájemné symbióze. V 1 g výrobku musí být obsaženo 10^6 BMK a 10^2 kvasinek [2].

Jak vyplívá z výroby kefiru tradiční příprava startéru je náročná, také složitost mikroflóry kefirových zrn občas způsobí nežádoucí výkyvy v kvalitě produktu. K vyhnutí se těmto problémům byla vytvořena lyofilizovaná koncentrovaná kefirová kultura. Ta vznikla po šetrném prozkoumání kefirových zrn získaných z různých zdrojů. Byly izolovány kmeny bakterií a kvasinek, které vytvářeli produkt srovnatelný s tradičním kefirem. S lyofilizovanou kulturou se snižuje počet fází procesu inokulace a tím také riziko infekce kultury např. bakteriofágy [3].



Obrázek 3 Schéma tradiční a industriální výroby kefiru [51]

3.3.4 Kysané podmásli

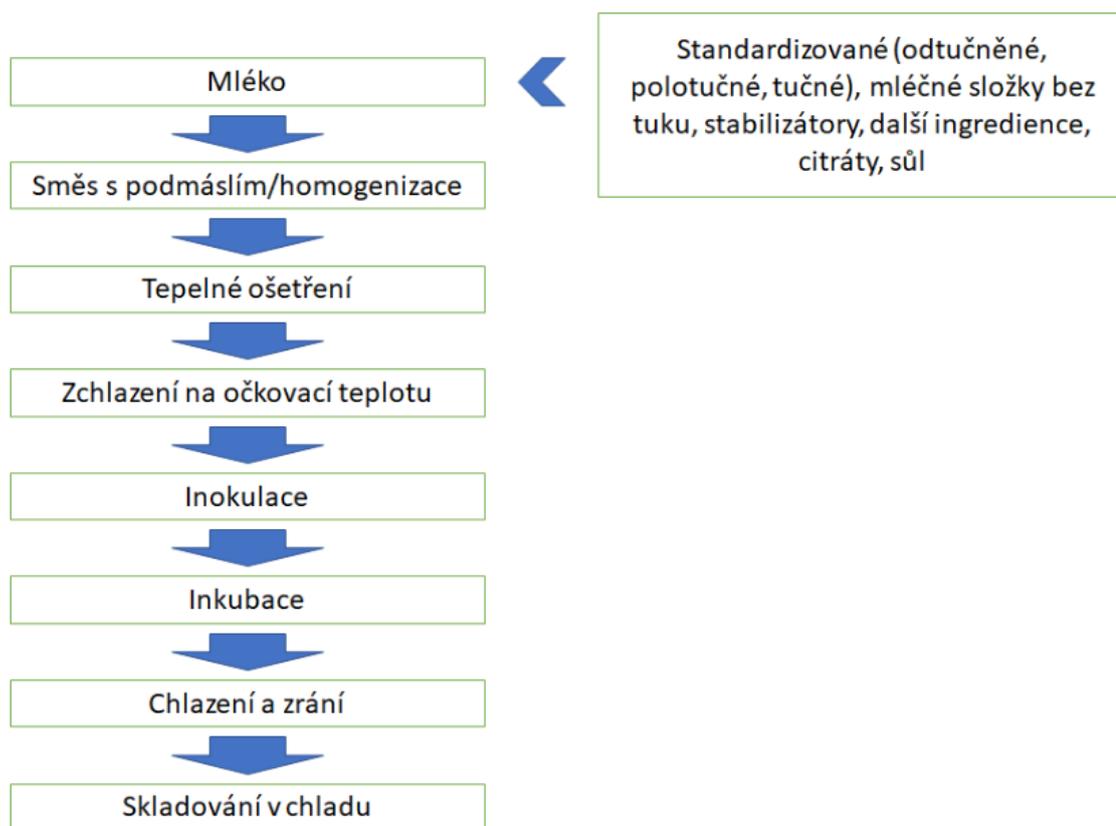
Kysané podmásli stejně jako kysané mléko, smetanový zákys, zakysaná smetana a kysané mléčné nápoje je podle vyhlášky č. 397/2016 Sb., v platném znění, zařazeno do kysaných nebo zakysaných mléčných výrobků, k jehož zakysání byly použity monokultury nebo směsné kultury bakterií mléčného kysání. Počet živých mikroorganismů v 1 g tohoto výrobku musí být 10^6 [2].

Samotné podmáslí je vedlejším produktem při výrobě másla. Obsah tuku v podmáslí je asi 0,5 % w/w. Obsahuje velké množství membránového materiálu a lecitinu. Membránový materiál snadno oxiduje, což má za následek nežádoucí změnu na chuti podmáslí a rychlou kazivost. Aby nedocházelo k rychlému kažení a k tvorbě nežádoucích příchutí, začalo se vyrábět kysané podmáslí [3].

Existuje několik typů podmáslí, podle vstupního produktu používaného pro výrobu másla - sladké podmáslí ze smetany a podmáslí získané ze zakysané smetany. Podmáslí se nepoužívá pouze na výrobu kysaného podmáslí, ale také se velké míře suší pomocí sprejových sušáren. Sušené podmáslí se potom přidává do jogurtů, kde zlepšuje jeho vlastnosti, jako je vaznost vody, čímž dochází ke zlepšení textury a výtěžnosti jogurtů. Sušené podmáslí se také přidává do pekařských výrobků, čokolády a sýrů [38].

Výroba kysaného podmáslí

Podmáslí se pasteruje při teplotách 85-88 °C po dobu 30 minut, poté se ochladí na 60 °C a homogenizuje se při 18-20 MPa. Podmáslí je následně ochlazen na 22 °C a inokuluje se smíšenou startovací kulturou přibližně 14-16 hodin. Fermentace je pozastavena, jakmile podmáslí dosáhne kyselosti 0,85-0,90 %. Výsledný produkt je důkladně promíchán a homogenizován (5-10 MPa) [26].



Obrázek 4 Schéma výroby kysaného podmáslí [56]

3.3.5 Jogurt a jogurtové mléko

Jogurt a jogurtové mléko je podle vyhlášky č. 397/2016 Sb., v platném znění, zařazeno do kysaných nebo zakysaných mléčných výrobků, k jejichž zakysání byla použita symbiotická směs *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Počet živých mikroorganismů v 1 g tohoto výrobku musí být 10^7 . U jogurtových výrobků mohou být kromě základní jogurtové kultury přidány kmeny produkující kyselinu mléčnou a pomáhající dotvářet specifickou chuťovou nebo texturní charakteristiku výrobku. Musí však být zachován optimální poměr obou základních kmenů jogurtové kultury [2].

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus*

Je charakterizován jako grampozitivní, nesporulující, kataláza pozitivní, mikroaerofilní, tyčinkovitá buňka. *L. bulgaricus* je jedním ze tří poddruhů *L. delbrueckii* subsp. Je přítomen v mléce a mléčných výrobcích. Řadí se do obligátně homofermentativní skupiny. Optimální teplota růstu *L. bulgaricus* je 45 °C [34].

Streptococcus thermophilus

Je grampozitivní bakterie kulovitěho tvaru s optimální teplotou růstu 37 °C. Některé metabolické aktivity, jako je produkce polysacharidů nebo syntéza acetaldehydu mohou probíhat při různých teplotách. Jeho růst se však zastaví při 10 °C [34].

Jogurt je nejznámějším fermentovaným mléčným výrobkem na trhu. Konzistence, chuť a vůně jogurtu se v jednotlivých zemích liší. Podle způsobu výroby se jogurty dělí na jogurty s rozmíchaným koagulátem (Stirred type), jogurty s nerozmíchaným koagulátem (Set type) a jogurtové mléko. Jogurt s rozmíchaným koagulátem se vyrábí fermentací v tanku, ve kterém je promíchám a následně plněn do spotřebitelského obalu, výsledný jogurt má krémovou konzistenci. Jogurt s nerozmíchaným koagulátem se nechá fermentovat přímo ve spotřebitelském obalu, proto je jeho konzistence „tužší“ [3]. Pro výrobu jogurtů se využívá symbiotická smíšená kultura *L. bulgaricus* a *S. thermophilus*. Zmíněné mikroorganismy jsou ve výsledku zodpovědné za vytvoření typické jogurtové chuti a textury. Ačkoli mohou růst samostatně, bylo potvrzeno, že rychlost produkce kyseliny mléčné je vyšší, pokud se používají společně. Obecně se používá poměr 1:1 *S. thermophilus* k *L. bulgaricus*. Inokuluje se fermentační nádrže při teplotě 42 °C a tato teplota se udržuje po dobu 4-6 hodin bez míchání. Během prvních pár hodin *S. thermophilus* produkuje kyselinu mléčnou, oxid uhličitý a kyselinu mravenčí synergicky tak stimuluje *L. bulgaricus* k rychlejšímu růstu. Streptokoky snižují pH jogurtové směsi přibližně na 5 a až tehdy začíná růst *L. bulgaricus*, zatímco *S. thermophilus* je inhibován snižujícím se pH. Laktobacily způsobí další pokles pH na přibližně 4. Jogurtová směs se v průběhu fermentace sráží v důsledku poklesu pH. Po dosažení optimálního množství kyseliny mléčné (1,2-1,4 % w/w) dochází k ochlazení směsi ve fermentačním tanku a míchání, které zastaví fermentaci a metabolické aktivity mikroorganismů [34].

Jogurtové mléko je v podstatě tekutý jogurt s nižším obsahem tuku. Celkový obsah pevných částic u jogurtového mléka není vyšší než 11 % w/w, rozdíl je tedy zejména v obsahu sušiny. Jogurt určený k výrobě jogurtového mléka se vyrábí fermentací v tancích (Stirred type). Aby bylo jogurtové mléko stabilní a nedocházelo k rozdělování složek dochází k homogenizaci. Konečnou úpravou může, ale nemusí být tepelné ošetření koagulátu sloužící k prodloužení trvanlivosti [3,34]. Výrobky, které byly tepelně ošetřené po prokysání se dle vyhlášky č. 397/2016 Sb. neoznačují jako kysané mléčné výrobky [2].

Dalším FMN vyráběným z jogurtu je jogurtový nápoj. Konzistencí a počáteční výrobou je velmi podobný jogurtovému mléku, až na to že tekuté konzistence se dosahuje smícháním

jogurtu s vodou a následnou homogenizací. Před homogenizací může být přidán stabilizátor (např. pektin) [3]. Mezi jogurtové nápoje se řadí např. Ayran, který je oblíbený především v Turecku, Ázerbájdžánu, Bulharsku, Makedonii, Kazachstánu, Íránu a Kyrgyzstánu. Ayran je slaný nápoj, který se vyrábí smícháním jogurtu s vodou a přidáním soli [34].

4 TRENDY VE VÝROBĚ FERMNETOVANÝCH MLÉČNÝCH NÁPOJŮ

V posledních letech společnost projevuje vyšší zájem o funkční potraviny viz. kapitola 3.1. Výživové benefity. Tento zájem vzbudily zejména fermentované potraviny jako je kefir a kombucha, které disponují svými zdravotními přínosy [39]. Kombucha je v současnosti jedním z nejrychleji rostoucích nápojů na trhu v kategorii funkčních potravin a také jedním z nejoblíbenějších kvašených nápojů s nízkým obsahem alkoholu [44]. Mezi kefiry vzbudil velký zájem konkrétně voní kefir, a to především mezi spotřebiteli, kteří se stravují rostlině anebo mají alergii na mléčnou bílkovinu, nebo kteří trpí nesnášenlivostí laktózy [51].

4.1 Použití kombuchy při výrobě fermentovaných mléčných nápojů

Kombucha je nápoj vyrobený fermentací čaje pomocí symbiotické kultury bakterií a kvasinek, jinak SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) [42].

Tradičním substrátem pro výrobu kombuchy je extrakt ze zeleného nebo černého čaje slazený 5-8 % w/w sacharózy. Kromě tradičních čajových substrátů byly v různých studiích zkoumány možnosti použití alternativních substrátů jako je káva, kokosová voda, ovocné šťávy, mléčné výrobky a jiné [40].

Mikrobiologické složení SCOBY kultury je proměnlivé záleží na původu, teplotě, zeměpisné poloze a médiu použitého pro proces fermentace. Symbiotická kultura obsahuje v hojném počtu bakterie rodu *Acetobacter* a *Gluconobacter*. Kromě těchto bakterií jsou ve SCOBY kultuře zastoupeny také kvasinky, které enzymem invertáze hydrolyzují sacharózu na glukózu a fruktózu, přičemž cestou glykolýzy vzniká etanol. Bakterie *Gluconobacter* a *Acetobacter* používají glukózu k produkci kyseliny glukonové a etanolu, který přeměňují na kyselinu octovou. Etanol a kyselina octová inhibují růst patogenních bakterií v nápoji kombucha [42].

Během fermentace kombuchy mikroorganismy spotřebovávají sacharózu jako hlavní zdroj uhlíku, čajový extrakt poskytuje zdroj dusíku a za přítomnosti kyslíku SCOBY kultura produkuje organické kyseliny, oxid uhličitý a hustý celulózový plovoucí biofilm. Biofilm se během fermentace zvětšuje a vytváří vrstvy. Jeho funkcí je chránit kombuchu před vnějšími kontaminanty. Celulózový biofilm je produktem symbiotické a konkurenční interakce v ekosystému kvasinek a bakterií [43]. Celulózová membrána nese také označení jako čajová houba, vzhledem k její podobnosti k houbovému klobouku. Celulózová membrána udržuje

mikroorganismy na povrchu a umožňuje dostatek kyslíku pro jejich vývoj, současně chrání mikroorganismy před UV zářením [42].

Standartní postup pro výrobu čaje kombucha je rozpuštění sacharózy ve vroucí vodě a následná přidání čajových lístků. Po extrakci jsou čajové lístky odstraněny filtrací a čaj je ochlazen na pokojovou teplotu a naočkován SCOBY kulturou. Růst nežádoucích mikroorganismů je inhibován přidáním už dříve fermentovaného čaje kombucha. Fermentace se provádí při pokojové teplotě a trvá 10-14 dní. Při fermentaci vzniká nová dceřiná kultura, která se vznáší na povrchu čaje, tvoří tenkou gelovou membránu. SCOBY kultura, kterou byl čaj naočkován, se potápí na dno nádoby, ve které je čaj fermentován. Po fermentaci se dceřiná kultura odstraní a uchovává v malém množství fermentovaného čaje pro další použití. Pro chuť výsledného nápoje je zásadní doba fermentace. S prodlužující dobou fermentace roste množství kyselin, které mohou představovat potencionální riziko [41].

Chemické složení kombuchy není zcela přesně popsáno a stále se studuje. Kombucha je však bohatá na organické kyseliny (octovou, glukonovou, glukuronovou, jablečnou, vinnou, pyrohroznovou, citrónovou a L-mléčnou kyselinu). Složení obsahuje také cukry (fruktózu, glukózu a sacharózu), vitamíny (B1, B2, B6, B12 a C), biogenní aminy, aminokyseliny, puriny, lipidy, některé hydrolytické enzymy, etanol, anionty, minerály a oxid uhlíku. Fenolové sloučeniny jsou jedny ze základních složek kombuchy, které jsou zodpovědné za její funkční vlastnosti [44].

Kombucha je podle *Kombucha Practice Code* definovaná jako tradiční nápoj získaný fermentací různých druhů čajových lístků, cukru, SCOBY kultury a startovací tekutiny, jehož výsledkem je kyselá, mírně sladká, šumivá tekutina s nízkým obsahem alkoholu a bez dodatečné tepelné úpravy po kvašení. Může být přidáno aroma [45].

Aplikace čaje „SCOBY” a kombuchy pro výrobu fermentovaných mléčných nápojů

Kruk a kol. zjistili, že k výrobě fermentovaných mléčných výrobků lze použít i jiné kultury než jen tradiční mikroorganismy. Takovou možnost představuje právě SCOBY kultura. Cílem studie bylo vyhodnotit použití čajového nápoje kombucha a SCOBY kultury pro výrobu fermentovaných mléčných nápojů. Bylo použito bezlaktózové mléko a tradiční mléko (UHT polotučné mléko). Výsledné fermentované mléčné nápoje měli charakteristickou hodnotu pH pro tento typ výrobku a mikrobiologickou kvalitu odpovídající pokynům FAO/WHO. Oba druhy mléka vykazovali typické senzoričné vlastnosti i přes

lehké sensorické vady. Mléko fermentované SCOBY kulturou a čajovým nápojem kombucha má potencionálně zdraví prospěšnou hodnotu, díky přítomnosti aktivní mikroflóry a organických kyselin [46].

Využití kombuchové kultury při výrobě fermentovaných mléčných nápojů

V této studii bylo smícháno mléko a bylinné čaje (šalvějový, ostružinový a zelený čaj) v poměru 60:40 a směs byla fermentována kombuchovou kulturou. Studie zkoumala aktivitu vychytávání radikálů 2,2-difenyl-1-pirilhydrazyl, celkový obsah fenolů, redukujících cukrů, mikrobiologické a sensorické vlastnosti fermentovaného mléčného nápoje. Nápoj ze zeleného čaje obsahoval nejmenší množství kyseliny octové a nejvyšší podíl fenolů na začátku a na konci doby skladování (30 dní). Mléčný nápoj s příměsí šalvěje obsahoval nejvyšší množství kyseliny glukuronové. Nejchutnějším nápojem byla směs ostružinového čaje a mléka, který měl také první den skladování nejvyšší aktivitu vychytávání radikálů [39].

Nápoje na bázi mléka získané aplikací kombuchy

Malbaša a kol. zkoumali výrobu FMN pomocí kultury kombucha. Kombucha pro tento výzkum byla vypěstována na třech substrátech (slazený černý a zelený čaj a odvar z topinambur). Ze vzniklého kombuchového nápoje byl vytvořen koncentrát, který byl aplikován do pasterovaného kravského mléka. Fermentace byla zastavena při pH 4,4. Jako kontrolní vzorek byl použit tradiční jogurtový startér. Výzkum se zabýval délkou fermentace, kdy koncentráty startérů kombucha byly aplikovány ve dvou koncentracích 10 % a 15 % w/w. Ukázalo se, že zvolená množství koncentráty neovlivňuje délku fermentace pravidelným způsobem. Chemický rozbor ukázal, že FMN vyrobený pomocí kombuchy obsahoval vyšší obsah sušiny ve srovnání se sušinou jogurtu. Viskozita nových produktů vykazovala vyšší míru kolísání (v závislosti na rychlosti míchání a době skladování) ve srovnání s jogurtem. Nové produkty jsou ve svých sensorických vlastnostech konkurenceschopné jogurtu. Při skladování nových produktů nedocházelo ke změně kyselosti a většina kvalitativních parametrů byla lepší než u jogurtu [47].

Výroba nápoje ze syrovátky pomocí „čajové houby“

Cílem této studie bylo otestovat tři druhy syrovátky (čerstvá sladká, čerstvá kyselá a rekonstituovaná sladká) pro přípravu fermentovaného nápoje s použitím kultury kombucha jako inokula. Byla pozorována rychlost změny spotřeby cukru, produkce kyseliny a snížení pH. Z různých kombuch bylo izolováno několik druhů bakterií octového kvašení spolu

s kvasinkami. Hlavními metabolickými produkty ve fermentované syrovátce byly etanol, kyselina mléčná a octová. Po 96 hodinách fermentace u sladkých syrovátek bylo dosaženo pH 3,3 a celkový obsah kyselin byl 0,07 mol/l. Fermentované nápoje ze sladké syrovátky obsahovaly relativně nízký obsah laktózy. Ve všech vzorcích syrovátky byl konečný obsah etanolu nízký. Syrovátkové produkty byly silně kyselé a neperlivé [48].

Kinetika fermentace laktózy v mléce s kombuchovým startérem

Kanurić a kol. zkoumali kinetiku transformace laktózy během fermentace mléka pomocí kombuchy, při pH 5,8; 5,4; 5,1; 4,8 a 4,6, při teplotách 37 °C a 42 °C. Při teplotě 42 °C trvala fermentace mléka mnohem kratší dobu v porovnání s fermentací při teplotě 37 °C. Vzorky byly vytvořeny z homogenizovaného a pasterovaného mléka a kombuchového inokula. Změny koncentrace laktózy při obou zvolených teplotách se skládají ze dvou zdržovacích fází a velmi strmého poklesu koncentrace mezi nimi. Tento výzkum ukázal komplexní kinetiku fermentace laktózy kombuchovým startérem při zvolené koncentraci substrátu [49].

4.2 Použití vodního kefiru při výrobě fermentovaných mléčných nápojů

Vodní kefir se vyrábí ze zrn vodního kefiru, která se jinak nazývají jako „Tibi krystaly“, „tibetská houba“, „zázvorová rostlina“ nebo „Tibics“. Výsledný nápoj je známý jako „vodní kefir“, „cukrový kefir“ nebo „acquakefir“ [50,51,52].

Zrna vodního kefiru se skládají z polysacharidové matrice (především dextran a menší množství levanu). V polysacharidové matici jsou přítomny mikroorganismy, které koexistují v symbiotickém vztahu. Zrna vodního kefiru svým vzhledem připomínají kamennou sůl, jsou rosolovitá a mají průsvitný vzhled, mohou být lehce nažloutlá až hnědá, s nepravidelnými tvary a velikostí v rozmezí od několika milimetrů do několika centimetrů. Mikroorganismy přítomné v polysacharidové matici jsou nejčastěji bakterie mléčného kvašení, bakterie kyseliny octové, kvasinky a někdy bifidobakterie [50,51,52].



Obrázek 5 Zrna mléčného kefiru a vodního kefiru [51]

Vodní kefir bývá velmi často zaměňován s mléčným kefirem, i když se jedná o různé symbiotické systémy. Nejdůležitějším rozdílem jsou rozdílné polysacharidové matrice. Také druhy mikroorganismů nalezené v obou druzích zrn nejsou stejné, což také přispívá k jejich rozdílným fermentačním podmínkám. Stejně jako u SCOBY kultury i tady je mikrobiologie kefirových zrn závislá na původu kultury a růstových postupech. Mikroorganismy nezbytné pro fermentaci vodního kefiru jsou *Lactocaseibacillus paracasei*, *Lb. casei*, *Lb. hilgardii*, *Lb. nagelii* a *Saccharomyces cerevisiae*. Kvasinky v zrnech vodního kefiru tvoří nesmírně různorodou skupinu, která se účastní na tvorbě prekurzorů vůně a chuti během fermentace a zrání [50,51,52].

Vodní kefir se vyrábí spontánní fermentací zrn vodního kefiru v sacharózovém médiu s přidávkou sušeného ovoce jako zdroje sacharidů nebo bez sušeného ovoce nebo ovocných extraktů. Fermentace probíhá při teplotě 21 °C až 30 °C po dobu 4 až 8 dnů. Po fermentaci se zrna přecedí a použijí se pro další fermentaci. Cukr je v procesu fermentace zdrojem uhlíku a čerstvé nebo sušené ovoce se přidává jako zdroj dusíku. Nejčastěji se používají sušené nebo čerstvé fíky. Výsledný nápoj je perlivý, mírně kyselý, ovocný, s vysokým obsahem kyseliny mléčné (do 2 % w/w) a nízkým obsahem alkoholu (méně než 1 % w/w). Ve výsledném vodním kefiru bylo identifikováno přibližně 30 různých sloučenin z nichž převažovali aromatické metylestery, které pocházejí z použitého ovoce [50,51,52].

Značné množství studií uvádí zdravotní a nutriční přínosy spojené s pravidelnou konzumací mléčného kefiru, avšak jen malé množství studií zkoumalo takovéto přínosy pro vodní kefir. Zdravotní výhody mléčného kefiru jsou především způsobeny jeho fermentačními účinky na mléko, a proto tyto výhody nelze aplikovat na vodní kefir. I přesto lze říci že je vodní

kefir zdrojem potencionálně prospěšných probiotických mikroorganismů. Skutečnost však naznačuje že díky podobnému typu mikroorganismů ve vodním kefiru a mléčném kefiru jsou také účinky a aktivity podobné. Například polysacharidy (dextran a levan) produkované BMK ze sacharózy mohou mít případné probiotické účinky. Potencionální přínosy spojené s konzumací vodního kefiru mohou být ovlivněny způsoby výroby a dále faktory jako je původ zrna, substrát, teplota a doba fermentace. Vodní kefir nelze také označit jako „zdravý nápoj“ jelikož i po fermentaci obsahuje zbytkový cukr, který má škodlivé účinky na zdraví konzumenta [52].

Výzkum zabývající se účinky kravského a kozího mléka jako fermentačního média na mikrobiální ekologii sladkých kefirových zrn je podstatný pro porozumění mechanismu tvorby a růstu kefirových zrn, jelikož zkoumá vztah mezi fermentačním médiem a kefirovými mikroorganismy. Cukrová kefirová zrna byla fermentována v hnědém cukru, kravském a kozím mléce. V tomto výzkumu byla identifikovány mikroorganismy přítomné ve zrnech i ve filtrátu a následně se vyhodnocovala jejich distribuce a dále byla pozorována struktura zrn. Ukázalo se, že došlo k význačným změnám v mikrobiálních profilech cukerných kefirových zrn a jejich filtrátům vzhledem k použitému médiu. Výzkum potvrdil že použité médium má vliv na velikost zrn. Mléko jako fermentační materiál může vést ke ztrátě kmenů produkujících polysacharidy, díky změnám v dostupnosti cukru, což má za následek, že cukrová kefirová zrna jsou menší v mléce než v hnědém cukru. Kmeny nalezené jak ve vzorcích hnědého cukru, tak ve vzorcích mléka *Leu. mesenteroides*, *S. cerevisiae* a *Z. fermentati*. Pouze ve vzorcích mléka byly pozorovány *B. psychraerophilum*, *Ec. faecalis*, *Lc. lactis* a *P. fermentans*. Cukrová kefirová zrna původně obsahují mnoho různých mikroorganismů, které jsou schopny se přizpůsobit různým prostředím během tvorby a růstu zrna. Distribuce kmenů během fermentace se tedy liší v závislosti na dostupnosti uhlíku a energie [53].

I když zrna mléčného kefiru a zrna vodního kefiru obsahují především BMK a kvasinky, existují rozdíly v druzích, které ovlivňují vlastnosti výsledného produktu. Při výzkumu byl zjištěn nízký obsah BMK při fermentaci ovocných šťáv mléčným kefirem. Nízký obsah BMK způsobuje nízkou probiotickou hodnotu a potvrzuje že zrna mléčného kefiru vyžadují konkrétní růstové médium na bázi mléka nebo syrovátky. Zrna vodního kefiru zase vyžadují médium na bázi zeleniny/ovoce/obiloviny s dostatkem fermentovatelné sacharózy nebo fruktózy [51].

ZÁVĚR

Během pandemie COVID-19 stoupla poptávka po přírodních produktech, které potenciálně zlepšují zdraví spotřebitele. Lidé objevili výhody fermentovaných výrobků, jako je mléčný a vodní kefir a kombucha [50]. Mléko a mléčné výrobky poskytují nezbytné nutriční, funkční a fyziologické hodnoty pro udržení zdraví a pohody lidského těla, díky těmto skutečnostem jsou kysané mléčné výrobky považovány za funkční potraviny [32]. Funkční potravina může díky svým specifickým vlastnostem přispívat ke snížení výskytu onemocnění a zlepšit kvalitu života [46].

Je známo mnoho druhů fermentovaných mléčných nápojů, které pochází z různých částí světa a jsou vyráběné jako domácí produkty získané aplikací různých kombinací původních mikroorganismů, jejichž celkové metabolické aktivity nebyly doposud zcela vysvětleny. Jedná se například o kumiss, cieddu, busa, taette a dadhi [47]. Sortiment fermentovaných mléčných nápojů na trhu zahrnuje především jogurtové mléko, kefir a kefirové mléko, acidofilní mléko a kysané podmásli [46].

Byly také provedeny výzkumy, které prokázaly, že kvašené nápoje lze vyrábět aplikací kultury kombucha do kravského mléka. Tyto výzkumy se však shodují, že před návrhem výroby nových nápojů ve větším měřítku je potřeba provést další výzkumy a testování. Zejména testování zaměřující se na charakterizaci funkčních vlastností vyvinutých nápojů, na jejich zdravotní přínosy, sensorickou kvalitu a dále je třeba u nápojů na bázi mléka získaných aplikací kombuchy optimalizovat výrobní náklady [46,47].

Závěrem lze napsat, že se na trhu nachází nepřeborné množství KMV a každý spotřebitel si tak může vybrat produkt dle svých preferencí, který bude nejlépe vyhovovat jeho požadavkům z hlediska sensorického či ekonomického.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] *Milk and milk products*, 2011. 2nd ed. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Codex alimentarius. ISBN 978-92-5-105837-4.
- [2] ČESKO. § 2 písm. a) vyhlášky č. 397/2016 Sb., o požadavcích na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje – znění od 1. 1. 2020. In: *Zákony pro lidi.cz* [online]. © AION CS 2010-2022 [cit. 15. 3. 2022]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-397#p2-1-a>
- [3] BYLUND, Gösta, 2015. *Dairy processing handbook*. Lund: Tetra Pak, 482 s.
- [4] SPREER, Edgar a Axel MIXA, [1998]. *Milk and dairy product technology*. New York: M. Dekker, 1 online zdroj. Food science and technology. ISBN 9781351431354. Dostupné také z: <https://proxy.k.utb.cz/login?url=https://www.taylorfrancis.com/books/9781351431361>
- [5] ŠNIRC, Július, Jozef GOLIAN, Karol HERIAN, František BUŇKA, Leona BUŇKOVÁ a Margita ČANIGOVÁ. *Mlieko a mliečne výrobky*. I. diel, Štruktúra, bioaktívne zložky a spracovanie mlieka. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2015, 221 s. ISBN 9788055213118.
- [6] TEPLÝ, Miloš, Arthur MAYER a A. A. SOKOLOV, 1981. *Technologie mléčných výrobků*. Praha: SNTL.
- [7] ŠUSTOVÁ, Květoslava, Jan KUČTÍK a Libor KALHOTKA, 2016. Vliv zvýšeného počtu somatických buněk na kvalitu mléka. *Mlékařské listy* 154 [online]. (1), 13-16 [cit. 2023-04-28]. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2016/154-155/veda_154_1316.pdf
- [8] THOMPSON, Abby, Mike BOLAND a Harjinder SINGH, ed. *Milk proteins: from expression to food*. Second edition. San Diego, California: Academic Press, [2014]. Food science and technology international series. ISBN 9780124051713. Dostupné také z: <https://proxy.k.utb.cz/login?url=http://www.sciencedirect.com/science/book/9780124051713>
- [9] PARK, Young W. a George F. W. HAENLEIN, 2013. *Milk and dairy products in human nutrition: production, composition, and health*. Chichester, West Sussex, UK: John Wiley. ISBN 9781118534168.

- [10] Legarová, V. a Kouřimská, L. 2011. Methods of Monitoring Lactose and Other Metabolites in Whey Fermentation. *Chemické listy*. 105, 11 (pro. 2011).
- [11] BAJEROVÁ, Kateřina, 2018. Laktózová intolerance – praktický přístup. *PEDIATRIE PRO PRAXI*. Brno: Klinika interní geriatrická a praktického lékařství, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno TriannyMed, s.r.o, 139–141.
- [12] SOLOMONS, N., 2002. Fermentation, fermented foods and lactose intolerance. *European Journal of Clinical Nutrition* [online]. 56(S4), S50-S55 [cit. 2022-03-06]. ISSN 0954-3007. Dostupné z: doi:10.1038/sj.ejcn.1601663
- [13] KANEKANIAN, A., ed., 2014. *Milk and Dairy Products as Functional Foods* [online]. Chichester, UK: John Wiley [cit. 2022-03-18]. ISBN 9781118635056. Dostupné z: doi:10.1002/9781118635056
- [14] NAVRÁTILOVÁ, P. et al. *Hygiena produkce mléka*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 129 s. ISBN 978-80-7305-625-4. Dostupné také z: <https://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/Navratilova-skripta-web.pdf>
- [15] RACHNER, Tilman D, Sundeep KHOSLA a Lorenz C HOFBAUER, 2011. Osteoporosis: now and the future. *The Lancet* [online]. 377(9773), 1276-1287 [cit. 2023-05-12]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(10)62349-5
- [16] BAHNA, Sami L., 2002. Cow's milk allergy versus cow milk intolerance. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* [online]. 89(6), 56-60 [cit. 2023-05-12]. ISSN 10811206. Dostupné z: doi:10.1016/S1081-1206(10)62124-2
- [17] POWERS, Hilary J, 2003. Riboflavin (vitamin B-2) and health. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. 77(6), 1352-1360 [cit. 2023-05-12]. ISSN 00029165. Dostupné z: doi:10.1093/ajcn/77.6.1352
- [18] ŠUSTOVÁ, K., M. POLÁČKOVÁ a J. KUČTÍK, 2015. Možnosti detekce mastitid měřením enzymatické aktivity. *Mlékařské listy č. 149* [online]. 2015(149) [cit. 2021-12-27]. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2015/149_i-vii.pdf
- [19] HORÁČKOVÁ, CSC, Ing. Šárka. Metabolismus a význam bakterií mléčného kvašení ve fermentovaných mléčných výrobcích. *Mlékařské listy 170, Vol. 29, No. 5* [online]. VŠCHT Praha [cit. 2022-01-27]. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2018/170-171/veda_170-s.22-24.pdf

- [20] SHIBY, V. K. a H. N. MISHRA, 2013. Fermented Milks and Milk Products as Functional Foods—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 53(5), 482-496 [cit. 2023-05-12]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2010.547398
- [21] FARAG, Mohamed A., Enas A. EL HAWARY a Moamen M. ELMASSRY, 2020. Rediscovering acidophilus milk, its quality characteristics, manufacturing methods, flavor chemistry and nutritional value. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 60(18), 3024-3041 [cit. 2023-05-12]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2019.1675584
- [22] ČERMÍNOVÁ, Naďa, 1984. Čisté mlékařské kultury: výroba, kontrola, použití. Praha: SNTL, 295 s.
- [23] ŠUSTOVÁ, Květoslava a Vladimír SÝKORA, 2013. *Mlékárenské technologie*. V Brně: Mendelova univerzita. ISBN 9788073757045.
- [24] HORÁČKOVÁ, Šárka, Kateřina ŽALUDOVÁ a Milada PLOCKOVÁ. Výběr bakterií mléčného kvašení s probiotickými vlastnostmi. *Mlékařské listy č. 123* [online]. VŠCHT Praha [cit. 2022-01-27]. Dostupné z: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2010/123_s_iv-vii.pdf
- [25] SAARELA, Maria et al., 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology* [online]. 84(3), 197-215 [cit. 2023-05-12]. ISSN 01681656. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1656(00)00375-8
- [26] CHANDAN Ramesh C. Kilara, Arun SHAH, P. Nagendra, 2016. Cultured Milk and Yogurt. *Dairy Processing and Quality Assurance (2nd Edition)* [online]. Druhé. John Wiley, s. 235-265 [cit. 2022-03-22]. ISBN 978-1-5231-1861-8. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011NBSJC/dairy-processing-quality/cultured-m-introduction>
- [27] MAXA, Věroslav a Vojtěch RADA, 1996. *Význam bifidobakterií a bakterií mléčného kvašení pro výživu a zdraví*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 42 s. ISBN 8085120577.
- [28] SURONO, S. a A. HOSONO, 2011. Fermented Milks | *Starter Cultures*. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* [online]. Elsevier, s. 477-482 [cit. 2023-05-12]. ISBN 9780123744074. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-374407-4.00181-3

- [29] HYL MAR, Bohumil, 1986. *Výroba kysaných mléčných výrobků*. Praha: SNTL, 209 s. Technika a technologie potravinářského průmyslu.
- [30] *Bakterie mléčného kvašení, probiotika a fermentované mléčné výrobky*, 2019. 2. vydání. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny. ISBN 978-80-88019-37-4.
- [31] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví specifické hygienické předpisy pro potraviny živočišného původu, In.: *Úřední věstník Evropské unie L 139 ze dne 30.4.2004*. Lucemburk: Úřad pro úřední tisky Evropských společenství, 2004-. S. 55. ISSN 1725-5163.
- [32] PUNIYA, Anil Kumar, ed., 2015. *Fermented Milk and Dairy Products* [online]. CRC Press [cit. 2022-03-26]. ISBN 9780429071782. Dostupné z: doi:10.1201/b18987
- [33] OZOGUL, Fatih a Imen HAMED, 2016. Lactic Acid Bacteria: Lactobacillus spp. In: *Reference Module in Food Science* [online]. Elsevier [cit. 2023-05-12]. ISBN 9780081005965. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100596-5.00852-0
- [34] YILDIZ, Fatih, 2016. *Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products: Chapter Probiotic Dairy Beverages: Microbiology and Technology* [online]. CRC Press [cit. 2022-04-01]. ISBN 9781420082081. Dostupné z: doi:10.1201/9781420082081
- [35] ROBINSON, Richard K., 2000. Kefir. *Encyclopedia of Food Microbiology, Volumes 1-3* [online]. Elsevier [cit. 2022-04-02]. ISBN 978-0-08-052359-0. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0051KHW1/encyclopedia-food-microbiology/kefir-production>
- [36] GIBSON, Glenn R., 2006. 1.3 Kefir Manufacture. *Food Science and Technology Bulletin – Functional Foods, Volume 2* [online]. International Food Information Service (IFIS Publishing) [cit. 2022-04-02]. ISBN 978-1-60119-119-9. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt003YNCFD/food-science-technology-5/kefir-manufacture>
- [37] ROSA, Damiana D. et al., 2017. Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. *Nutrition Research Reviews* [online]. **30**(1), 82-96 [cit. 2022-04-02]. ISSN 0954-4224. Dostupné z: doi:10.1017/S0954422416000275

- [38] ALI, Abdelmoneim H, 2019. Current knowledge of buttermilk: Composition, applications in the food industry, nutritional and beneficial health characteristics. *International Journal of Dairy Technology* [online]. 72(2), 169-182 [cit. 2023-05-12]. ISSN 1364-727X. Dostupné z: doi:10.1111/1471-0307.12572
- [39] SARKAYA, Pınar, Ecem AKAN a Ozer KINIK, 2021. Use of kombucha culture in the production of fermented dairy beverages. *LWT* [online]. 137 [cit. 2023-03-07]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2020.110326
- [40] KANURIĆ, Katarina Gojko et al., 2018. Kinetics of lactose fermentation in milk with kombucha starter. *Journal of Food and Drug Analysis* [online]. 26(4), 1229-1234 [cit. 2023-03-07]. ISSN 10219498. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfda.2018.02.002
- [41] JAYABALAN, Rasu et al., 2014. A Review on Kombucha Tea-Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 13(4), 538-550 [cit. 2023-03-07]. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12073
- [42] MARTÍNEZ LEAL, Jessica et al., 2018. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - Journal of Food* [online]. 16(1), 390-399 [cit. 2023-03-17]. ISSN 1947-6337. Dostupné z: doi:10.1080/19476337.2017.1410499
- [43] RAMÍREZ TAPIAS, Yuly A. et al., 2022. Bacterial cellulose films production by Kombucha symbiotic community cultured on different herbal infusions. *Food Chemistry* [online]. 372 [cit. 2023-03-17]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2021.131346
- [44] FREITAS, Ana, Paulo SOUSA a Nédio WURLITZER, 2022. Alternative raw materials in kombucha production. *International Journal of Gastronomy and Food Science* [online]. 30 [cit. 2023-03-21]. ISSN 1878450X. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijgfs.2022.100594
- [45] Kombucha Code of Practice. *KB International* [online]. [cit. 2023-03-21]. Dostupné z: <https://kombuchabrewers.org/kombucha-code-of-practice/#fin-prod-def>
- [46] KRUK, Marcin et al., 2021. Application of the “SCOBY” and Kombucha Tea for the Production of Fermented Milk Drinks. *Microorganisms* [online]. 9(1) [cit. 2023-03-22]. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms9010123

- [47] MALBAŠA, Radomir V. et al., 2009. Milk-based beverages obtained by Kombucha application. *Food Chemistry* [online]. 112(1), 178-184 [cit. 2023-03-28]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2008.05.055
- [48] BELLOSO-MORALES, Genette a Humberto HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, 2003. Manufacture of a beverage from cheese whey using a “tea fungus” Fermentation. *REVISTA LATINOAMERICANA DE MICROBIOLOGIA* [online]. Mexico, (45), 1-5 [cit. 2023-03-28].
- [49] KANURIĆ, Katarina Gojko et al., 2018. Kinetics of lactose fermentation in milk with kombucha starter. *Journal of Food and Drug Analysis* [online]. 26(4), 1229-1234 [cit. 2023-04-03]. ISSN 10219498. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfda.2018.02.002
- [50] MORETTI, Ana Florencia et al., 2022. Water kefir, a fermented beverage containing probiotic microorganisms: From ancient and artisanal manufacture to industrialized and regulated commercialization. *Future Foods* [online]. 5 [cit. 2023-04-12]. ISSN 26668335. Dostupné z: doi:10.1016/j.fufo.2022.100123
- [51] GUZEL-SEYDIM, Zeynep B., Çağlar GÖKIRMAKLI a Annel K. GREENE, 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. 2023-04-12]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2021.04.041
- [52] LYNCH, Kieran M. et al., 2021. An update on water kefir: Microbiology, composition and production. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 345 [cit. 2023-04-12]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109128
- [53] HSIEH, Hsin-Hui et al., 2012. Effects of cow's and goat's milk as fermentation media on the microbial ecology of sugary kefir grains. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 157(1), 73-81 [cit. 2023-04-17]. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.014
- [54] ABDEL-MOGHEITH, Sahar et al. Exploring the Antimicrobial and Hepatoprotective Effects of Kefir; *A Probiotic Fermented Milk* [online]. [cit. 2023-04-28]. Dostupné z: doi:https://dx.doi.org/10.22207/JPAM.11.2.15
- [55] Zpracování mléka: Kefír a kefirové mléko. *Web2.mendelu.cz* [online]. Připraveno v rámci řešení projektu CZ.1.07/2.2.00/28.0020 [cit. 2022-04-08]. Dostupné z: https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=1702&typ=html

[56] Zpracování mléka: Podmáslí. *Web2.mendelu.cz* [online]. Připraveno v rámci řešení projektu CZ.1.07/2.2.00/28.0020 [cit. 2022-04-10]. Dostupné z: https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=1698&typ=html

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BMK Bakterie mléčného kvašení

ČMK Čisté mlékařské kultury

FMN Fermentované mléčné nápoje

KMV Kysané mléčné výrobky

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Kefirová zrna [54]	31
Obrázek 2 Schéma tradiční výroby kefiru [55]	33
Obrázek 3 Schéma tradiční a industriální výroby kefiru [51]	34
Obrázek 4 Schéma výroby kysaného podmásli [56]	36
Obrázek 5 Zrna mléčného kefiru a vodního kefiru [51]	43

