

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality zemědělských produktů



Mražené smetanové krémy s přidanou hodnotou

Bakalářská práce

Autor práce: Barbora Melicharová

Vedoucí práce: Ing. Miroslava Potůčková

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Mražené smetanové krémy s přidanou hodnotou" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu použitých zdrojů na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 15. dubna 2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Miroslavě Potůčkové za odbornou pomoc, cenné rady, čas a metodické vedení, které mi věnovala při řešení a zpracování dané problematiky.

Mražené smetanové krémy s přidanou hodnotou

Souhrn

Cílem bakalářské práce je shrnutí současných poznatků o vývoji a vlastnostech mražených krémů (zmrzlin) s přidanou hodnotou. Aktuálně patří mezi nejintenzivněji studované možnosti přípravy funkčních zmrzlin inkorporace probiotik. Jejich vitalita záleží na druhu mikroorganismu, například bifidobakterie jsou v matrici mraženého krému obvykle hůře stabilní než laktobacily. Jako vhodné kmeny dobře přežívající výrobní i skladovací proces a průchod výrobku lidským gastrointestinálním traktem byly vybrány například *Lactobacillus acidophilus* AB5-18, AK4-14, *Lactobacillus agilis* AA17-73, AC18-88 a *Lactobacillus rhamnosus* AB20-100. Vitalita probiotických kultur ve zmrzlině může být dále negativně ovlivněna výrobními procesy a skladovacími podmínkami, při nichž dochází k letálnímu poškození živých buněk. Patří mezi ně zejména zmrazování výrobní směsi a kolísáním teplot během skladování. Základní složky produktu (mléčný tuk, bílkoviny, laktóza, sladidla, hydrokoloidy, vzduchové bubliny, ovocné ingredience) pak působí jako přirozená ochrana vůči těmto vlivům. Přežití probiotik může být také podpořeno přidáním prebiotik inulinu a oligofruktózy (> 9 %), začleněním kultury do čokolády (> 23 %) nebo její mikroenkapsulací do alginátu vápenatého (> 30 %).

Přídavek probiotických mikroorganismů ovlivňuje též sensorický profil výrobku, proto je doporučováno inkorporovat je až před zmrazováním výrobní směsi, čímž je jejich účinek minimalizován. Dobře byly hodnoceny například mražené krémy s obsahem *Lactobacillus reuteri* a *Bifidobacterium bifidum*. Probiotické zmrzliny mohou vykazovat slabší vůni, jogurtovou chuť a „probiotickou pachutí“, ale také osvěžující a příjemně kyselou chuť, vyšší viskozitu, homogennost, hladkost a odolnost vůči tání. Jejich sensorické vlastnosti mohou být pozitivně ovlivněny přidáním mléčného tuku, hydrokoloidů (guarová guma, xanthan) a kyselých ovocných složek (jahod), nebo náslehem (60 - 90 % obj.).

Probiotický mražený krém lze navíc s výhodou použít jako nosič dalších zdravích prospěšných složek, například esenciálních látek (mastné kyseliny, minerály a vitamíny, zejména vápník a vitamín D), vlákniny a antioxidantů. Byl také prokázán jeho antikariogenní účinek při obsahu směsné kultury *Bifidobacterium lactis* a *Lactobacillus acidophilus*.

Klíčová slova: funkční potraviny, mražený jogurt, probiotika, synbiotika, zmrzlina

Ice cream with additional value

Summary

The aim of this bachelor thesis is to summarise current knowledge about production and properties of ice cream with an additional value. Nowadays, incorporation of probiotics is considered as the most intensively studied possibility for functional ice cream manufacture. Their viability depends on the kind of a microorganism, for example bifidobacteria are mostly less stable than lactobacilli in ice cream matrix. *Lactobacillus acidophilus* AB5-18, AK4-14, *Lactobacillus agilis* AA17-73, AC18-88 and *Lactobacillus rhamnosus* AB20-10 were chosen as suitable strains for ice cream production because of their stability during manufacture and storage processes and also digestion.

Viability of probiotic cultures in ice cream matrix can be negatively influenced by lethal damage of living cells during manufacture processes and storage. Critical points are freezing of ice cream mixture and temperature fluctuation during storage. The basic ingredients (milk fat, proteins, lactose, sweeteners, hydrocolloids, air bubbles, fruit ingredients) naturally protect starters against these impacts. Survival of probiotics can be also supported by prebiotics inuline and oligofructose (> 9 %) addition, by microorganisms incorporation into chocolate chips (> 23 %) or by starter microencapsulation into calcium alginate (> 30 %).

Probiotic microorganisms addition influences also sensory profile of the final product. To minimize their effect is recommended to incorporate them before the freezing step. Good sensory profile had for example ice cream containing *Lactobacillus reuteri* and *Bifidobacterium bifidum*. Probiotic ice-creams could have poorer aroma, yoghurt taste or unpleasant probiotic taste, but on the other hand pleasant fresh sauer taste, higher viscosity, homogeneity, smoothness and resistance to melting. Their sensory quality can be also positively influenced by adding milk fat, hydrocolloids (guar gum, xanthan) and sauer fruit ingredients (strawberries) or by overrun (60 - 90 vol. %).

Moreover, probiotic ice-cream is possible to use as a carrier of other health beneficial ingredients, for example essential substances (fatty acids, minerals, vitamins – particularly calcium and vitamin D), fibre and antioxidants. It was observed that probiotic ice cream containing *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* had anticariogenic effect.

Keywords: functional food, ice cream, ice jogurt, probiotics, synbiotics

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Cíl práce.....	2
3 Mražené smetanové krémy s přidanou hodnotou	3
3.1 Mražené krémy	3
3.1.1 Složení mražených krémů.....	3
3.1.1.1 Tuk.....	4
3.1.1.2 Mléčná tukuprostá sušina	4
3.1.1.3 Sladidla	4
3.1.1.4 Emulgátory	5
3.1.1.5 Stabilizátory.....	5
3.1.1.6 Ochucovadla.....	5
3.1.1.7 Barviva.....	5
3.1.2 Technologie výroby mražených krémů.....	6
3.1.2.1 Příjem a skladování surovin	6
3.1.2.2 Vážení a mixování surovin	6
3.1.2.3 Homogenizace a pasterace výrobní směsi	7
3.1.2.4 Zmrazování výrobní směsi	7
3.1.2.5 Tvarování a balení mražených krémů.....	8
3.2 Probiotické kultury v mražených krémech	8
3.2.1 Charakteristika probiotických bakterií.....	9
3.2.2 Rezistence probiotických bakterií vůči antibiotikům.....	10
3.2.3 Životaschopnost probiotických bakterií v matrici mražených krémů.....	12
3.2.3.1 Vliv výrobního a skladovacího procesu na vitalitu probiotik	12
3.2.3.2 Vliv průchodu mraženého krému trávícím traktem na vitalitu probiotik ...	14
3.2.3.3 Vliv prebiotik na vitalitu probiotických bakterií.....	15
3.2.3.4 Vliv mikroenkapsulace na vitalitu probiotických bakterií	17
3.2.3.5 Vliv inkorporace probiotik do ochucujících složek na jejich vitalitu	19
3.2.3.6 Vliv obalových materiálů na vitalitu probiotických bakterií.....	21
3.3 Probiotický mražený krém	23
3.3.1 Sensorické vlastnosti probiotického mraženého krému	23
3.3.1.1 Vliv mléčného tuku a hydrokoloidů na vlastnosti probiotické zmrzliny....	25
3.3.1.2 Vliv nášlehu na sensorické vlastnosti probiotického mraženého krému....	25
3.3.1.3 Vliv fenolických látek na sensorické vlastnosti probiotické zmrzliny	27

3.3.1.4 Vliv náhrady mléčných složek na vlastnosti probiotické zmrzliny	28
3.3.1.5 Vliv obalových materiálů na smyslové vlastnosti probiotické zmrzliny	29
3.3.2 Probiotický mražený krém jako nosič zdraví prospěšných surovin	30
3.3.1 Biologická aktivita probiotického mraženého krému	33
4 Závěr.....	35
Seznam použitých zdrojů	37
Seznam zkratk	46
Seznam tabulek.....	47

1 Úvod

V současné době dochází k výraznému rozvoji zájmu potravinářského průmyslu o inovace, jež by vedly k produkci výrobků splňujících nejen základní dietetické funkce, ale také potřeby a nároky moderního spotřebitele, mezi něž patří například zlepšení psychické a duševní pohody a prevence vzniku komplikací spojených s výživou. Současní spotřebitelé se totiž stále více zajímají o své vlastní zdraví a očekávají, že konzumací vybraných potravin je budou podporovat nebo jim tento způsob stravování dokonce umožní zbavit se některých onemocnění. Díky rostoucímu celosvětovému zájmu společnosti o probiotika, která jsou schopna pozitivně ovlivňovat lidské zdraví, byly vyvinuty různé typy potravinářských produktů určených jako nosiče pro tyto mikroorganismy. Jedním z těchto médií jsou i zmrzliny. Mezi jejich výhody patří lahodná chuť, která činí tento výrobek široce oblíbený všemi věkovými i sociálními skupinami po celém světě. První zmínka o mražených krémech neboli zmrzlině pochází pravděpodobně z Číny, jejíž obyvatelé si s oblibou pochutnávali na mixovaných ovocných šťávách se sněhem, dnes známých jako ledová tříšť. Později se tato technologie rozvinula i ve starověkém Řecku a Římě, kde byl tento produkt považován za pochoutku a mohli si ho dovolit pouze lidé s vyšším společenským postavením. Protože neexistovaly žádné přístroje, jako hlavní surovina byl používán čerstvý sníh a led z Olympu. Nebylo známo mnoho příchutí, mezi nejčastější způsoby ochucení patřil přídavek medu, ovocných šťáv nebo vína. Marco Polo po svém návratu z Asie roku 1295 přivezl do Evropy, konkrétně do Itálie, návod na přípravu mraženého krému, jehož základem bylo mléko, a který po dlouhou dobu patřil k luxusním pochutinám. Do obchodů pro běžnou populaci se zmrzlina dostala až v devatenáctém století.

Během posledních dvou desetiletí teorie a technologie výroby mražených krémů prodělaly pozoruhodný vývoj. Došlo ke zlepšení stability výrobků během skladování a manipulace s nimi, což umožnilo do jejich matrice začlenit funkční ingredience (například probiotika, prebiotika, přírodní antioxidanty, minerály) s cílem zlepšit nutriční hodnotu potraviny, a tím zvýšit zájem spotřebitelů. V současnosti je díky různým přísadám a metodám zpracování vyráběno více než 240 různých druhů zmrzliny patřících mezi vysoce kvalitní a bezpečné potraviny, které jsou k dispozici ve všech ročních obdobích.

2 Cíl práce

Hypotézu bakalářské práce je možné určit následovně: matrice mražených smetanových krémů může být využita k vývoji produktů s přidanou hodnotou. Cílem práce je zpracování literární rešerše shrnující současné poznatky o vývoji a vlastnostech zmrzlin s přidanou hodnotou, například s obsahem probiotik, prebiotik či jejich kombinace.

3 Mražené smetanové krémy s přidanou hodnotou

3.1 Mražené krémy

Podle vyhlášky č. 77/2003 Sb. se mraženým krémem rozumí výrobek, který se získal současným našleháním a zmrazením homogenizované a pasterované směsi, jejíž hlavní suroviny jsou voda, mléko, smetana, tuk a cukr. Tento výrobek je dále v pevné nebo pastovité konzistenci uváděn do oběhu a určen ke konečné spotřebě ve zmrazeném stavu.

Podle Bylunda (1995) mražené krémy můžeme rozdělit do několika kategorií na základě surovin, ze kterých byly vyrobeny:

- mražené krémy vyrobené výhradně z mléčných produktů,
- mražené krémy obsahující rostlinný tuk,
- zmrzlinový sorbet obsahující ovocné šťávy, mléčný tuk a sušené mléko bez tuku
- vodová zmrzlina z vody, cukru a ovocných koncentrátů.

3.1.1 Složení mražených krémů

Mezi základní složky mraženého krému patří tuk (mléčný tuk, nejčastěji ve formě smetany, másla nebo bezvodého mléčného tuku, rostlinné tuky a oleje a jejich směsi), tukuprostá mléčná sušina (sušené odtučněné mléko, podmáslí, syrovátka), sladidla (cukr, nekalorické aditivní látky), emulgátory, stabilizátory, voda a vzduch, barviva a aromata. Podíl jednotlivých složek ve všech čtyřech kategoriích mražených krémů je zobrazen v tabulce 1, a složení mražených krémů dle platné legislativy (vyhláška 77/2003 Sb.) Evropské unie a České republiky se nachází v tabulce 2.

Tabulka 1: Složení mražených krémů (Bylund, 1995)

Typ zmrzliny	Tuk	Mléčná tukuprostá sušina	Sladidla	Aditiva	Voda	Nášleh
	[% hm.]	[% hm.]	[% hm.]	[% hm.]	[% hm.]	[% obj.]
Zmrzlinový krém	10,0	11,0	14,0	0,4	64,6	100,0
Mléčná zmrzlina	4,0	12,0	13,0	0,6	70,4	85,0
Sorbet	2,0	4,0	22,0	0,4	71,6	50,0
Vodová zmrzlina	0,0	0,0	22,0	0,2	77,8	0,0

Tabulka 2: Složení mražených krémů dle platné legislativy (vyhláška č. 77/2003 Sb.)

Druh mraženého krému	Tuk [% hm.]	Mléčná tps [% hm.]	Cukr [% hm.]	Sušina [% hm.]	Nášleh [% obj.]
Dezertní	≥ 15,0	≥ 10,0	≥ 15,0	≥ 40,0	≥ 110,0
Smetanový	≥ 8,0	≥ 11,0	≥ 14,0	≥ 33,0	≥ 100,0
Mléčný	≥ 2,5	≥ 6,0	≥ 13,0	≥ 21,5	≥ 85,0
S rostlinným tukem	≥ 5,0	≥ 6,0	≥ 13,0	≥ 24,0	≥ 85,0
Sorbet	≥ 2,0	≥ 4,0	≥ 22,0	≥ 12,0	≥ 50,0
Ovocný	0,0	0,0	≥ 22,0	≥ 12,0	0,0
Vodový	0,0	0,0	≥ 22,0	≥ 12,0	0,0

3.1.1.1 Tuk

Tuk zaujímá v mražených krémech okolo 10 – 15 % hm. V mléčných zmrzlinových směsích se dříve používaly především mléčné tuky, zejména smetana, která bývala původní surovinou, máslo nebo bezvodý mléčný tuk. V současnosti je mléčný tuk v receptuře stále častěji nahrazován rostlinnými oleji a tuky, jako například palmovým, kokosovým, slunečnicovým nebo řepkovým ve formě plně i částečně ztužené. Užíváním těchto surovin však dochází k určitým změnám barvy, chuti a konzistence výsledného produktu (Bylund, 1995).

3.1.1.2 Mléčná tukuprostá sušina

Mléčné tukuprosté sušiny by mělo být v případě mražených krémů na mléčné bázi 11 - 11,5 % hm. zmrzlinové směsi. Skládá se z proteinů, laktózy a minerálních solí. Do zmrzliny se přidává ve formě sušených nebo kondenzovaných komponent, zejména odtučněného mléka, podmáslí, syrovátky a koncentrátu mléčných bílkovin. Nevýhodou sušených složek oproti zahuštěným je horší rozpustnost a delší čas potřebný na adekvátní hydrataci bílkovin (Bylund, 1995).

3.1.1.3 Sladidla

Ve zmrzlinové směsi bývá zpravidla 10 – 18 % hm. složek, které dodávají mraženým krémům sladkost. Pro výrobu zmrzliny se používají různé typy sladidel v sypké i tekuté formě. Nejčastěji se jedná o cukr třtinový, řepný, glukózu, nebo invertní cukr (tzn. směs glukózy a fruktózy). Pro oslazení mražených produktů mohou být také využita umělá sladidla,

kteřá nemají žádnou nutriční hodnotu a vykazují vysokou sladivost i v malém množství. Jedná se např. o aspartam, acesulfam K, sorbitol, alitam. Tyto látky jsou často uplatňovány při výrobě zejména diabetických produktů (Bylund, 1995).

3.1.1.4 Emulgátory

Množství emulgátorů ve zmrzlinovém mixu bývá okolo 0,5 % hm. Tyto látky pomáhají stabilizovat a zlepšit strukturu a ustálit barvu produktu. Ve výrobě mražených krémů se obvykle používají zástupci čtyř základních skupin a to estery sorbitolu, glycerolu, cukrů a estery různého původu. Původním emulgátorem byl vaječný žloutek, ale jeho zahrnutí je ekonomicky nákladnější a účinnost nižší (Bylund, 1995).

3.1.1.5 Stabilizátory

Obsah stabilizátorů zaujímá podle Bylunda (1995) 0,2 - 0,4 % hm. zmrzlinové směsi. Stabilizátory jsou obvykle látky hydrokoloidní povahy, které zlepšují texturu směsi díky vazbě vody a tvorbě sítě, která brání molekulám ostatních složek ve volném pohybu. Pro produkci mražených krémů se používají proteinové (albuminy a globuliny, kasein, želatina) a sacharidové (agary a rostlinné gummy, hemicelulóza, modifikovaná celulóza, pektiny, škroby, xanthany) stabilizátory (Bylund, 1995).

3.1.1.6 Ochucovadla

Pro spotřebitele jsou příchutě velmi důležitým faktorem pro výběr produktu. Pro výrobu zmrzliny se používají například vanilkové, čokoládové, nugátové, oříškové, ovocné příchutě a mnohé další. Do zmrzlinové směsi se mohou přidat buď ve fázi mixování, nebo před konečným zmrazováním (Bylund, 1995).

3.1.1.7 Barviva

Barviva jsou přidávána do zmrzliny za účelem zvýšení její atraktivity. Při výrobě mražených krémů jsou využívány především koncentrované formy. Synteticky vyráběná barviva se do mražených krémů mohou dávat pouze v množství nařizeném vyhláškou č. 4/2008 Sb. (50 mg/kg pro jednotlivá barviva a maximální použití 150 mg/kg NPM). Mezi nejběžněji používaná patří například E122 azorubin, E 155 hněd', E 110 žluť SY, E 124 ponceau 4R. V dnešní době se do mražených krémů začínají přidávat barviva přírodní, která narozdíl od syntetických nezpůsobují zdravotní potíže a mnohdy mají příznivý účinek

(například antioxidační). Přírodní barviva většinou pochází z vedlejších produktů získaných při zpracování potravin rostlinného původu. Například ve studii Rizka a kol. (2014) se uvádí jako nadějně přírodní barvivo lykopen E160d. Lykopenem se rozumí bioaktivní pigment s barvou od žluté, přes oranžovou až po tmavě červenou, běžně se vyskytující v celé řadě kulturních plodin (vodní melouny, papája nebo grapefruity). Mezi jeho nejčastější zdroje patří rajčatové odpady, semena a slupky. Výhodou rajčatového lykopenu je stabilita vůči vysokým teplotám a extrémním hodnotám pH, navíc nevytváří žádné nepříjemné pachutě a, jak již bylo řečeno, pokrývá širší škálu barev (Rizk et al., 2014).

3.1.2 Technologie výroby mražených krémů

3.1.2.1 Příjem a skladování surovin

Skladování surového materiálu v tancích, silech či pytlích závisí na jeho formě. Suché suroviny, kam patří sušené mléčné komponenty, sypká sladidla a barviva, emulgátory, stabilizátory, kakaový prášek se dodávají většinou v pytlích. Objemný materiál, především cukr a sušené mléčné složky jsou stlačením vzduchu dmýchadlem transportovány z kontejnerů do sil. Tekutý materiál, který ve výrobě mražených mléčných krémů zastupuje mléko, smetana, kondenzované mléko, rostlinné oleje a cukerné sirupy, je dodáván v tancích. Slazené kondenzované mléko a rostlinné oleje se mohou skladovat při poměrně vysokých teplotách (až okolo 30 – 50 °C), ale nativní a obnovené neslazené mléko a smetana se před uskladněním zchlazuje na teplotu nepřesahující 5 °C. Mléčný tuk je dodáván ve formě bezvodého mléčného tuku nebo bloku másla, které se rozpustí a přečerpává se pomocí čerpadel k úchově v tanku za teploty na 35 – 40 °C (Bylund, 1995).

3.1.2.2 Vážení a mixování surovin

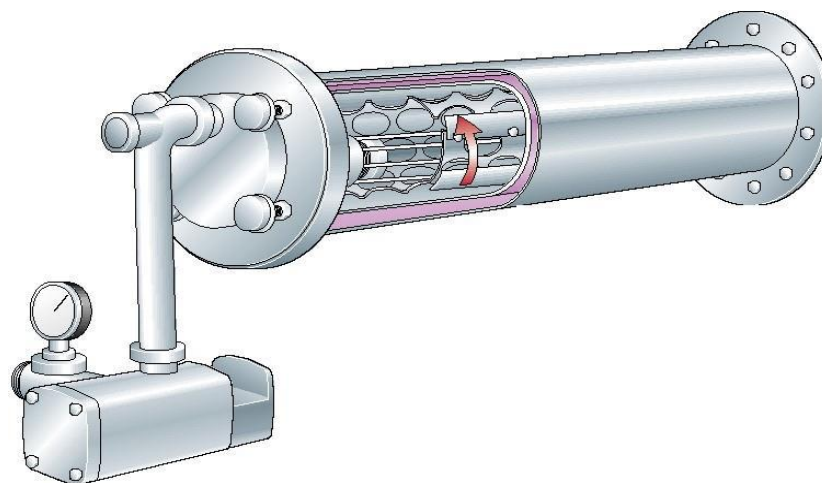
V závodech s menší výrobní kapacitou se využívají k vážení a odměřování jednotlivých složek tanky (obvykle vybavené dávkovacím systémem), ve kterých je surový materiál ohříván a míchán do vzniku homogenní směsi. Ve velkých závodech, kvůli zajištění nepřetržité výroby, se běžně používají na míchání surového materiálu dva tanky. Suché ingredience, jako je například sušené mléko, se do směsi přidávají v průběhu míchání. Tanky jsou kvůli snadnějšímu rozpouštění komponent běžně vyhřívány na teplotu 50 – 60 °C (Bylund, 1995).

3.1.2.3 Homogenizace a pasterace výrobní směsi

Homogenizace se provádí za účelem získání jednolitě zmrzlinové směsi. Principem je protlačení suroviny za vysokého tlaku a rychlosti úzkou štěrbinou. Homogenní produkt pak proudí přes filtr vyrovnávacího tanku a čerpá se pomocí čerpadel k výměníku tepla, kde se přehřívá na teplotu 70 - 75 °C. Poté probíhá jeho pasterace při teplotě 70 °C po dobu 30 min. nebo při teplotě 82 - 85 °C po dobu minimálně 5 s. Pasterace slouží k zajištění zdravotní nezávadnosti a adekvátních technologických vlastností suroviny. Dále následuje zchlazení na teplotu 5 °C a převedení směsi do zracího tanku, kde probíhá řízená krystalizace tuku po dobu alespoň 4 h při teplotě 2 - 5 °C a za šetrného míchání (Bylund, 1995).

3.1.2.4 Zmrazování výrobní směsi

Zmrazování výrobní směsi obvykle probíhá v tzv. votátorech, tedy kontinuálních tepelných výměnících se stíraným filmem. Ve votátorech probíhají zároveň dva procesy, a to našlehání zmrzlinové směsi k inkorporaci vzduchu, a zmrazování v ní obsažené vody na malé ledové krystaly. Technologické schéma votátoru je znázorněno na obrázku 1. Výrobní směs je čerpána do chladícího válce, kde probíhá její zmrazování. Jako chladící médium se nejčastěji využívá amoniak. Na stěně válce se postupně usazuje vrstva zmrazené směsi, která je nepřetržitě seškrabávána pomocí otáčivých nožů. Pro vytvoření malých ledových krystalků je důležité, aby byl zmrazovací proces co nejrychlejší. Zatímco se směs zamrazuje při teplotě -3 až -6 °C (v závislosti na typu zmrzlinového produktu), dochází zároveň k jejímu šlehání za přístupu vzduchu. Tím je vzduch začleněn do struktury mraženého krému a vzroste objem produktu. Našlehání neprobíhá při výrobě vodových zmrzlin. Z votátoru odchází mražený krém ve formě podobající se jemnému ledu, kdy došlo ke krystalizaci zhruba 40 % celkového množství vody. Ihned po opuštění votátoru je zmrzlina doplněna o pevné ochucující složky (jako např. ovoce, čokoládu, karamel a oříšky) (Bylund, 1995).



Obrázek 1: Technologické schéma votátoru (Bylund, 1995)

3.1.2.5 Tvarování a balení mražených krémů

Po výstupu zmrzlinové směsi z votátoru je produkt balen do kornoutků, kelímků a krabiček pomocí otáčivé nebo lineární baličky. Může být ještě doplněn příchutěmi nebo ozdoben ovocem, oříšky, karamellem, čokoládou či různými topingy. Poté prochází přes ztužovací tunel, kde je podroben konečnému zmrazení na teplotu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. V případě výroby nanuků je zmrzlinová směs nejprve nadávkována do formiček, ve kterých se nechá vytuhnout. Po skokovém ohřevu formy je vzniklý nanuk vyklopen a dále zpracován shodně s výše popsaným postupem (Bylund, 1995).

3.2 Probiotické kultury v mražených krémech

Matrice mražených krémů na mléčné bázi je díky svému složení (obsah mléčných bílkovin, tuku a laktózy) považována za vhodné prostředí pro růst a přežití probiotických kultur mikroorganismů. Kromě toho mléčné zmrzliny mají obvykle příznivé pH, které se pohybuje okolo 5,5 – 6,5, což může také podporovat přežití kultur během skladování produktu. Mražené krémy s kyselějším pH (jogurtová a tvarohová zmrzlina, mražený jogurt) jsou též dobrými nosiči probiotik, a navíc se vyznačují jemnější konzistencí, čímž bývají pro spotřebitele přijatelnější (Caglar et al., 2008).

Přestože probiotická zmrzlina obsahuje většinou vyšší množství cukru a tuku, je stále považována za funkční potravinu. Například bylo pozorováno, že pravidelná konzumace probiotických mražených krémů, které obsahovaly *Bifidobacterium lactis* Bb-12, způsobila pokles životaschopného množství streptokoků a laktobacilů, které v dutině ústní způsobují vznik zubního kazu (Caglar et al., 2008). Jednotlivé probiotické kultury použité ve studiích o mražených smetanových krémech jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3: Probiotické bakterie nejčastěji používané v různých studiích (Akalin et al., 2008; Alamprese et al., 2002; Başığit et al., 2006; Devasya et al., 2015; Ferraz et al., 2012; Heenan et al., 2004; Homayouni et al., 2008; Champagne et al., 2015; Maragiños et al., 2007; Ranadheera et al., 2013; Sagdic et al., 2012; Salem et al., 2005)

Rod	Druh	Použití ve studiích
<i>Bifidobacterium</i>	<i>animalis</i>	vliv prebiotik, obalových materiálů a nášlehu na smyslové vlastnosti
	<i>bifidum</i>	smyslové vlastnosti probiotické zmrzliny
	<i>infantis</i>	dlouhodobá životaschopnost
	<i>lactis</i>	mikroenkapsulace, sójové probiotické dezerty
	<i>longum</i>	dlouhodobá životaschopnost, vliv čokolády
<i>Lactobacillus</i>	<i>acidophilus</i>	rezistence k mrazicímu procesu, vliv obalových materiálů a nášlehu
	<i>agilis</i>	kyselost růstového média
	<i>casei</i>	mikroenkapsulace
	<i>johnsonii</i>	dlouhodobá životaschopnost
	<i>paracasei</i>	sójové probiotické krémy
	<i>reuteri</i>	vliv nášlehu na smyslové vlastnosti
	<i>rhamnosus</i>	vliv čokolády na životaschopnost
<i>Propionibacterium</i>	<i>jensenii</i>	vliv obalových materiálů na životaschopnost
<i>Saccharomyces</i>	<i>boulardii</i>	sójové probiotické krémy

3.2.1 Charakteristika probiotických bakterií

Probiotika jsou definována jako živé mikroorganismy prospěšné pro zdraví lidského organismu, obvykle zlepšením nebo udržením mikrobiální bilance střevního traktu. Mezi jejich pozitivní účinky patří například podpora imunitního systému, antimikrobiální aktivita, prevence a léčba průjmů, snižování laktóзовé intolerance, zvýšená produkce vitaminů B, antimutagenní a protinádorové působení. Dle platné legislativy Evropské unie musí být minimální koncentrace probiotických bakterií na konci doby trvanlivosti probiotického produktu 10^6 KTJ na 1g. Podle současné brazilské legislativy, jež je ještě přísnější by se množství probiotických bakterií v produktu mělo pohybovat okolo 10^8 - 10^9 KTJ na 1g. Probiotické výrobky se doporučují pravidelně konzumovat v množství alespoň 100 g/den, aby se do gastrointestinálního traktu dostalo 10^9 životaschopných buněk (Karimi et al., 2011).

Mezi potvrzená i potenciální probiotika je řazena široká škála rodů a druhů mikroorganismů. Avšak k nejvíce běžně v mlékárenství využívaným patří bakterie mléčného kvašení a z nich především rody *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* a dále pak *Lactococcus*, *Enterococcus* a *Propionibacterium*. Jmenované bakterie patří mezi Grampozitivní nesporeující mikroorganismy, které se přirozeně vyskytují v trávicím traktu savců včetně člověka. Probiotické kmeny laktobacilů a bifidobakterií podle výsledků řady studií potlačují ve střevech růst pro hostitele patogenních bakterií jako například některých zástupců *Escherichia coli* či *Salmonella* sp. Rod *Lactobacillus* dle provedených výzkumů podporuje také snižování hladiny toxických aminů v lidské krvi. Nicméně jako probiotika se využívají i další mikroorganismy, například kvasinky *Saccharomyces* (Vinderola et Reinheimer, 2003).

Volba vhodných probiotických kmenů je důležitým krokem pro výrobu probiotických mražených krémů. Mezi základní kritéria pro výběr patří životaschopnost mikroorganismů během výroby a skladování, míra jejich přežití během průchodu trávicím traktem a možné zdravotní přínosy pro spotřebitele (Ventura et Perozzi, 2011).

Probiotické kultury se zavádějí do mražených krémů uměle. Většina preparátů je komerčně dostupná buď ve formě vysoce koncentrované hlubokozmražené nebo lyofilizované. Hluboce zmražené kultury by měly obsahovat více než 10^{10} KTJ/g a kultury lyofilizované více než 10^{11} KTJ/g (Oberman et Libudzisz, 1998).

Pozitivní účinek probiotik v potravinářských produktech na lidské zdraví závisí na počtu životaschopných a aktivních buněk na g produktu v okamžiku spotřeby. Proto je nezbytné zajistit vysokou míru jejich přežití právě během výroby a skladování. Přidáním probiotických mikroorganismů mohou také nastat změny sensorických vlastností výrobků (zejména chuti a vůně) v důsledku některých jejich přirozených metabolických procesů. Přítomnost probiotik by však nikdy neměla negativně ovlivnit kvalitu produktu (Karimi et al., 2011).

3.2.2 Rezistence probiotických bakterií vůči antibiotikům

Rezistence probiotik vůči antibiotikům je dalším důležitým kritériem pro výběr kultur, které mají být použity při výrobě probiotických zmrzlin. Protože jedním z pozitivních účinků těchto mikroorganismů na lidské zdraví je schopnost během i po antibiotické léčbě rekolonizovat tlusté střevo, je vhodné volit právě kmeny odolné vůči nepříznivým vlivům běžně používaných antibiotik (Alamprese et al., 2002).

Touto problematikou se zabývali mimo jiných i Alamprese a kol. (2002), kteří studovali odolnost *Lactobacillus johnsonii* La-1 vůči vybraným antibiotikům (ampicilinu, bacitracinu,

cefiximu, cephalothinu, penicilinu G, polymyxinu a vancomycinu). Na základě výsledků řady předchozích studií, jež potvrdily, že proces opětovného zmrazování a rozmrazování probiotických mražených krémů může měnit mechanismus propustnosti buněčných stěn a membrán přítomných kultur (Speck et al., 1968), byla pro hodnocení rezistence tohoto probiotického kmene vybrána aktivní membránová antibiotika. Díky mechanismu jejich působení by totiž mohla být zároveň použita k identifikaci buněk poškozených procesem zmrazení od nezraněných. Inkubace mikroorganismů probíhala na agarových deskách s obsahem příslušné aktivní látky při teplotě 37 °C po dobu 48 h. Výsledky, uvedené v tabulce 4, ukazují, že *Lactobacillus johnsonii* La-1 byl citlivý na ampicilin, cephalothin, penicilin G a vancomycin, středně citlivý na cefixim a odolný vůči bacitracinu a polymyxinu. Polymyxin, který je aktivní na cytoplazmatické membráně, se dle autorů zdál být nejvhodnějším pro odlišení buněk poškozených zmrazováním, avšak získané výsledky by měly být potvrzeny dalšími experimenty (Alamprese et al., 2002).

Tabulka 4: Výsledky rezistence *Lactobacillus johnsonii* La-1 vůči vybraným druhům antibiotik (Alamprese et al., 2002)

Antibiotikum	Inhibiční zóna [mm]					Rezistence
Ampicilin	2	5	10	20	50	Citlivé
	15	19	23	27	30	
Bacitracin	2	5	10	20	50	Odolné
	0	0	0	8	9	
Cefixime	1	3	5	10	20	Středně náchylné
	13	17	19	21	23	
Cephalothin	5	15	30	50	80	Citlivé
	24	29	32	34	37	
Penicilin G	2	5	10	20	50	Citlivé
	25	28	31	33	35	
Polymyxin	50	150	300	500	800	Odolné
	0	0	0	10	11	
Vancomycin	5	15	30	50	80	Citlivé
	13	17	19	21	21	

3.2.3 Životaschopnost probiotických bakterií v matrici mražených krémů

3.2.3.1 Vliv výrobního a skladovacího procesu na vitalitu probiotik

Na základě teploty růstového média probiotik se odvíjí jejich vývoj a životaschopnost. Mezi důležité společné znaky mikroorganismů schopných přežít za mrazírenských teplot patří jejich rychlejší snížení obsahu vody v buňce, které je chrání před poškozením cytoplazmatické membrány a organel v důsledku vzniku ledových krystalů. Rychlost dehydratace je závislá na propustnosti buněčných obalů a tvaru a velikosti buněk (Gill, 2006; Jay, 1992).

Obecně lze říci, že matrice mražených krémů patří mezi dobré nosiče probiotických bakterií. Nejdůležitějšími faktory řídícími její jakost jsou množství a kvalita komponentů zmrzlinové směsi a vývoj struktury krému během spojeného procesu šlehání a zmrazování (Marshall et al., 2003; Roy et al., 1990). Mražené krémy obsahují mimo jiné mléčný tuk, vzduchové bubliny a hydrokoloidy, které omezují tvorbu a velikost ledových krystalů v produktu, čímž snižují riziko vnějšího poškození mikrobiálních buněk (Jay, 1992). Na vitalitu probiotických bakterií má vliv také přídavek proteinových složek (zejména mléčných a syrovátkových bílkovin). Tyto látky podporují životaschopnost mikroorganismů několika způsoby: slouží jako zdroj živin (aminokyselin) pro buňky, mají schopnost snižovat redox potenciál a zvyšovat pufrovací kapacitu média, což vede k pomalejšímu poklesu pH (Dave et Shah, 1998).

Zvýšení obsahu cukru nebo tuku v receptuře zmrzliny s cílem zlepšení jejího vzhledu a struktury by také potenciálně mohlo pozitivně ovlivnit životaschopnost probiotik. Ve studii Alampreseho a kol. (2002) se však žádný pozitivní účinek přídavku cukru nebo tuku na životaschopnost *Lactobacillus johnsonii* LA1 během skladování vzorků po dobu 180 dní při teplotě -28 °C neprokázal. Ke stejným výsledkům došli i Başıyigit a kol. (2006) v případě charakterizace vlivu zvýšeného obsahu sacharózy nebo aspartamu na životaschopnost *Lactobacillus acidophilus* a *Lactobacillus rhamnosus* v průběhu skladování mraženého krému po dobu 180 dní při teplotě -20 °C. Naopak Akin a kol. (2007) pozorovali, že kvůli maximálnímu zajištění přežití vybraných kmenů laktobacilů (*Lactobacillus acidophilus*) a bifidobakterií (*Bifidobacterium lactis*) bylo nutno navýšit množství sacharózy ve vzorcích na 18 % hm (Akin et al., 2007; Alamprese et al., 2002; Başıyigit et al., 2006). Také kasein a laktóza obvykle přispívají k ochraně probiotických buněk proti stresu, který byl způsoben procesem zmrazování (Moss et Speck, 1963).

Během skladování mražených krémů může docházet k poškození buněčných stěn prasknutím cytoplazmatických membrán a dokonce i k úmrtí probiotických bakterií, v důsledku přítomnosti zbytkové vody obsažené v produktu, která plně nezmrzla. Ta může při kolísání teplot měnit skupenství a přispívat k růstu krystalů ledu (Gill, 2006). Úmrtnost probiotických mikroorganismů je vyšší vždy na začátku skladování a postupně klesá až do ustálení. Zbylé buňky, jež přežily mražení a skladování, jsou později, během tání zmrzliny, vystaveny osmotickým rehydratačním procesům, které opět mohou způsobit jejich nenávratné poškození a smrt (Jay, 1992). Přežití probiotických bakterií v mražených produktech závisí také na jejich druhu a velikosti inokula (Haynes et al., 2002). Obecně lze říci, že laktobacily jsou odolnější než bifidobakterie (Homayouni et al., 2008). Vhodnými kmeny jsou například *Lactobacillus johnsonii*, *Bifidobacterium longum* a *Bifidobacterium infantis*, jež jsou schopny v dostatečném počtu přežít jak výrobní proces, tak skladování i 11 až 52 týdnů (Mohammadi et al., 2011). Buňky rodu *Lactobacillus acidophilus* patří mezi termofilní zástupce bakterií mléčného kvašení, jsou tedy citlivější na stres vyvolaný nízkými teplotami než například buňky *Lactobacillus rhamnosus*. Na základě mikroskopické analýzy bylo zjištěno, že kmeny *L. acidophilus* mají obecně oproti kmenům *L. rhamnosus* větší buňky. S rostoucí velikostí jsou mikroorganismy považovány za více náchylné k mechanickému poškození, které může nastat během míchání a šlehání zmrzlinové směsi, a k tvorbě větších ledových krystalů, které také významně ovlivňují přežití probiotických kultur, jak bylo vysvětleno výše (Abghari et al., 2011).

Maragiños a kol. (2007), kteří se také zabývali životaschopností probiotik v matici mraženého krému, použili ve své studii tři vzorky zmrzliny, přičemž první naočkovali bakteriemi *Lactobacillus acidophilus* La-5, druhý *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 a třetí jejich směsí (AB) v poměru 1:1. Mražené krémy byly uskladněny 60 dní při teplotě -25 °C. Prvotním cílem bylo dosažení pH výrobků 5,0. Autoři pozorovali, že *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 potřebovalo více času (5 h 50 min) ke snížení aktivní kyselosti produktu na požadovanou hodnotu, než *Lactobacillus acidophilus* La-5 (4 h 16 min). Dalším a zároveň hlavním záměrem tohoto výzkumu byla charakterizace zachování životaschopnosti kultur v průběhu mrazícího procesu. Výsledky zobrazené v tabulce 5 ukazují minimální pokles celkového počtu probiotických bakterií (CPM) u všech tří vzorků. Důvodem tohoto snížení množství mikroorganismů by mohla být přítomnost kyslíku, která jim díky jejich mikroaerofilnímu a anaerobnímu metabolismu neprospívá. Zaznamenaná vysoká míra přežití použitých probiotik pak dokazuje, že zmrzlina je pro tyto kmeny příznivým nosičem (Maragiños et al., 2007).

Tabulka 5: Míra přežití mikroorganismů před a po zmražení probiotické zmrzliny (Maragiños et al., 2007)

Mikroorganismy	CPM [KTJ/g]		[%]
	Před zmrazením	Po zmrazení	Míra přežití
La-5	$1,7 \times 10^7$	$4,0 \times 10^6$	91,3
Bb-12	$3,7 \times 10^7$	$6,9 \times 10^6$	90,1
AB směs	$4,4 \times 10^7$	$6,4 \times 10^6$	89,1

3.2.3.2 Vliv průchodu mraženého krému trávicím traktem na vitalitu probiotik

Vhodný výběr probiotických kultur do mražených krémů je důležitý i z hlediska jejich přežití a stability během průchodu produktu gastrointestinálním traktem. Vystavení probiotických mikroorganismů trávicím procesům patří mezi významné faktory k určení kvality probiotických zmrzlin. Již v prvním okamžiku, kdy se dostane tento typ výrobku ke zpracování v ústech, dochází k jeho roztavení a smísení se slinami obsahujícími α -amylázu, která usnadňuje rozpad složitých sacharidů a tuků. Z toho vyplývá, že přítomné bakteriální buňky (s výjimkou zapouzdřených probiotik) jsou okamžitě vystaveny nepříznivým podmínkám trávicího traktu (Stokes et al., 2013). Průchod mraženého krému žaludkem se stává kritickou fází, během níž může docházet k významné modulaci (většinou negativní) probiotických benefitů produktu pro jeho konzumenta. Kyselé pH a složení žaludečních šťáv totiž často významně snižují životaschopnost bakterií. Po gastrické fázi vstupuje trávenina do tenkého střeva, kde je kyselost prostředí (pH duodena je 6,8, ilea 7,5) a rychlost průchodu (3 - 8 h) variabilní (Cook et al., 2012). V tenkém střevě nejtoxičtější na probiotické mikroorganismy působí žlučové soli, které pocházejí ze žlučníku. Soli žlučových kyselin mohou změnit uspořádání proteinů buněčných membrán, a tím vyvolat denaturaci bílkovin (Li, 2012).

Probiotické kultury mohou být do mražených krémů přidávány dvěma způsoby. Prvním je přímé zaočkování pasterované směsi, druhým pak použití mléka jako substrátu pro fermentaci (výroba mraženého jogurtu). U druhého postupu musí být pečlivě kontrolována hodnota pH v průběhu fermentačního procesu a také teplota během skladování. Probiotické mikroorganismy se totiž vyznačují vysokou citlivostí na nízkou aktivní kyselost růstového média (pH 4,0 – 4,5), která může mít negativní účinky na senzorické vlastnosti produktu. Z tohoto důvodu se kysání obvykle zastavuje v rozmezí pH 5,0 – 5,5 (Başyğit et al., 2006; Vardar et Öksüz, 2007). Odolnost probiotických mikroorganismů vůči působení nízké aktivní kyselosti obecně závisí na jejich druhu, například bifidobakterie bývají citlivější

než laktobacily (Tamime et al., 2005). Pro mnoho kmenů probiotických bakterií je také charakteristická nižší schopnost růstu (pomalejší proces fermentace) a rychlá ztráta životaschopnosti buněk při skladování výrobků za teplot nižších než -20°C (Naidu et al., 1999).

Ve studii Başığita a kol. (2006) bylo hodnoceno pět izolátů probiotik (*Lactobacillus acidophilus* AB5-18, *L. acidophilus* AK4-14, *Lactobacillus agilis* AA17-73, *L. agilis* AC18-88 a *Lactobacillus rhamnosus* AB20-100) z hlediska jejich rezistence vůči nízké aktivní kyselosti růstového média a přítomnosti žlučových solí. Původní hodnota pH u vzorků zmrzliny se pohybovala okolo 5,0 – 5,5, po 28 dnech skladován při teplotě 7 °C se pH snížilo na 3,5. Odolnost kmenů ke kyselým podmínkám byla zkoumána při sníženém pH za teploty -20 °C po dobu 6 měsíců. Pro výzkum zvolili 0,30% koncentraci žlučových kyselin, které nechali působit 3 h na živé organismy inkubované při teplotě 37 °C po dobu 48 h. Výsledky této práce ukazují, že všech pět vybraných kmenů je vůči nízkému pH rezistentní, podobná odolnost se projevila i v případě působení solí žlučových kyselin (Tabulka 6).

Tabulka 6: Rezistence probiotických bakterií vůči nízkému pH a solím žlučových kyselin (Başığit et al., 2006)

Kmen	pH 3,5		Soli žlučových kyselin	
	CPM ₀ [log KTJ/g]	CPM ₆ [log KTJ/g]	CPM ₀ [log KTJ/g]	CPM ₆ [log KTJ/g]
AB5-18	6,53	6,57	6,83	7,04
AK4-14	5,30	6,30	7,14	7,21
AA17-73	6,75	6,86	7,17	7,63
AC18-88	5,69	5,91	6,93	7,02
AB20-100	6,21	6,29	6,17	6,14

3.2.3.3 Vliv prebiotik na vitalitu probiotických bakterií

Prebiotika, tedy složky podporující růst, aktivitu a životaschopnost probiotických bakterií jsou zařazovány do výroby funkčních mražených krémů kvůli schopnosti zvyšovat stabilitu probiotických kultur. Vhodně zvolená prebiotika mimo to také mohou snižovat obsah tuku v produktech. Mezi náhražky tuku s probiotickým účinkem jsou řazeny například inulin a oligofruktóza. Obě látky mají strukturu podobnou sladidlům (Ohmes et al., 2008).

Vliv aplikace různých druhů prebiotik na životaschopnost probiotických bakterií v mražených krémech byl zkoumán v řadě studií. Práce Akalina a kol. (2008) se zabývala

právě využitím inulinu a oligofruktózy a jejich účinku na složení, kyselost, reologické a externí vlastnosti a počet mikroorganismů v probiotické zmrzlině. Jako standard byla zvolena běžná receptura. Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce 7.

Tabulka 7: Vliv přídavku probiotik, inulinu a oligofruktózy na vlastnosti mraženého krému (Akalin et al., 2008)

Vzorek	Výrobní směs		Zmrzlina				
	pH	Zdánlivá viskozita	Sušina [% hm.]	Tuk [% hm.]	Kyselina mléčná [% hm.]	Nášleh [% obj.]	pH
Standard	6,90	1,76	33,38	4,00	0,14	23,60	6,90
Přídavek probiotik	5,52	2,68	33,42	4,00	0,51	27,60	5,45
Přídavek probiotik a inulinu	5,47	3,91	33,49	4,10	0,52	50,60	5,35
Přídavek probiotik a oligofruktózy	5,52	3,35	33,47	4,10	0,51	31,70	5,45

Jak je vidět v tabulce 7 u standardu bylo zjištěno nejvyšší pH a nejnižší obsah kyseliny mléčné. Aktivní kyselost klesala a množství kyseliny mléčné rostlo s přídavkem probiotických mikroorganismů a prebiotik. Jejich přídavek také zvýšil obsah sušiny a nášleh a pozitivně ovlivnil viskozitu díky poklesu pH a zejména hydrokoloidní povaze prebiotických složek, jež mají schopnost vázat vodu.

Z texturních vlastností se dále sledovaly pevnost a tavitelnost vzorků. Pevnost byla měřena vpichovou metodou, tavitelnost odkapem po dobu 90 min při teplotě 20 °C. Zjistilo se, že všechny probiotické mražené krémy měly pevnější texturu než standard. Po přidání oligofruktózy nebo inulinu se navíc pevnost i tavitelnost ještě zvýšily. To lze vysvětlit schopností inulinu a oligofruktózy zamezit rekrystalizaci ledových krystalů, k níž může docházet během skladování díky kolísání teploty (menší krystaly jsou citlivější na teplotní kolísání než větší). Při tvrdnutí zmrzliny se krystaly ledu zvětšují v průměru o 30 - 40 %. Inulin má také želírovací vlastnosti, které zlepšují konzistenci směsi a tím zpomalují dobu tání zmrzliny (Akalin et al., 2008).

V jedné studii (Akalin et al., 2008), kde byla zkoumána životaschopnost probiotických mikroorganismů ve zmrzlině během skladování, byly vzorky probiotických mražených krémů inokulovány v případě *Lactobacillus acidophilus* u vzorku probiotická zmrzlina (P) 7,74, probiotická zmrzlina s oligofruktózou (PO) 8,44 a probiotická zmrzlina s inulinem (PI) 8,24 log KTJ/g a *Bifidobacterium animalis* u vzorku probiotická zmrzlina (P) 7,58, probiotická zmrzlina s oligofruktózou (PO) 8,49 a probiotická zmrzlina s inulinem (PI)

8,12 log KTJ/g. Z údajů uvedených v tabulce 8 vyplývá, že se počet všech probiotických rodů bakterií snížil během skladování v průměru o 1,5 – 2 log KTJ/g.

Tabulka 8: Stanovení životaschopnosti jednotlivých probiotických mikroorganismů (Akalin et al., 2008)

Vzorek	Délka skladování [dny]				
	1	30	60	90	Průměr
<i>Lactobacillus acidophilus</i>					
Probiotická zmrzlina (P)	5,98	5,53	5,02	5,13	5,41
Probiotická zmrzlina s oligofruktosou (PO)	6,21	5,77	5,79	5,70	5,87
Probiotická zmrzlina s inulinem (PI)	6,00	5,47	5,24	5,12	5,46
<i>Bifidobacterium animalis</i>					
Probiotická zmrzlina (P)	6,27	5,97	5,93	5,94	6,03
Probiotická zmrzlina s oligofruktosou (PO)	6,60	6,40	6,45	6,25	6,43
Probiotická zmrzlina s inulinem (PI)	5,96	5,36	5,51	5,47	5,57

Pokles počtu životaschopných buněk byl způsoben pravděpodobně jejich poškozením a následnou smrtí v důsledku mražení. Na snížené množství bakterií má nejspíše vliv také vysoký obsah kyslíku ve výrobku, který snižuje životaschopnost buněk, stejně tak mechanický stres při výrobním procesu jako je míchání a šlehání, jež mění strukturu směsi a tím ovlivňuje přežití bakterií. Dále bylo pozorováno, že po přidání oligofruktózy se životaschopnost bakterií ještě zlepšila.

3.2.3.4 Vliv mikroenkapsulace na vitalitu probiotických bakterií

Mikroenkapsulací rozumíme proces, během kterého jsou cenné složky potravin (probiotické bakterie, biologicky aktivní látky) zapouzdřeny v jejich nosiči. Tento proces tedy může poskytnout fyzikální ochranu bakteriální buňky před účinky nepřátelského prostředí a tím vést ke zlepšení její životaschopnosti a přežití. Pro mikroenkapsulaci probiotik byly s výhodou využity hydrokoloidní nosiče jako například alginát a karagenan (Sheu et Marshall, 1993). Vlivy mikroenkapsulace na přežití probiotických mikroorganismů v matrici mraženého krému se zabývali i Homayouni a kol. (2008). Vybrané kultury (*Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium lactis*) byly zapouzdřeny do alginátových kapslí tvořených směsí 2% alginátu s destilovanou vodou s obsahem 2 % rezistentního škrobu a 0,1 % 18 h rostoucích kultur.

Mikroenkapsulace byla provedena emulgací v řepkovém oleji, který obsahoval 0,2 % lecitinu. Po přidání 0,1 M chloridu vápenatého byla směs ponechána 30 min v klidu, aby došlo k oddělení kapslí od vrstvy na spodu nádoby usazeného chloridu vápenatého. Vrstva oleje byla odčerpána a kapsle se zbytkem roztoku chloridu vápenatého byly očištěny 0,9% solným roztokem s obsahem 5 % glycerolu. Zjistilo se, že velikost kapslí alginátu vápenatého přidávaných do mražených mléčných krémů by se měla průměrně pohybovat okolo 20 - 30 μm . Větší kapky by mohly způsobovat hrubou strukturu produktu, a menší by naopak nedostatečně ochránily bakteriální buňky (Homayouni et al., 2008).

Homayouni a kol. (2008) charakterizovali vliv mikroenkapsulace na celkem pěti vzorcích zmrzliny (A - probiotická zmrzlina s kmenem *Lactobacillus casei*; B - probiotická zmrzlina se zapouzdřeným kmenem *L. casei*; C - probiotická zmrzlina s volnou *Bifidobacterium lactis*; D - probiotická zmrzlina se zapouzdřenou *B. lactis*; E - kontrolní receptura bez probiotik). Jednotlivé produkty byly podrobeny sensorické analýze, během které proběhlo hodnocení celkového vzhledu, barvy, chuti a struktury. Z výsledků uvedených v tabulce 9 vyplývá, že žádný mražený krém se ve vybraných atributech nejevil jako výrazně horší než kontrolní vzorek a hodnotitelé nezaznamenali defekty typu nevýrazné barvy nebo chuti, drobnosti, písčité konzistence apod.

Tabulka 9: Sensorické vlastnosti synbiotických mražených krémů (Homayouni et al., 2008)

Vzorek	Celkový vzhled	Barva	Chuť	Struktura
(Stupnice)	(1-20)	(1-5)	(1-10)	(1-5)
A	18,13	4,45	9,15	4,53
B	18,05	4,40	9,10	4,55
C	18,11	4,42	9,13	4,56
D	18,11	4,43	9,12	4,56
E	18,08	4,40	9,14	4,54

Životaschopnost probiotických bakterií byla sledována po dobu 180 dnů při skladovací teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Z výsledků uvedených v tabulce 10 vyplývá, že mikroenkapsulace měla pozitivní vliv na přežití vybraných probiotických mikroorganismů. Průměrně se jejich životaschopnost zapouzdřením zvýšila o 30 %. Nejlepších výsledků bylo dosaženo v případě zapouzdření *Bifidobacterium lactis*. Množství zapouzdřených životaschopných buněk na konci skladování (řádově 10^9 KTJ/g) bylo vyšší, než doporučuje Mezinárodní mlékařská federace (10^7 KTJ/g), což vypovídá o značné úspěšnosti této technologie.

Nejpravděpodobnějšími příčinami poškození a smrti bakteriálních buněk byla zřejmě nerovnoměrná distribuce velikosti ledových krystalů a dření zmrzlinové směsi přes válec votátoru, který má na své stěně čepele.

Tabulka 10: Vliv mikroenkapsulace do alginátu vápenatého na přežití probiotik v matrici mraženého krému během skladování (Homayouni et al., 2008)

Skladování [dny]	Počet živých buněk [KTJ/g]			
	<i>Lactobacillus casei</i>		<i>Bifidobacterium lactis</i>	
	volná	zapouzdřená	volná	zapouzdřená
0	$9,4 \times 10^9$	$5,8 \times 10^9$	$8,2 \times 10^9$	$6,1 \times 10^9$
1	$5,1 \times 10^9$	$4,8 \times 10^9$	$4,1 \times 10^9$	$4,8 \times 10^9$
30	$2,2 \times 10^9$	$3,1 \times 10^9$	$3,3 \times 10^9$	$4,2 \times 10^9$
60	$3,6 \times 10^8$	$6,4 \times 10^8$	$7,1 \times 10^8$	$3,0 \times 10^9$
90	$2,9 \times 10^8$	$5,8 \times 10^8$	$5,2 \times 10^8$	$2,5 \times 10^9$
120	$5,2 \times 10^7$	$4,7 \times 10^8$	$4,7 \times 10^8$	$1,9 \times 10^9$
150	$3,0 \times 10^7$	$3,7 \times 10^8$	$3,5 \times 10^7$	$1,7 \times 10^9$
180	$4,2 \times 10^6$	$2,5 \times 10^8$	$1,1 \times 10^7$	$1,2 \times 10^9$

3.2.3.5 Vliv inkorporace probiotik do ochucujících složek na jejich vitalitu

Jednou z dalších strategií vedoucích ke zlepšení životaschopnosti probiotik je začlenění těchto mikroorganismů do složek, které se běžně používají k ochucování zmrzlin a zároveň jsou dobrými nosiči probiotických bakterií. Mezi typické příklady patří čokoláda, která bývá považována za velmi dobrý nosič probiotik zajišťující jejich vyšší stabilitu při skladování (Possemiers et al., 2010).

Pro výzkum Champagneho a kol. (2015) byly vybrány 4 vzorky lyofilizovaných probiotických kultur s obsahem volných nebo mikroenkapsulovaných buněk *Lactobacillus rhamnosus* R0011 a *Bifidobacterium longum* R0175 o různé koncentraci: *L. rhamnosus* R0011 volný $6,6 \times 10^{10}$ KTJ/g, zapouzdřený $2,8 \times 10^{10}$ KTJ/g, *B. longum* R0175 volné $3,4 \times 10^{11}$ KTJ/g a zapouzdřené $2,4 \times 10^{10}$ KTJ/g. Kultury byly přidány k předem roztavené (při 40 °C) běžně komerčně dostupné čokoládě Côte d'Or s 86% obsahem kaka. Vzniklá směs byla temperována za stálého míchání při teplotě 42 °C a následně nakapána

na nerezovou desku, kde tuhla při teplotě 4 °C. Z takto připravené hmoty byly naškrábány čokoládové lupínky.

Autoři následně provedli 2 série testů. V prvním případě byly do zmrzlinové směsi přidány před zmrazením pouze oba typy kultury *Lactobacillus rhamnosus* R0011, v druhém pokusu byly k výrobní směsi před zmrazením a po mírném ztuhnutí při -8 °C doplněny kultury inkorporované do čokoládových lupínků. Všechny připravené vzorky byly skladovány v mrazicím boxu při teplotě -16 až -20 °C po dobu 24 týdnů (Champagne et al., 2015).

Vitalita probiotických mikroorganismů byla charakterizována v závislosti na způsobu jejich inokulace do matrice mraženého krému. Z obchodního hlediska je nevýhodné používat kmeny, které během výroby a skladování produktů ztrácí více než 1 log KTJ/g životaschopných buněk. Z výsledků, uvedených v tabulce 11 je patrné, že po začlenění probiotických kultur do výrobní směsi došlo vždy k mírnému poklesu jejich vitality, v průměru o 0,15 log KTJ/g. V souladu s předchozími studiemi (Alamprese et al., 2005; Akin, 2005), v nichž byl zaznamenán pokles CPM až o 0,2 – 1 log KTJ/g, však došlo k nejvyššímu snížení vitality bakterií, pokud byly inokulovány před procesem zmrazování. Autoři také pozorovali závislost životaschopnosti vybraných probiotik na citlivosti konkrétního druhu bakterie. Kmen *Bifidobacterium longum* R0175 vykázal během zpracování oproti *Lactobacillus rhamnosus* R0011 vyšší ztráty. Vzorky obsahující *Bifidobacterium longum* R0175 byly skladovány při teplotě domácích mrazniček (-16 °C). Při této teplotě dosáhl pokles vitality daného mikroorganismu až 3 log KTJ/g. Oproti tomu *L. rhamnosus* R0011 prokázal, že je poměrně robustní probiotickou kulturou, neboť celkový počet jeho volných buněk byl v průběhu zpracování zachován minimálně z 65 %. Ještě lepších výsledků bylo dosaženo se zapouzdřeným kmenem. Proces mikroenkapsulace je však finančně náročnější než použití volné formy, takže cena finálního výrobku by se zhruba zdvojnásobila.

Tabulka 11: Vliv způsobu inokulace vybraných probiotických kultur do matrice zmrzliny na jejich vitalitu (Champagne et al., 2015)

Kultura	Forma kultury	Inokulace	CPM* [log KTJ/g]
<i>L. rhamnosus</i> R0011	Volná	Před zmrazováním	-0,52
	Zapouzdřená		-0,31
<i>L. rhamnosus</i> R0011	Volná	Během zmrazování (-8 °C)	-0,45
	Zapouzdřená		0,06
	Volná v čokoládě		-0,13
	Zapouzdřená v čokoládě		-0,01
<i>B. longum</i> R0175	Volná	Během zmrazování (-8 °C)	-1,08
	Zapouzdřená		-0,48
	Volná v čokoládě		-0,19
	Zapouzdřená v čokoládě		0,12

* odchylka od průměrné ztráty životaschopnosti -0,15 log KTJ/g

Inkorporace vybraných probiotických bakterií do čokolády měla na jejich životaschopnost obecně pozitivní vliv (Tabulka 11). V případě *L. rhamnosus* R0011 začleněného ve volné formě se sice během skladování vzorků při konstantní teplotě -20 °C projevila značná nestabilita buněk, avšak použitím mikroenkapsulace se jejich ztráty významně snížily. Inkorporace *B. longum* R0175 do této ochucující složky pak jeho stabilitu zřetelně zlepšila (Champagne et al., 2015).

3.2.3.6 Vliv obalových materiálů na vitalitu probiotických bakterií

Defekty organoleptických, ale i fyzikálně-chemických (například pH) vlastností probiotických zmrzlin mohou vznikat také typem použitých obalových materiálů a jejich interakcí s vlastním výrobkem i vnějším okolím.

Vhodně zvolený obal by měl především chránit mražený krém před negativními vlivy z vnějšího prostředí a v případě obsahu probiotik i podporovat zachování jejich přežití po dobu skladování. Životaschopnost probiotických mikroorganismů mohou ovlivnit různé aspekty obalových materiálů, jako je jejich druh a tloušťka, propustnost světla, respektive UV záření, a plynů (zejména kyslíku, vodní páry, oxidu uhličitého). Významný je též typ použité balicí techniky (vakuum, modifikovaná atmosféra, aktivní obalové systémy). Většina mléčných probiotických výrobků je bohužel v současnosti na trhu prodávána v plastových obalech s vysokou propustností pro kyslík, což představuje vážný problém pro růst

a životaschopnost převážně striktně anaerobních a mikroaerofilních bakterií (Jayamanne et Adams, 2004; Korbekandi et al., 2011).

Problematikou vlivu obalového materiálu na přežití probiotik ve zmrzlině se zabývali i Ranadheera a kol. (2013). Ve své studii připravili 3 druhy mražených krémů za použití kmenů *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 a *Propionibacterium jensenii* 702. Tyto produkty byly nejprve charakterizovány ztrátou vitality kultur během výrobního procesu. Autoři zjistili, že během zmrazování došlo k poklesu životaschopnosti všech typů bakterií. *P. jensenii* 702 však prokázalo značnou rezistenci, neboť jeho míra přežití byla 88,72 %. V případě *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 přežilo 66,46 % buněk a u kmene *L. acidophilus* La-5 pouze 56,14 % buněk. Každý vzorek byl následně zabalen do polypropylenové, polyetylenové nebo skleněné nádoby a skladován při teplotě -20 °C po dobu 12 týdnů.

Jak již bylo zmíněno výše, pro výrobu probiotických zmrzlin běžně používané kultury jsou převážně striktně anaerobní (bifidobakterie) až mikroaerofilní (ostatní bakterie mléčného kvašení). Aby se tedy zlepšila jejich vitalita v matrici výrobku, je vhodné vybírat obaly nepropustné pro kyslík. Tento plyn působí na buňky toxicky a může vyvolat jejich smrt během skladování, neboť jeho přítomnost vyvolává tvorbu peroxidu vodíku (Shah, 2000). Z výsledků studie Cruz a kol. (2007) o vlivu obalového materiálu na životaschopnost vybraných probiotických kmenů vyplývá, že vyššího zachování buněk bylo dosaženo při použití skleněných obalů. Ty mají v porovnání s plastovými velmi nízkou propustnost pro kyslík. Tvorba peroxidu vodíku za aerobních podmínek, která je toxická zejména pro bifidobakterie, může být potlačena přítomností bifidogenních stimulatorů růstu produkovaných buňkami *Probionibacterium jensenii* (Champagne et al., 2005), z toho vyplývá, že použití *P. jensenii* 702 jako co-kultury (různé typy buněk pěstovaných dohromady) k *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 by mohlo pomoci zachovat dostatečné množství vitálních buněk bifidobakterií.

Dalším důležitým faktorem modulujícím přežití probiotik v matrici mraženého krému je teplota skladování. I když bude obalový materiál dobře propustný pro kyslík, nízká teplota skladování může minimalizovat biochemické reakce přítomných mikroorganismů a tím neutralizovat negativní účinky tohoto typu obalu. Získané výsledky prokázaly, že i použití polyetylenu a polypropylenu významně nesnížilo životaschopnost vybraných probiotických kultur a jsou tedy vhodným obalovým materiálem pro tento typ produktu. Další výhodou plastových obalů oproti skleněným je jejich nižší cena (Ranadheera et al., 2013).

3.3 Probiotický mražený krém

Probiotickou zmrzlinou rozumíme částečně okyselený mražený mléčný dezert strukturně se podobající tradičnímu mraženému krému. Při výrobě takového dezertu se okyselení provádí buď pomocí přímého naočkování směsi probiotickou kulturou (bifidobakterie, *Lactobacillus acidophilus*, *johnsonii*, *Lactococcus lactis*, *cremoris* atd.), nebo smícháním zmrzlinové směsi s acidofilním mlékem či probiotickým jogurtem (Alamprese et al., 2002). Při výběru mikroorganismů vhodných pro přípravu probiotických zmrzlin je důležité dodržovat následující požadavky společné všem probiotickým výrobkům: kmen se musí běžně vyskytovat v lidském střevním traktu, musí být schopen přežít průchod jeho horní částí ve velkých počtech, kolonizovat střevo a musí mít příznivý účinek na zdraví člověka. To znamená, že by měl být odolný vůči kyselému pH žaludku, solím žlučových kyselin, enzymům přítomným ve střevě a toxicitě metabolitů produkovaných během trávení (Blum et al., 1999; Turgut et al., 2009). Navíc musí být tyto bakterie odolné vůči technologickým krokům výroby mraženého krému a skladovacím podmínkám (Maragiños et al., 2007; Mohammadi et al., 2011).

Běžné složky receptury mražených krémů, jako jsou cukry, polyoly, oligosacharidy a proteiny, modifikující koligativní vlastnosti zmrzlinové směsi (zvýšení bodu varu, snížení bodu tuhnutí, zvýšení osmotického tlaku) mohou přímo nebo nepřímo ovlivňovat kryokonzervaci probiotik. Kryokonzervace je definována jako metoda zmrazování mikroorganismů, které bývají postupně ochlazovány až na teplotu -196 °C za použití kryoprotektivních látek (například manitolu, glycerolu, dimethylsulfoxidu, propandiolu). Konkrétně polyoly jsou považovány za účinné sloučeniny pro snížení poškození buněk během krystalizace vody, tedy procesu mražení, avšak jejich ochrana bakterií v průběhu skladování za mrazírenských teplot je pravděpodobně horší (Pehkonen et al., 2008; Santivarangkna et al., 2008).

3.3.1 Senzorické vlastnosti probiotického mraženého krému

Obecně lze říci, že mražené krémy s obsahem probiotických kultur vykazují méně intenzivní vůni a mají chuť po jogurtu v porovnání s produkty, které jsou vyráběny tradičně nebo s použitím kultur mikroorganismů bez probiotického účinku. Proto je výroba probiotických zmrzlin s dobrými smyslovými vlastnostmi obtížná a vyžaduje lepší technické zpracování (Aryana et al., 2006; Davidson et al., 2000). Vardar et Öksüz (2007) uvádějí, že jednou z možností může být i přídavek velmi kyselého ovoce, které umožňuje zamaskovat

kyselou chuť vznikající metabolickou činností probiotických bakterií. Zaznamenali, že jahodová příchuť výrobku fermentovaného kmenem *Lactobacillus acidophilus* vykazovala dobré sensorické přijetí (Vardar et Öksüz, 2007).

Probiotika, pokud jsou přidávána ve velkém množství, nemusí však vždy změnit sensorické vlastnosti výrobku. Bakterie mléčného kvašení rodů *Lactobacillus* a *Streptococcus* (například *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* a *S. thermophilus*) patří do skupiny homofermentativních mikroorganismů a jejich majoritním produktem zpracování cukrů je kyselina mléčná. Naproti tomu heterofermentativní bifidobakterie produkují kromě kyseliny mléčné také kyselinu octovou v poměru 2:3. Chuť a vůně kyseliny octové pak může způsobit nežádoucí typickou pachut' mraženého krému, jež bývá nazývána „probiotická chuť“. Z tohoto důvodu jsou při produkci probiotických zmrzlin často používány látky pro úpravu chuti, aby minimalizovaly nebo celkově odstranily popsanou vadu (Arai et al., 1996; Champagne et al., 2005).

Na druhou stranu bylo zjištěno, že začlenění probiotických mikroorganismů do receptury může zlepšit organoleptické a texturní vlastnosti mraženého krému, kupříkladu generovat osvěžující a příjemně kyselou chuť, zvýšit viskozitu a odolnost vůči tavení a snížit tvorbu velkých ledových krystalů vyvolávajících hrubost a hrudkovitost produktu. Při přidání probiotik před zmrazením směsi se neočekávají negativní vlivy na chuť konečného produktu, probiotické buňky v této fázi nevyvíjí žádnou metabolickou aktivitu vedoucí k tvorbě těkavých a netěkavých chuťových látek (Christiansen et al., 1996).

Z výše uvedeného vyplývá, že spotřebitelské testování probiotických zmrzlin patří mezi nejpodstatnější kroky při výrobě těchto dezertů. Chuť je pro spotřebitele hlavním ukazatelem pro výběr potravin, zdravotní užitky bývají až na druhém místě. Provedené studie ukázaly, že konzumenti nemají velký zájem o funkční výrobky, pokud jejich přidaná hodnota generuje nepříjemné organoleptické vlastnosti, a to i v případě obsahu zdraví prospěšných látek. Obecně platí, že přidání probiotik do mražených krémů ovlivňuje hlavně chuť a vůni, kdežto začlenění prebiotických látek má vliv na chuť a strukturu (Cruz et al., 2010; Hagen et Narvhus, 1999). Salem a kol. (2005) testovali sensorické vlastnosti probiotických zmrzlin obohacených o kmeny *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium bifidum*. Z výsledků vyplynulo, že vzorky s *L. reuteri* a *B. bifidum* byly nejlépe hodnoceny z hlediska své barvy, chuti, struktury a tavitelnosti. Naopak nejméně preferovaným byl produkt obsahující *L. rhamnosus*, který získal nejnižší hodnocení pro příjemnost chuti (Salem et al., 2005).

3.3.1.1 Vliv mléčného tuku a hydrokoloidů na vlastnosti probiotické zmrzliny

Mléčný tuk má rozhodující vliv na vnímání organoleptické kvality mražených krémů, zejména na parametry jako jsou plnost, krémovost a tučnost výrobků. Zvýšení obsahu této složky v receptuře zmrzliny může být doprovázeno nárůstem krémovosti a mastnosti a poklesem tuhosti, hrubosti a vodnatosti produktu. Dochází také k intenzifikaci sladké chuti a zároveň ke snížení hořkosti a trpkosti (de Wijk et al., 2006; Muir et al., 1997). Během šlehání a zmrazování výrobní směsi dochází k částečnému narušování tukových kuliček, díky čemuž je vytvářena síť volných tukových krystalů, která stabilizuje vzduchové bubliny. Z toho vyplývá, že vysoký obsah tuku v mražených krémech podporuje vývoj adekvátně hladké a pěnové struktury (Goff, 1997). Soukoulis a kol. (2010) charakterizovali ve své studii vliv množství mléčného tuku na tavné vlastnosti probiotické zmrzliny (její vzhled a pěnivost struktury během tání). Zaznamenali, že vyšší koncentrace mléčného tuku zlepšovala jakostní vlastnosti roztaveného výrobku (vzhled, disperzní stabilitu) díky navýšení jeho viskozity (Soukoulis et al., 2010).

Hydrokoloidy působí na texturu a chuť probiotických mražených krémů různými mechanismy, včetně vazby vody, zvyšování viskozity, emulgace, stabilizace vzduchových bublin a zachycení těkavých aromatických sloučenin (Cook, 2006). Mezi látky tohoto typu, jež jsou při výrobě zmrzlin často používány, patří alginát sodný, guarová guma a xanthan. Provedenými studiemi bylo zjištěno, že aplikace alginátu sodného neměla na kvalitu chuti probiotických mražených krémů vliv. Oproti tomu využití xanthanu zintenzivnilo sladkou a vanilkovou chuť a zároveň potlačilo kyselost a trpkost produktu, které byly způsobeny činností probiotických mikroorganismů. Guarová guma zase významně snížila u hodnocených vzorků vjem vodnatosti a tučnosti (Soukoulis et Tzia, 2008). Z hlediska potřebné koncentrace hydrokoloidů bylo potvrzeno, že přídavek 0,3 - 0,4 % hm. je dostatečný k zabránění vývoje hrubosti a tvrdosti probiotické zmrzliny. Střední obsah těchto látek je také lepší pro intenzitu krémovitosti výrobků. Při příliš vysokém množství hydrokoloidů naopak dochází k produkci mimořádně hustých a lepkavých matic, což vede ke ztrátě pocitu krémovitosti při jejich požívání (Soukoulis et al., 2010; de Wijk et al., 2006).

3.3.1.2 Vliv náslehu na senzorické vlastnosti probiotického mraženého krému

Začlenění vzduchu neboli náslehu představuje procentuální navýšení objemu mraženého krému ve vztahu k původnímu množství tekuté výrobní směsi. Náslehu má zásadní vliv na fyzikální a smyslové vlastnosti zmrzliny. Tento technologický proces umožňuje vytvořit

lehkou, hladkou a nadýchanou texturu výrobku. Nedostatečným začleněním vzduchu do matrice pak vzniká těžký a mokry produkt (Alamprese et al., 2011; Sofjan et Hartel, 2004).

Nášleh může vyvolat vznik senzorických defektů probiotických mražených krémů dvěma základními mechanismy. Prvním je oxidační stres negativně ovlivňující životaschopnost probiotických mikroorganismů z důvodu jejich anaerobního až mikroaerofilního vztahu ke kyslíku, který se vyvinul díky povaze jejich původního životního prostředí, kterým je gastrointestinální trakt. Tato problematika byla podrobně popsána v kap. 3.2.2.1. Druhým mechanismem jsou oxidační procesy, k nimž dochází genezí reaktivních forem kyslíku, jako je O_2^- (superoxidový aniont), OH^- (hydroxylový aniont) a $H_2O_2^-$ (peroxidový aniont). Ty vykazují vůči probiotickým bakteriím určitou toxicitou, neboť degradují základní buněčné složky (proteiny, lipidy a nukleové kyseliny). Navíc reagují též s tuky přítomnými v receptuře výrobku a způsobují jeho oxidaci (Van de Guchte et al., 2012).

Citlivost probiotik k přítomnosti kyslíku závisí na použitém druhu a velikosti inokula. Stejný počet bifidobakterií je například citlivější než laktobacilů (konkrétně kmene *Lactobacillus acidophilus*). Výběr vhodné velikosti inokula, která bude vůči kyslíku rezistentní, má velký význam pro udržení životaschopnosti kultury a požadovaného počtu buněk, jež zajistí adekvátní probiotický účinek po celý výrobní proces a dobu trvanlivosti zmrzliny (Cruz et al, 2009). Alampres a kol. (2005), kteří tuto problematiku také studovali, uvedli, že při začlenění *L. rhamnosus* GG v množství 1×10^8 KTJ/g do matrice mraženého krému se CPM neměnil ani vlivem množství inkorporovaného vzduchu, ani táním produktu. Rozdílná intenzita nášlehu také souvisí s kyselinotvornou kapacitou probiotických mikroorganismů, která ovlivňuje pH výrobku, strukturu proteinů (srážení v isoelektrickém bodě, tedy kyselou koagulaci) a zároveň bod mrznutí výrobní směsi (Salem et al., 2005).

Vliv nášlehu na senzorické vlastnosti vanilkové probiotické zmrzliny (s obsahem *Lactobacillus acidophilus*) sledovali mezi jinými i Ferraz a kol. (2012). Spotřebitelé porovnávali vzorky lišící se množstvím inkorporovaného vzduchu, 45 % obj. (P45), 60 % obj. (P60) a 90 % obj. (P90), s komerčním výrobkem (SC, nášleh 78 % obj.) pomocí 9ti bodové nedělené hédonické stupnice. Hodnocenými parametry byly celkový vzhled, aroma, chuť, textura a celková přijatelnost. Z výsledků uvedených v tabulce 12 vyplývá, že všechny probiotické produkty se vyznačovaly celkově nižší atraktivitou než komerční vzorek, který byl pro spotřebitele přijatelnější. Zvyšující se množství inkorporovaného vzduchu pak mělo pozitivní vliv na chuť a texturu probiotického mraženého krému (Ferraz et al., 2012).

Tabulka 12: Viv nášlehu na sensorické vlastnosti probiotických zmrzlin (Ferraz et al., 2012)

Vzorek	Vzhled	Aroma	Chuť	Textura	Celková přijatelnost
P45	7,65	6,99	7,23	7,35	7,34
P60	7,93	6,83	7,25	7,41	7,07
P90	7,52	7,34	7,68	7,49	7,63
SC	7,36	7,55	7,66	7,02	7,47

Procento nášlehu může být ovlivněno i druhem přidané kultury. Salem a kol. (2005), kteří se ve své studii zabývali touto problematikou, dosáhli nejvyššího množství vzduchu u směsi obsahující *L. acidophilus* a *B. bifidum*, naopak nejnižší nášleh byl získán při použití stejného způsobu šlehání u vzorku obsahující *L. reuteri* (Salem et al., 2005). Akalin a Erişir (2008) nepozorovali významný vliv přídavku probiotických bakterií (*L. acidophilus* La-5 a *B. animalis* Bb-12) na množství vzduchu ve zmrzlině (Akalin et Erişir, 2008; Salem et al., 2005).

3.3.1.3 Vliv fenolických látek na sensorické vlastnosti probiotické zmrzliny

Fenolické sloučeniny jsou látky zejména rostlinného původu, které vykazují antioxidační vlastnosti. V rostlinách se nacházejí nejčastěji ve formě jednoduchých fenolů, kyseliny fenolové, antokyanů, flavonoidů a derivátů kyseliny hydroxyskořicové (Albayrak et al., 2010). Kyseliny fenolové jsou v běžných potravinách označovány jako hydroxybenzoáty (kyselina galová, elagová, hydroxybenzoová, protokatechinová a syringová). Kyselina galová patří mezi přírodní polyfenoly běžně obsažené v ovoci a zelenině. Kyselina elagová je primární produkt hydrolýzy elagitaninů nacházejících se v bobulovém ovoci, zejména v malinách, jahodách, ostružinách. Proanthokyany se nacházejí v semenech, květech a slupkách ovoce a zeleniny (Amakura et al., 2000, Sagdic et al., 2012)

Sagdic a kol. (2012) ve své studii zkoumali sensorické vlastnosti mražených krémů obohacených o probiotickou bakterii *Lactobacillus casei* a fenolické sloučeniny. Do výrobní směsi přidali jednotlivé extrakty z odmaštěných semínek hroznů a slupek granátového jablka a extrakty esenciálních olejů v množství 0,02 % kyseliny elagové (EA), 0,02 % kyseliny galové (GA), 0,03 % esenciálního oleje z máty peprné, 0,4 % extraktu ze slupky granátového jablka a 0,4 % extraktu ze semen hroznů. Sensorická analýza vzorků byla prováděna v 1. a 60. den po výrobě pomocí 10bodové stupnice, kde se hodnotila barva a vzhled, struktura a konzistence, chuť a vůně a celková přijatelnost. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 13.

Tabulka 13: Vliv přídavku fenolických látek na sensorické vlastnosti probiotických mražených krémů (Sagdic et al., 2012)

Skladování [dny]	1		60		1		60		1		60	
	Vzorek		Barva a vzhled		Struktura a konzistence		Chuť a vůně		Celková přijatelnost			
Kontrolní neprobiotická zmrzlina	7,3	7,9	7,5	7,3	8,1	7,3	7,4	7,1				
Kontrolní vzorek probiotická zmrzlina	8,5	8,0	8,1	7,7	8,1	7,7	8,3	7,5				
EA	8,0	7,8	7,9	7,1	7,9	7,2	7,8	7,3				
GA	7,6	7,8	7,8	7,4	7,5	7,7	7,5	7,2				
Esenciální olej z máty peprné	7,4	8,0	6,0	7,5	7,1	7,8	7,0	7,5				
Extrakt ze slupek granátového jablka	7,6	7,8	7,4	7,1	7,4	7,7	7,5	7,0				
Extrakt ze semen hroznů	7,4	7,4	7,4	7,5	7,4	7,8	7,5	7,3				

Z tabulky 13 je patrné, že celkově nejlépe hodnocenými výrobky byly probiotická zmrzlina a probiotická zmrzlina s přídavkem kyseliny elagové. U kontrolního vzorku obsahujícího pouze probiotickou kulturu došlo během skladování k nejvyššímu zhoršení barvy a vzhledu, oproti tomu největší zlepšení tohoto parametru během skladování bylo zaznamenáno u vzorku obsahujícího extrakt esenciálního oleje z máty peprné. U tohoto produktu také došlo během skladování k nejvýraznějšímu zlepšení struktury a konzistence. Obecně však lze říci, že se skladováním celková přijatelnost všech vzorků mimo mraženého krému s přídavkem esenciálního oleje z máty peprné snížila (Sagdic et al., 2012).

3.3.1.4 Vliv náhrady mléčných složek na vlastnosti probiotické zmrzliny

V zemích celého světa vzrůstá obliba trendu vegetariánství, proto také stoupá poptávka po probiotických produktech bez živočišných ingrediencí. Ve výrobě vegetariánských potravin s obsahem probiotik se nesmí používat nosiče a přísady živočišného původu. Jednou z nejobvyklejších náhražek mléčných složek jsou výrobky ze sóje ve formě sójového nápoje a dalších alternativ mléčných produktů (Beardsworth et Keil, 1992).

Na náhradu mléčných složek v matrici probiotické zmrzliny sójou se zaměřili například Heenan a kol. (2004), kteří studovali v tomto výrobku vitalitu probiotických mikroorganismů a jeho sensorickou akceptovatelnost. Pro svůj výzkum vybrali kmeny *Bifidobacterium lactis* BDBB2, *B. lactis* Bb-12, *Lactobacillus acidophilus* MJLA1, *L. paracasei* ssp. *paracasei*

Lp-01, *L. rhamnosus* 100-C a *Saccharomyces boulardii* 74012. Připravený sójový mražený krém byl skladován při teplotě -20 °C po dobu 28 týdnů. Počáteční CPM se pohyboval kolem standardního počtu buněk $10^7 - 10^8$ KTJ/g. CPM bifidobakterií i laktobacilů se v průběhu pokusu snížil o méně než 50 %. Kvasinková kultura *S. boulardii* 74012 pak byla méně stabilní a během prvních 10 týdnů skladování se její životaschopnost snížila téměř desetinásobně, pravděpodobně mimo jiné kvůli větší ploše povrchu kvasinkových buněk ve srovnání s bakteriálními a tím vyšší citlivosti na výrobní a skladovací proces.

Při senzoričtém hodnocení přijatelnosti probiotické sójové zmrzliny se 94 % respondentů shodlo, že všechny vzorky jsou dobře přijatelné a mají dostatečně atraktivní chuť. Nejméně preferovaným produktem po 28 týdnech skladování byl z důvodu nepříjemné pachutě výrobek s obsahem kvasinek. Autoři proto pro její další využití doporučili dodávat ji do mraženého krému ve formě mikrokapslí, čímž by mohly být negativní senzoričné vlastnosti zamaskovány a také by mohla být podpořena její životaschopnost. Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že matrice sójové zmrzliny je vhodným nosičem probiotických bakterií a tedy dobrým zdrojem těchto mikroorganismů pro osoby dodržující vegetariánský životní styl (Heenan et al., 2004).

3.3.1.5 Vliv obalových materiálů na smyslové vlastnosti probiotické zmrzliny

Vliv zvoleného obalu na senzoričné vlastnosti probiotického mraženého krému zkoumali i Ranadheera a kol. (2013). Design jejich experimentu je popsán v kapitole 3.2.3.6. Organoleptický profil výrobků hodnotilo celkem devětadvacet respondentů (19 mužů a 10 žen) po 1. a 12. týdnu skladování při teplotě -20 °C. Analýza vybraných parametrů (barva a vzhled, aroma, struktura, chuť, tání a celková přijatelnost) byla provedena pomocí kategoričké hédonické stupnice v rozsahu 1 – 9 (extrémně nelíbí – extrémně líbí). Výsledky uvedené v tabulce 14 ukazují, že obalové materiály nepůsobily na testované senzoričné vlastnosti příliš odlišně. Výjimku tvořila kvalita tání po prvním týdnu skladování, kdy zmrzlina uložená do skleněných nádob byla z hlediska této vlastnosti degustátory výrazně méně preferována. Tím bylo zjištěno, že obalové materiály také významně ovlivňují celkovou dobu tání mražených krémů. Zatímco délka tání zmrzliny uložené v plastových obalech se výrazně nelišila, celková doba tání vzorků uchovávaných ve skle byla podstatně vyšší. To by mohlo mít vliv na fyzickou strukturu mraženého krému, například na míru disproporcionace a koalescence vzduchových bublin, které mění míru nášlehu (Sofjan et Hartel, 2004) nebo na rekrystalizaci ledu (Akalın et Erisir, 2008), jež ovlivňuje mimo jiné

i tvrdost směsi. Z výsledků studie Ranadheera a kol. (2013) však nevyplývá, že by se zkoumané obalové materiály nápadně lišily ve svém působení na vzduchové bubliny a krystalovou strukturu zmrzliny. Proces zmrazování a prodloužení délky skladování může tedy příznivě působit na strukturu výrobku uloženého v různých plastových obalech, a tím zlepšit jeho organoleptické vlastnosti (Ranadheera et al., 2013).

Tabulka 14: Vliv obalových materiálů na sensorické vlastnosti probiotického mraženého krému (Ranadheera et al., 2013)

Vlastnost	Čas skladování [týden]	Polyetylen	Polypropylen	Sklo
Barva a vzhled	1	6,90	6,66	6,76
	12	7,24	7,14	7,07
Aroma	1	7,00	6,66	6,62
	12	7,10	6,86	6,59
Struktura	1	6,52	6,07	6,14
	12	7,17	7,03	6,83
Chuť	1	5,90	6,38	6,34
	12	6,69	6,83	6,79
Kvalita tání	1	7,03	6,86	6,10
	12	7,07	6,90	6,79
Celková přijatelnost	1	6,28	6,59	6,17
	12	6,86	6,83	6,69

Účinek obalu na aroma a chuť produktu může být ovlivněn jeho obsahem tuku. Tuk totiž v matrici zmrzliny často působí jako fixátor aroma a chuti, neboť díky převážně lipofilnímu charakteru sensoricky aktivních látek snižuje jejich vstřebávání do obalového materiálu. Proto vysoký obsah tuku v probiotickém mraženém krému mnohdy eliminuje vliv obalu na tyto důležité vlastnosti. Práce Ranadheera a kol. (2013) však prokázala, že vybrané obalové materiály výrazně neměnily sensorický profil vzorků (Tabulka 14). Celková přijatelnost výrobků spotřebiteli byla vyšší, když byly skladovány po dobu 12 týdnů při teplotě -20 °C bez ohledu na typ obalu.

3.3.2 Probiotický mražený krém jako nosič zdraví prospěšných surovin

Probiotický mražený krém patří díky svému složení do kategorie funkčních potravin. Funkčními potravinářskými výrobky neboli potravinami s přidanou hodnotou rozumíme produkty obohacené o látky, které jsou pro lidský organismus esenciální nebo mají pozitivní účinek na jeho zdraví, a mohou být využity jako součást základu různých diet (Hasler, 2002). Trh s funkčními potravinami v současnosti intenzivně roste, což souvisí se zvyšující

se informovaností a poptávkou po těchto produktech ve společnosti, které vedly k významnému rozšíření výzkumu a inovací v potravinářském průmyslu. V rámci potravinářských výrobků mohou být potraviny s přidanou hodnotou rozděleny do 4 základních skupin:

- a) Produkty fortifikované esenciálními živinami (vitamíny, minerály, ω -3-mastnými kyselinami).
- b) Výrobky obohacené o ingredience podporující zdraví, které se v jejich běžné receptuře nevyskytují (probiotika, prebiotika, antioxidanty).
- c) Potraviny se sníženým obsahem složek, které mohou mít nepříznivý dopad na lidské zdraví (*trans*-nenasycené mastné kyseliny a nasycené mastné kyseliny).
- d) Produkty s přirozeným výskytem 1 nebo více funkčních složek jako například konjugovaná linoleová kyselina, galaktooligosacharidy (Bigliardi et Galati, 2013).

Probiotické zmrzliny mohou, jakožto nosiče dalších zdraví prospěšných látek, obsahovat kromě probiotických kultur také například vlákninu, přírodní antioxidanty, ω -3- a ω -6-mastné kyseliny, minerální látky a vitamíny (Soukoulis et al., 2014).

Zvýšení obsahu vlákniny ve stravě podporuje peristaltické stahy střev, snižuje dobu průchodu tráveniny gastrointestinálním traktem a tím působí preventivně proti zácpě. Řadou studií bylo také potvrzeno, že konzumace nestravitelných složek potravy může mít antihypertenzní a antidiabetický účinek a snižovat riziko rozvoje obezity, kardiovaskulárních onemocnění a rakoviny tlustého střeva. Navíc bylo pozorováno, že začlenění vlákniny do matrice probiotického mraženého krému vede ke zlepšení vaznosti vody a zvýšení jeho viskozity (Brownlee, 2011).

Biologickou funkcí esenciálních nenasycených mastných kyselin (ω -3 a ω -6) je prevence vzniku hypertenze, kardiovaskulárních chorob a revmatické artritidy. Tyto látky zároveň posilují imunitní systém a přispívají ke správné funkci mozku a celé nervové soustavy. Bylo také zjištěno, že díky své antimikrobiální aktivitě mohou zabraňovat rozvoji zánětlivých chorob a ústních infekcí, kazů, zánětů dásní a zápachu z úst (Huang, 2011; Simopoulos, 1991). Polynenasycené mastné kyseliny, především kyselina linolová a linolenová, jsou díky obsahu mléčného tuku běžnou součástí probiotických mražených krémů. Jejich koncentraci v těchto výrobcích lze dále zvýšit přidáním vhodných tuků a olejů (Huang, 2011). Také bylo prokázáno, že přidavek ω -3- a ω -6-nenasycených mastných kyselin může v probiotických zmrzlinách podpořit přežití buněk kultury během mechanického stresu a skladování (Soukoulis et al., 2014).

Probiotické mražené krémy lze také obohatit o přírodní antioxidanty. S úspěchem byl použit například extrakt z vanilky, jež má anticholesterolemický účinek (Al-Naqeb, 2010). Favaro-Trindade a kol. (2006) prokázali, že zmrzlina může být vynikajícím prostředkem pro poskytování probioticko-antioxidační funkce, protože přidáním ovocné acerolové šťávy do zmrzlinové směsi zkvašené bifidobakteriemi (*Bifidobacterium animalis*) dochází k udržení živých buněk a hladiny kyseliny askorbové při dlouhodobém skladování, aniž by došlo ke změně chuti a textury zmrzliny. Aplikace extraktu ze zeleného čaje sice zvyšovala antioxidační kapacitu výrobků, ale zároveň měla negativní dopad na jejich strukturu a chuť, neboť generovala hořkost a trpkost (Soukoulis et al., 2014).

Pokles glykemického indexu probiotických zmrzlin je spojen se snížením rizika rozvoje diabetu, koronárních srdečních onemocnění, obezity a rakoviny tlustého střeva, konečníku, prsa a prostaty. Glykemický index produktu lze snížit náhradou sladidel s jeho vyššími hodnotami (sacharóza, dextróza, kukuřičný sirup) alternativami s nižším glykemickým indexem (fruktóza, aspartam, cyklamát sodný, sacharin), která mají navíc vyšší sladivost než glukóza a lze jich proto použít menší množství (Soukoulis et Tzia, 2010).

Mražené probiotické dezerty na mléčné bázi jsou také považovány za dobré zdroje anorganických látek a vitaminů rozpustných ve vodě (Marshall et al., 2003). Vitamíny rozpustné v tucích (A, D, E, K) se v tomto typu výrobku nachází jen ve velmi malém množství. Na základě výsledků studií v této oblasti lze říci, že matrice mražených probiotických krémů patří sice mezi vynikající nosiče minerálních látek, avšak pokud je jimi fortifikována, dochází k významným defektům finálního produktu, jako například ke zhoršení barvy a chuti, špatný pocit v ústech a písčitá struktura. Z tohoto důvodu bylo navrženo několik strategií k překonání negativních důsledků fortifikace minerály. Slibnou metodou je kupříkladu jejich mikroenkapsulace využívající různé typy hydrokoloidů (Augustin, 2003).

V současné době lidé všech věkových kategorií po celém světě nekonzumují dostatečné množství vápníku. Jeho velmi nízký příjem je obvyklý zejména v rozvojových zemích, kde lidé nemají dostatečný přístup k mléčným produktům, jež jsou bohatým zdrojem právě tohoto minerálu. Dětství a dospívání patří z hlediska adekvátní suplementace vápníkem mezi nejkritičtější období, neboť v nich dochází k výstavbě a optimalizaci kostní hmoty. Pokud tedy příjem tohoto mikronutrientu není v dětství a dospívání dostatečný, roste riziko snadné lomivosti kostí a rozvoje osteoporózy v pozdějším věku. Dostatečná prevence zlomenin a řídnutí kostí spadá mezi velké cíle současného veřejného zdravotnictví v západních zemích. Nyní dochází celosvětově téměř ke dvěma milionům zlomenin kyčle ročně, do budoucna se však předpokládá zvýšení případů až na čtyřnásobek z důvodu stárnutí

populace (Allen et al., 2006). Zmrzlina by mohla být dalším z výhodných zdrojů vápníku, protože je, často na rozdíl od mléka a mléčných výrobků, pro spotřebitele zajímavým a atraktivním produktem. Probiotické mražené krémy mohou být navíc také dobrým nosičem vitamínu D, který je taktéž podstatný pro pevnost kostí a v kombinaci s vápníkem se podílí na snižování rizika osteoporózy. Z těchto důvodů provedli Van der Hee a kol. (2009) výzkum porovnávající vstřebávání minerálu ze zmrzliny a mléka. Studie byla realizována v zeměpisné šířce nad 35°, kde v zimě sluneční svit neposkytuje dostatek ultrafialového záření typu B, které je pro lidský organismus potřebné k syntéze vitamínu D₃ z provitamínu obsaženého v kůži. Z výsledků vyplynulo, že absorpce vápníku z mraženého krému nebyla statisticky významně ($\alpha > 0,05$) odlišná od mléka. Vstřebávání mikronutrientu z matrice zmrzliny není tedy negativně ovlivněno typickými ingrediencemi mražených krémů ani procesem zmrazování. Vápníkem obohacené probiotické zmrzliny jsou proto jeho užitečným potravinovým zdrojem a přispívají k celkovému dennímu příjmu minerálu (Van der Hee et al., 2009).

3.3.1 Biologická aktivita probiotického mraženého krému

Jedním z dalších možných přínosů konzumace probiotických mražených krémů by mohla být také jejich antikariogenní funkce. Zubní kaz patří v současnosti mezi nejčastější ústní onemocnění, které se vyskytuje u 60 – 90 % dětí a dospělých. Během posledních let řada studií realizovaná v této oblasti potvrdila, že mezi nejběžnější příčiny vzniku lidského zubního kazu patří aktivita bakterií *Streptococcus mutans* v ústní dutině (Loesche, 1986). Tyto mikroorganismy mají schopnost rychle metabolizovat cukry z potravy a vytváří tak lokálně nízké pH, které narušuje zubní sklovinu. Z tohoto důvodu byla vyvinuta řada preventivních metod proti vzniku zubního kazu, které byly zaměřeny přímo na potlačení růstu a činnosti patogenní mikroflóry, například použití antimikrobiálních či antiadhezních činidel (Marsh, 2006). Mezi nejnovější strategie pak patří začlenění probiotik s antikariogenní aktivitou do běžně konzumovaných potravin. Tyto probiotické mikroorganismy musí být schopny přežít v kyselém prostředí zubního kazu. Bylo prokázáno, že probiotika jsou schopny potlačit infekci před tím, než bakterie (například *Streptococcus mutans*) způsobí trvalé poškození zubní skloviny. Podávání dětem zdravých prospěšných probiotických organismů je obtížné. Proto byly zkoušeny různé nosiče, jako například dudlíky s postupným uvolňováním, zubní pasty, tablety, sirupy, nápoje a samozřejmě mléčné výrobky. Zmrzlina je ideálním produktem pro tuto úlohu, neboť je vysoce atraktivní nejen pro děti,

ale i pro spotřebitele všech ostatních věkových kategorií (Devasya et al., 2015; Meurman, 2005; Meurman et Stamatova, 2007).

Devasya a kol. (2015) se zaměřili na charakterizaci antikariogenní aktivity probiotických mražených krémů. Výzkumu se zúčastnilo 60 dětí ve věku 6 až 12 let bez předešlého onemocnění zubním kazem, které byly povinné během celého experimentu dodržovat správnou ústní hygienu. Respondenti byli náhodně rozděleni do 2 skupin. Skupina A byla kontrolní a konzumovala běžnou zmrzlinu, skupině B pak byl podáván probiotický mražený krém s obsahem 10^6 KTJ/g probiotických mikroorganismů (kultura *Bifidobacterium lactis* Bb-12 a *Lactobacillus acidophilus* La-5). Dětem byl na začátku studie odebrán vzorek slin, ze kterého byla po Gramově barvení spočítána počáteční koncentrace kariogenních *Streptococcus mutans*.

Studie trvala celkem 6 měsíců. První týden experimentu dostávali respondenti každodenně 54 g zmrzliny dle svého skupinového zařazení. Po 7 a 30 dnech a po 6 měsících jim byly opakovaně odebrány vzorky slin kvůli opětovnému stanovení CPM *Streptococcus mutans*. Výsledky uvedené v tabulce 15 ukázaly statisticky významné ($\alpha > 0,05$) snížení počtu streptokoků po 7 a 30 dnech u dětí, které konzumovaly probiotickou zmrzlinu ve srovnání s výchozím stavem. Po 6 měsících bylo zjištěné průměrné množství *Streptococcus mutans* ve slinách skupiny B na přibližně stejné úrovni jako po 30 dnech (viz odchylka v tabulce 16). U kontrolní skupiny A došlo naopak po 7 a 30 dnech ke statisticky nevýznamnému ($\alpha < 0,05$) zvýšení počtu streptokoků v porovnání s výchozím stavem a po 6 měsících zůstala koncentrace *Streptococcus mutans* opět konstantní (Devasya et al., 2015).

Tabulka 15: Vliv konzumace probiotického mraženého krému na počet bakterií *Streptococcus mutans* ve slinách (Devasya et al., 2015)

Délka experimentu	Skupina	Průměrné množství streptokoků log KTJ/g	Odchylka log KTJ/g
Počátek	A	72,70	14,128
	B	73,37	13,677
7. den	A	77,33	11,293
	B	63,87	12,982
30. den	A	79,90	11,183
	B	60,03	12,920
6. měsíc	A	72,80	13,828
	B	74,70	12,909

4 Závěr

Cílem bakalářské práce bylo shrnout současné hlavní trendy ve vývoji a vlastnostech mražených krémů s přidanou hodnotou. Hypotézou bylo, že matrice těchto výrobků může být využita k vývoji produktů s přidanou hodnotou.

Mražené smetanové krémy (zmrzliny) patří do kategorie celosvětově rozšířených a oblíbených mléčných výrobků, proto by mohly být jedním z vhodných nosičů prospěšných složek pro lidské zdraví a tím rozšířit rostoucí portfolio funkčních potravin na mléčné bázi. Jejich výhodou je chutnost, pestrost variant, snadná stravitelnost a dlouhá trvanlivost.

V současnosti pravděpodobně nejrozšířenější zmrzlinou s přidanou hodnotou jsou produkty obohacené o probiotické kultury. Vitalita (zachování životaschopnosti) probiotik v matrici mražených krémů během výroby a skladování je ovlivněna řadou faktorů. Mezi nejkritičtější bod výrobního procesu patří krok současného našlehávání a zmrazování zmrzlinové směsi, při němž dochází k častému poškození až smrti buněk. Během skladování jsou pak ztráty způsobeny především kolísáním teplot, což vede ke změně poměru mezi zbytkovou vodou a ledem a k rekrystalizaci ledových krystalů, neboť tyto děje mohou opět poškodit přítomné mikroorganismy. Z tohoto důvodu se závěry dostupných studií shodují v doporučení přidávat vyšší koncentraci probiotik, aby byl zajištěn celkový počet životaschopných buněk na konci doby trvanlivosti podle platné Evropské a České legislativě (minimálně 10^6 KTJ/g).

Vitalita probiotických kultur ve zmrzlině je ovlivněna typem použitého mikroorganismu. Obecně lze říci, že bifidobakterie bývají v této matrici méně odolné než laktobacily. Z hlediska zajištění přežití probiotických mikroorganismů vůči průchodu výrobku lidským trávicím traktem byly jako vhodné kmeny klasifikovány *Lactobacillus acidophilus* AB5-18, AK4-14, *Lactobacillus agilis* AA17-73, AC18-88 a *Lactobacillus rhamnosus* AB20-100. Dále bylo zjištěno, že základní složky mražených krémů (mléčný tuk, bílkoviny, laktóza, sladidla, hydrokoloidy, vzduchové bubliny, ovocné složky) působí jako přirozená ochrana probiotických buněk, neboť potlačují vznik velkých krystalů ledu, které by mohly poškodit buněčnou stěnu, snižují redox potenciál prostředí, což vede k pozvolnějšímu poklesu pH, případně obsahují kyseliny, jež pokles pH způsobují. Pozitivní vliv na přežití probiotik v matrici zmrzliny má také přidavek dalších funkčních složek, například prebiotik inulinu a oligofruktózy (zlepšení životaschopnosti až o 9 %), inkorporace mikroorganismů do čokolády (zlepšení životaschopnosti až o 23 %), nebo jejich mikroenkapsulace do alginátu vápenatého, s nímž bylo v této oblasti dosaženo nejlepších

výsledků (zlepšení životaschopnosti až o 30 %). Z hlediska obalových materiálů lze zajistit díky nízkým skladovacím teplotám dostatečnou vitalitu probiotických kultur i při použití plastových obalů z polyethylenu a polypropylenu, které propouštějí kyslík.

Důležité pro spotřebitele jsou především sensorické vlastnosti mraženého krému s přidanou hodnotou. Obecně lze říci, že probiotické zmrzliny mají méně intenzivní vůni, chutnají více po jogurtu a při použití bifidobakterií mohou vykazovat „probiotickou pachutí“, která je způsobena produkcí kyseliny octové. Inkorporace probiotik však může na druhou stranu vytvářet osvěžující a příjemně kyselou chuť, zvyšovat viskozitu a odolnost produktu vůči tavení a potlačovat genezi velkých ledových krystalů vyvolávajících jeho hrubost a hrudkovitost. Obvykle je doporučováno přidávat probiotické kultury těsně před procesem našlehávání a zmrazování, neboť tehdy bývá jejich účinek na sensorický profil mraženého krému minimální. Dobře byly přijímány například probiotické zmrzliny s obsahem *Lactobacillus reuteri* a *Bifidobacterium bifidum*. Organoleptické vlastnosti probiotických mražených krémů mohou být také zlepšeny přidáním mléčného tuku, hydrokoloidů (guarová guma, xanthan) a kyselých ovocných složek (jahod), či vyšším náslehem, který však nepřesáhne 90 % obj. Při hodnocení vlivu plastových a skleněných obalových materiálů na vybrané sensorické vlastnosti (barva a vzhled, aroma, struktura, chuť, tání a celková přijatelnost) probiotické zmrzliny nebyly zjištěny významné rozdíly, proto lze pro balení těchto produktů využít ekonomicky výhodnější plastové obaly z polyethylenu a polypropylenu. Při vývoji sensoricky přijatelných vegetariánských variant probiotických mražených krémů se pak jako náhražka mléčných surovin dobře uplatnily výrobky ze sóje (sójový nápoj).

Probiotická zmrzlina je navíc slibným nosičem dalších zdravích prospěšných látek, jako jsou esenciální mastné kyseliny, minerální látky a vitamíny, zejména vápník a vitamín D, vláknina a antioxidanty. Byl také prokázán antikariogenní účinek pravidelné konzumace tohoto produktu obsahujícího *Bifidobacterium lactis* Bb-12 a *Lactobacillus acidophilus*. Závěrem lze tedy říci, že hypotéza byla potvrzena a matrice mražených smetanových krémů může být s výhodou využita k vývoji celé řady produktů s přidanou hodnotou, zejména probiotických a kombinujících probiotika s dalšími funkčními složkami.

Seznam použitých zdrojů

- Abghari, A., Sheikh-Zeinoddin, M., Soleimanian-Zad, S. 2011. Nonfermented ice cream as a carrier for *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*. International Journal of Food Science. 46 (1). 84-92.
- Akalin, A. S., Erişir, D. 2008. Effects of Inulin and Oligofructose on the Rheological Characteristics and Probiotic Culture Survival in Low-Fat Probiotic Ice Cream. Journal of Food Science. 73 (4). 184-188.
- Akin, M. S. 2005. Effects of inulin and different sugar levels on viability of probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics of probiotic fermented ice-cream. Milchwissenschaft. 60. 297-300.
- Akin, M. B., Akin, M. S., Kirmaci, Z. 2007. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice cream. Food Chem. 104. 93–99.
- Alamprese, C., Foschino, R., Rossi, M., Pompei, C., Savani, L. 2002. Survival of *Lactobacillus johnsonii* La1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations. International Dairy Journal. 12. 201-208.
- Alamprese, C., Foschino, R. 2011. Technology and stability of probiotic and prebiotic ice creams. Probiotic and prebiotic foods: technology, stability and benefits to human health. New York Nova Publisher. 235–298.
- Alamprese, C., Foschino, R., Rossi, M., Pompei, C., Corti, S. 2005. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG addition in ice cream. International Journal of Dairy Technology. 58. 200-206.
- Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., Hamzaoglu, E. 2010. Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of Helichrysum (Asteraceae) species collected from Turkey. Food Chemistry. 119. 114–122.

Allen, L., de Benoist, B., Dary, O., Hurrell, R. 2006. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations. Geneva, Switzerland. Guidelines on Food Fortification with Micronutrients.

Al-Naqeb, G., Maznah, I., Gururaj, B., Hadiza, A. A. 2010. Vanillin rich fiction regulates LDLR and HMGCR gene expression in HepG2 cells. *Food Res Intl* 43. 2437–2443.

Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S., Tonagai, Y. 2000. High performance liquid chromatographic determination with photo diode array detection of ellagic acid in fresh and processed fruits. *Journal of Chromatography A*. 896. 87–93.

Arai, O., Sakaki, M., Sugimoto, T. 1996. Effectiveness of yogurt incorporated with enteric bifidobacteria. *Food Industry*. 39(1). 53–56.

Aryana, K. J., Summers, M. 2006. Probiotic fat-free, no sugar added ice-cream. *Milchwissenschaft*. 61(1). 184–187.

Augustin, M. A. 2003. The role of microencapsulation in the development of functional dairy foods. *Aust J Dairy Technol*. 58. 156–60.

Başıyigit, G., Kuleaşan, H., Karahan, A. G. 2006. Viability of human-derived probiotic lactobacilli in ice cream produced with sucrose and aspartame. *Journal of Industrial Microbiology*. 33 (9). 796-800.

Beardsworth A. D., Keil E. T. 1992. The vegetarian option: Varieties, conversions, motives and careers. *The Sociological Review*. 40. 255.

Begley, M., Gahan, C. G. M., Hill, C. 2005. The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol Rev*. 29. 625–251.

Bigliardi, B., Galati, F. 2013. Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. *Trends Food Sci Technol*. 31. 118–129.

- Blum, S., Reniero, R., Schiffrin, E. J. 1999. Adhesion studies for probiotics: need for validation and refinement. *Trends in Food Science and Technology*. 10. 405–410.
- Brownlee, I. A. 2011. The physiological roles of dietary fibre. *Food Hydrocolloids*. 25. 238-250.
- Bylund, G. 1995. Dairy processing handbook. Tetra Pak Processing Systems AB, Lund, Sweden. 385-393.
- Caglar, E., Kuscu, O., Kuwetli, S., Cildir S. K., Sandalli, N., Twetman, S. 2008. Short-term effect of ice-cream containing *Bifidobacterium lactis* Bb-12 on the number of salivary mutants streptococci and lactobacilli. *Acta Odontologica Scandinavica*. 66(3). 154–158.
- Cook, D. 2006. Hydrocolloidsesweetener interactions in food products Optimizing sweet taste in foods. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd.
- Cook, M. T., Tzortzis, G., Charalampopoulos, D., Khutoryanskiy, V. V. 2012. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *J Control Release*. 162. 56–67.
- Cruz, A. G., Antunes, A. E. C., Sousa, A. L. O. P., Faria J. A. F., Saad, S. M. I. 2009. Ice-cream as a probiotic food carrier: viability of probiotic bacteria and sensory properties. *Food Research International*. 42 (9). 1233-1239.
- Cruz, A. G., Cadena, R. S., Walter, E. H. M., Mortazavian, A. M., Granato, D., Faria, J. A. F., Bolini, H. M. A. 2010. Sensory analysis: relevance for prebiotic, probiotic and symbiotic product development. *Compr Rev Food Sci Saf*. 9. 358–373.
- Cruz, A. G., Faria, J. D. A. F., Van Dender, A. G. F. 2007. Packaging system and probiotic dairy foods. *Food Res. Int*. 40 (8). 951–956.
- Dave, R. I., Shah, N. P. 1998. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *J Dairy Sci*. 81. 2804–2816.
- Davidson, R. H., Duncan, S. E., Hackney, C. R., Eigel, W. N., Boling, J. W. 2000. Probiotic culture survival and implications in fermented frozen yogurt. *Journal of Dairy Science*. 83(4). 666–673.

- Devasya, A., Vijayaprasad, K., Mahanthesh, T., Naveen, K. R., Asha, N., Mythri, S. 2015. Effect of Probiotic Containing Ice-cream on Salivary Mutans Streptococci (SMS) Levels in Children of 6-12 Years of Age: A Randomized Controlled Double Blind Study with Six-months Follow Up. *Journal of clinical and diagnostic rescearch*.
- deWijk, R. A., Terpstra, M. E. J., Janssen, A. M., Prinz, J. F. 2006. Perceived creaminess of semi-solid foods. *Trends in Food Science and Technology*. 17. 412-422.
- Favaro-Trindade, C. S., De Carvalho Balieiro, J. C., Dias P.F., Sanino, F. A., Boschini, C. 2007. Effects of culture, pH and fat concentration on melting rate and sensory characteristics of probiotic fermented yellow mombin (*Spondias mombin L*) ice creams. *Food Sci Technol Intl* 13. 285–291.
- Ferraz, J. L., Cruz, A. G., Cadena, R. S., Freitas, M. Q., Pinto, U. M., Carvalho, C. C., Faria J. A. F., Bolini, H. M. A. 2012. Sensory Acceptance and Survival of Probiotic Bacteria in Ice Cream Produced with Different Overrun Levels. *Journal of Food Science*. 77 (1). 24-28.
- Gill, C. O. 2006. Microbiology of frozen foods. In S. Da-Wen (Ed.), *Handbook of frozen food processing and packaging*. Boca Raton. CRC Press. 85-100.
- Goff, H. D. 1997. Colloidal aspects of ice cream e a review. *International Dairy Journal*. 7. 363-373.
- Hagen, M., Narvhus, J. A. 1999. Production of ice cream containing probiotic bacteria. *Milchwissenschaft*. 54. 265–268.
- Hasler, C. 2002. Functional food: benefits, concerns and challenges. *J Nutr*. 132. 3772–3781.
- Haynes, I. N., Playne, M. J. 2002. Survival of probiotic cultures in low fat ice cream. *Aust J Dairy Technol*. 57. 10–14.
- Heenan, C. N., Adams, M. C., Hosken, R. W., Fleet, G. H. 2002. Growth medium for culturing probiotic bacteria for applications in vegetarian food products. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 35. 171–176.

Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M. R., Yarmand, M. S., Razavi, S. H., Amboni, R. D. M. C. 2008. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*. 111(1). 50-55.

Homayouni, A., Ehsani, M. R., Azizi, A., Razavi, S. H., Yarmand, M. S. 2008. Growth and survival of some probiotic strains in simulated ice cream conditions. *J Appl Sci*. 8. 379-382.

Huang, C. 2011. Compositions and methods of omega polyunsaturated fatty acids for the treatment of oral diseases. US.

Champagne, C. P., Gardner N. J., Roy, D. 2005. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45(1). 61–84.

Champagne, C. P., Raymond, Y., Guertin, N., Bélanger, G. 2015. Effects of storage conditions, microencapsulation and inclusion in chocolate particles on the stability of probiotic bacteria in ice cream. *International Dairy Journal*. 47: 109-117.

Christiansen, P. S., Edelsten, D., Kristiansen, J. R., Nielsen, E. W. 1996. Some properties of ice cream containing *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus*. *Milchwissenschaft*. 51. 502–504.

Jay J. 1992. *Microbiología Moderna De los Alimentos*. Zaragoza, Spain: Ed Acribia.

Jayamanne, V. S., Adams, M. R. 2004. Survival of probiotic bifidobacteria in buffalo curd and their effect on sensory properties. *Int. J. Food Sci. Technol*. 39 (7). 719–725.

Karimi, R., Mortazavian, A. M., Cruz, A. G. 2011. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: A review. *Dairy Science & Technology*. 91. 283-308.

Korbekandi H., Mortazavian A. M., Irvani S. 2011. Technology and stability of probiotic in fermented milks. *Probiotic and prebiotic foods: Technology, stability and benefits to the human health*. NewYork. Nova Science Publishers. 131-169.

- Li, G. 2012. Intestinal probiotics: interaction with bile salts and reduction of cholesterol. *Procedia Environ Sci.* 12. 1180–1186.
- Loesche W.J. 1986. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiological reviews.* 353-380.
- Magariños, H., Selaive, S., Costa, M., Flores, M., Pizarro, O. 2007. Viability of probiotic micro-organisms (*Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12) in ice cream. *International Journal of Dairy Technology.* 60 (2). 128-134.
- Marsh, P. D. 2006. Dental plaque as a biofilm and a microbial community –implications for health and disease. *BMC Oral Health.* 6-14.
- Marshall, R. T., Goff, H. D., Hartel, R. W. 2003. *Ice cream.* New York: Aspen Publishers.
- Meurman, J. H. 2005. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci.* 113. 188-196.
- Meurman, J. H., Stamatova, I. 2007. Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis.* 13. 443-451.
- Mohammadi, R., Mortazavian, A. M., Khosrokhavar, R., Cruz, A. G. 2011. Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties. *Annals of Microbiology.* 61 (3). 411-424.
- Moss, C. W., Speck, M. L. 1963. Injury and death of *Streptococcus lactis* due to freezing and frozen storage. *Applied and Environmental Microbiology.* 11. 326–329.
- Muir, D. D., Hunter, E. A., Dalaudier, C. 1997. Association of the sensory properties of commercial, strawberry flavoured fermented milks with product composition. *International Journal of Dairy Technology.* 50. 28-34.
- Naidu, A. S., Bidlack, W. R., Clemens, R. A. 1999. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 39(1). 13–126.
- Oberman, H., Libudzisz, Z. 1998. Fermented milks. In B.J.B. Wood. *Microbiology of fermented foods.* London: Blackie Academic and Professional. 308-350.

- Ohmes, R. L., Marshall, R. T., Heymann, H. 1998. Sensory and physical properties of ice creams containing milk fat or fat replacers. *J Dairy Sci* 81:1222–8.
- Pehkonen, K. S., Roos, Y. H., Miao, S., Ross, R. P., Stanton, C. 2008. State transitions and physicochemical aspects of cryoprotection and stabilization in freeze-drying of *Lactobacillus rhamnosus GG* (LGG). *J Appl Microbiol.* 104. 1732–1743.
- Possemiers, S., Marzorati, M., Verstraete, W., Van de Wiele, T. 2010. Bacteria and chocolate: a successful combination for probiotic delivery. *International Journal of Food Microbiology.* 141. 97-103.
- Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Adams, M. C., Baines, S. K. 2013. Production of probiotic ice cream from goat's milk and effect of packaging materials on product quality. *Small Ruminant Research.* 112 (1-3). 174-180.
- Rizk, E. M., El-kady, A. T., El-bialy, A. R. 2014. Characterization of carotenoids (lyco-red) extracted from tomato peels and its uses as natural colorants and antioxidants of ice cream. *Annals of Agricultural Sciences.* 59(1). 53-61.
- Roy, D., Dussault, F., Ward, P. 1990. Growth requirements of *Bifidobacterium strains* in milk. *Milchwissenschaft.* 45. 500–502.
- Sagdic, O., Ozturk, I., Cankurt, H., Torunk, F. 2012. Interaction Between Some Phenolic Compounds and Probiotic Bacterium in Functional Ice Cream Production. *Food and Bioprocess Technology.* 5 (8). 2964-2971.
- Salem, M. M. F., Fathi, F. A., Awad, R. A. 2005. Production of probiotic ice cream. *Pol J Food Sci Nutr.* 55. 267–271.
- Santivarangkna, C., Kulosik, U., Foerst, P. 2008. Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes. *J Appl Microbiol.* 105. 1–13.
- Shah, N. P. 2000. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *J Dairy Sci.* 83. 894–907.
- Sheu T. Y., Marshall R. T. 1993. Microencapsulation of *Lactobacilli* in calcium alginate gels. *Journal of Food Science.* 54. 557–561.

- Simopoulos, A. P. 1991. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr.* 54. 438–463.
- Sofjan, R., Hartel, R. W. 2004. Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice-cream. *International Dairy Journal.* 14(3). 255–262.
- Speck, M. L., Cowman, R. A. 1968. Metabolic injury to bacteria resulting from freezing. In *Mechanisms of cellular injury by freezing and drying in micro-organisms.* Sapporo, Japan, October. 2–3.
- Soukoulis, Ch., Fisk, I. D., Bohn, T. 2014. Ice Cream as a Vehicle for Incorporating Health-Promoting Ingredients: Conceptualization and Overview of Quality and Storage Stability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 13 (4). 627-655.
- Soukoulis, Ch., Lyroni, E., Tzia, C. 2010. Sensory profiling and hedonic judgement of probiotic ice cream as a function of hydrocolloids, yogurt and milk fat content: viability of probiotic bacteria and sensory properties. *LWT - Food Science and Technology.* 43 (9). 1351-1358.
- Soukoulis, C., Tzia, C. 2010. Response surface mapping of the sensory characteristics and acceptability of chocolate ice cream containing alternace sweetening agents. *J Sens Stud* 25. 50–75.
- Soukoulis, C., Tzia, C. 2008. Impact of the acidification process, hydrocolloids and protein fortifiers on the physical and sensory properties of frozen yogurt. *International Journal of Dairy Technology.* 61. 170-177.
- Stokes, J. R., Boehm, M. W., Baier, S. K. 2013. Oral processing, texture, and mouthfeel: from rheology to tribology and beyond. *Curr Opin Colloid Surf Sci.* 18. 349–359.
- Tamime, A. Y, Saarela, M., Sondergaard, A. K., Mistry, V. V., Shah, N. P. 2005. Production and maintenance of viability of probiotic microorganisms in dairy products. *Tamime AY Probiotic dairy products.* Blackwell, Oxford. 39–72.
- Turgut, T., Cakmakci, S. 2009. Investigation of the possible use of probiotics in ice cream manufacture: viability of probiotic bacteria and sensory properties. *International Journal of Dairy Technology.* 62 (3). 444-451.

Van de Guchte, M., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S. D., Maguin, E. 2002. Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 82. 187–216.

Van der Hee, R. M., Silvia, M., Slettenaar, M., Duchateau, G. S. M. J. E., Rietveld, A. G., Wilkinson, J. E., Quail, P. J., Berry, M. J., Dainty, J. R. 2009. Calcium Absorption from Fortified Ice Cream Formulations Compared with Calcium Absorption from Milk. *Journal of the American Dietetic Association*. 109. 830-835.

Vardar, N. B., Öksüz, O. 2007. Artisan strawberry ice-cream made with supplementation of Lactococci or Lactobacillus acidophilus. *Italian Journal of Food Science*. 19(4). 403–411.

Ventura, M., Perozzi, G. 2011. Probiotic bacteria and human gut microbiota. *Genes & Nutrition*. 6. 203–204.

Vinderola, C. G., Reinheimer, J. A. 2003. Lactic acid bacteria: A comparative “*in vitro*” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*. 36. 895–904.

Vyhláška č. 77/2003 Sb., Požadavky na mléko, mléčné výrobky, mražené krémy, jedlé tuky a oleje v platném znění, MZe, ČR.

Vyhláška č. 4/2008 Sb., Druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin, MZe, ČR.

Seznam zkratek

AB směs – vzorek zmrzliny obsahující *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12

a kol. – a kolektiv

Bb-12 – vzorek zmrzliny obsahující *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12

CPM – celkový počet mikroorganismů

č. - číslo

EA – kyselina elagová

et – a

et al. – a další

g - gram

GA – kyselina galová

h – hodina

hm. – hmotnost

kg - kilogram

KTJ – kolonii tvořících jednotek na 1 gram/mililitr

La-5 – vzorek zmrzliny obsahující *Lactobacillus acidophilus* La-5

mg - miligram

min. - minuta

MZe- Ministerstvo zemědělství

NPM – nejvyšší používané množství

obj. - objem

P – vzorek probiotické zmrzliny

PI – vzorek probiotické zmrzliny s inulinem

PO – vzorek probiotické zmrzliny s oligofruktózou

P45 – vzorek probiotické zmrzliny s náslehem 45 %

P60 – vzorek probiotické zmrzliny s náslehem 60 %

P90 – vzorek probiotické zmrzliny s náslehem 90 %

s - sekunda

Sb. - sbírka

SC – vzorek komerční zmrzliny

tps – tuku prostá sušina

tzn. – to znamená

Seznam tabulek

Tabulka 1: Složení mražených krémů (Bylund, 1995)	3
Tabulka 2: Složení mražených krémů dle platné legislativy (vyhláška č. 77/2003 Sb.)	4
Tabulka 3: Probiotické bakterie nejčastěji používané v různých studiích (Akalin et al., 2008; Alamprese et al., 2002; Başığit et al., 2006; Devasya et al., 2015; Ferraz et al., 2012; Heenan et al., 2004; Homayouni et al., 2008; Champagne et al., 2015; Maragiños et al., 2007; Ranadheera et al., 2013; Sagdic et al., 2012; Salem et al., 2005)	9
Tabulka 4: Výsledky rezistence <i>Lactobacillus johnsonii</i> La-1 vůči vybraným druhům antibiotik (Alamprese et al., 2002).....	11
Tabulka 5: Míra přežití mikroorganismů před a po zmražení probiotické zmrzliny (Maragiños et al., 2007)	14
Tabulka 6: Rezistence probiotických bakterií vůči nízkému pH a solím žlučových kyselin (Başığit et al., 2006).....	15
Tabulka 7: Vliv přídavku probiotik, inulinu a oligofruktózy na vlastnosti mraženého krému (Akalin et al., 2008)	16
Tabulka 8: Stanovení životaschopnosti jednotlivých probiotických mikroorganismů (Akalin et al., 2008).....	17
Tabulka 9: Sensorické vlastnosti synbiotických mražených krémů (Homayouni et al., 2008)	18
Tabulka 10: Vliv mikroenkapsulace do alginátu vápenatého na přežití probiotik v matrici mraženého krému během skladování (Homayouni et al., 2008).....	19
Tabulka 11: Vliv způsobu inokulace vybraných probiotických kultur do matrice zmrzliny na jejich vitalitu (Champagne et al., 2015).....	21
Tabulka 12: Vliv nášlehu na sensorické vlastnosti probiotických zmrzlin (Ferraz et al., 2012)	27
Tabulka 13: Vliv přídavku fenolických látek na sensorické vlastnosti probiotických mražených krémů (Sagdic et al., 2012)	28
Tabulka 14: Vliv obalových materiálů na sensorické vlastnosti probiotického mraženého krému (Ranadheera et al., 2013)	30
Tabulka 15: Vliv konzumace probiotického mraženého krému na počet bakterií <i>Streptococcus mutans</i> ve slinách (Devasya et al., 2015)	34